



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

**Utilidad clínica de la tomografía de coherencia óptica (OCT) en
el diagnóstico del deterioro cognitivo tipo Alzheimer**

Domingo Sánchez Ruiz

Dr. Agustín Ruiz Laza

Director de tesis

Dr. Miguel Castilla Céspedes

Tutor y director de tesis

Programa: CIRURGIA I CIÈNCIES MORFOLÒGIQUES

Departamento de Cirugía
Facultad de Medicina
Universitat Autònoma Barcelona
2020

TESIS DOCTORAL

**Utilidad clínica de la tomografía de coherencia óptica (OCT) en
el diagnóstico del deterioro cognitivo tipo Alzheimer**

Domingo Sánchez Ruiz

Dr. Agustín Ruiz Laza

Director de tesis

Dr. Miguel Castilla Céspedes

Tutor y director de tesis

Programa: CIRURGIA I CIÈNCIES MORFOLÒGIQUES

Departamento de Cirugía
Facultad de Medicina
Universitat Autònoma Barcelona
2020

Los directores de tesis:

Dr. AGUSTÍN RUIZ LAZA, Doctor en Medicina y Director de Investigación de *Fundació ACE. Institut Català de Neurociències Aplicades*.

Dr. MIGUEL CASTILLA CÉSPEDES, Doctor en Medicina y Profesor Titular de Oftalmología en el Departamento de Cirugía.. *Universitat de Barcelona*.

Certifican que:

La tesis bajo su supervisión y titulada **“Utilidad clínica de la tomografía de coherencia óptica (OCT) en el diagnóstico del deterioro cognitivo tipo Alzheimer”** presentada por Domingo Sánchez Ruiz cumple todos los requisitos para su defensa ante del tribunal de doctorado y que los artículos científicos compilados son originales y no se utilizaron ni utilizarán para otras tesis doctorales:

Sánchez, D., Castilla-Martí, M., Rodríguez-Gómez, O. *et al.* Usefulness of peripapillary nerve fiber layer thickness assessed by optical coherence tomography as a biomarker for Alzheimer’s disease. *Sci Rep* **8**, 16345 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34577-3>

Sánchez, D., Castilla-Martí, M., Marquí, M. *et al.* Evaluation of macular thickness and volume tested by optical coherence tomography as biomarkers for Alzheimer’s disease in a memory clinic. *Sci Rep* **10**, 1580 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58399-4>

Dr. Agustín Ruiz Laza,
Director de tesis

Dr. Miguel Castilla Céspedes,
Director y tutor de tesis

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

A Agustín Ruiz, el director de esta tesis, por hacer parecer normal cosas que no lo son. Me sigue sorprendiendo que una persona tan brillante siempre tenga abierta la puerta de su despacho a quien necesite su consejo. Que un doctorando escriba un mail a deshora entra dentro de lo normal. Lo excepcional es obtener su respuesta sólo unos minutos después, también “a deshora”, con “puntuales” sugerencias y pertinentes correcciones.

A Miguel Castilla, director y tutor de tesis, por su afabilidad y confianza.

A Miguel y Octavio por su camaradería en la puesta en marcha, no siempre fácil, de NORFACE. Quién hubiera dicho al conocernos en Madrid, haciendo uno la residencia en oftalmología y el otro, en neurología, que terminaríamos los tres en Barcelona, embarcados en un proyecto de neuro-oftalmología.

A Gabriel Martínez por su amistad y generosidad en el meta-análisis.

A Mercè Boada y a toda la dirección de la Fundació ACE por hacer lo imposible para que la asistencia se sincronice con la ciencia y, en particular, por permitirnos habilitar un espacio de investigación en neuro-oftalmología, en el que la rentabilidad económica no ha sido el único criterio.

A los compañeros del equipo asistencial de la Fundació porque facilitan o mejoran la vida de muchas familias. Ha sido un honor compartir consulta. A Joan y Judit y a las administrativas de la Fundació por hacer auténticos equilibrios para cuadrar la “visita de OCT” con otras más asistenciales, haciendo gala siempre de una exquisita consideración hacia los pacientes.

A Sergi por todo el apoyo estadístico y a Sonia por las gráficas y al siempre cordial equipo de investigación de Marques de Sentmenat porque con su profesionalidad cualquier trabajo científico sólo puede mejorar.

A Albert Piferrer y al equipo humano de TOPCON por su respuesta amable y competente a los numerosos retos técnicos y científicos afrontados.

A todos los pacientes y cuidadores sin cuya inestimable participación este estudio no hubiera sido posible.

A los amigos, a los que apenas he hecho partícipes del doctorado porque siempre encontrábamos otro tema del que hablar.

A todos, por hacerme ver que los resultados menos glamurosos también son necesarios. Que esa suerte de verdad que arroja el método científico siempre alumbra aunque no deslumbre.

ÍNDICE

1. ABREVIATURAS	14
2. RESUMEN	20
3. INTRODUCCIÓN	24
3.1. La enfermedad de Alzheimer (EA).....	25
3.1.1. Deterioro cognitivo leve (DCL)	29
3.1.2. Criterios diagnósticos	32
3.1.3. Biomarcadores y clasificaciones derivadas	34
3.2. La retina, ventana al Sistema Nervioso Central (SNC).....	38
3.2.1. Manifestaciones visuales de la EA	42
3.3. La Tomografía de Coherencia Óptica (OCT).....	47
3.3.1. La OCT en la EA	48
3.4. Controversias y limitaciones previas de la OCT en EA	50
3.5. Comorbilidad oftálmica en EA.....	52
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	59
5. MÉTODOS	63
6. RESULTADOS	85
6.1. <i>Usefulness of peripapillary nerver fiber layer thickness assessed by optical coherence tomography as a biomarker for Alzheimer's Disease</i>	86
6.2. <i>Evaluation of macular thickness and volume tested by optical coherence tomography as biomarkers for Alzheimer's disease in a memory clinic</i>	113
6.3. Otros resultados	141

7. DISCUSIÓN	150
8. CONCLUSIONES	167
9. BIBLIOGRAFÍA	171

1. ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

AC	Células amacrinas (<i>Amacrine Cells</i>)
ACh	Acetilcolina
ADNI	<i>Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative</i>
ACP	Atrofia Cortical Posterior
APOE	Apolipoproteína E
APP	Proteína Precursora de Amiloide (<i>Amyloid Precursor Protein</i>)
APPr	Afasia Progresiva Primaria
AV	Agudeza visual
AVD	Actividades de la Vida Diaria
BC	Células bipolares (<i>Bipolar Cells</i>)
βA	Beta-Amiloide
BM	Membrana de Bruch (<i>Bruch's Membrane</i>)
CIC	Correlación intraclase
CDR	<i>Clinical Dementia Rating</i>
CHS	<i>Cardiovascular Health Study</i>
CV	Campo visual
DCL	Deterioro Cognitivo Leve
DCL-a	Deterioro Cognitivo Leve amnésico
DCL-md	Deterioro Cognitivo Leve de múltiple dominio
DCL-na	Deterioro Cognitivo Leve no amnésico
DCL-ud	Deterioro Cognitivo Leve unidominio
DE	Desviación Estándar

ABREVIATURAS

DLB	Demencia por Cuerpos de Lewy
DFT	Demencia Frontotemporal
DFTvc	Demencia Frontotemporal variante de conducta
DLFT	Degeneración Lobar Frontotemporal
DM	Diabetes Mellitus
DMAE	Degeneración Macular Asociada a la Edad
DS	Demencia Semántica
DV	Demencia Vascular
EA	Enfermedad de Alzheimer
EOAD	EA de Aparición Temprana (<i>Early-onset AD</i>)
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GC	Células Ganglionares de la retina (<i>Ganglion cells</i>)
GCL	Capa de Células Ganglionares (<i>Ganglion Cell Layer</i>)
GDS	<i>Global Deterioration Scale</i>
GWAS	<i>Genome-wide association study</i>
HTA	Hipertensión Arterial
ILM	Membrana Limitante Interna (<i>Inner Limiting Membrane</i>)
INL	Capa Nuclear Interna (<i>Inner Nuclear Layer</i>)
IPL	Capa Plexiforme Interna (<i>Inner Plexiform Layer</i>)
JPO	Jornadas de Puertas Abiertas (<i>Jornades de Portes Obertes</i>)
ILM	Membrana Limitante Interna (<i>Inner Limiting Membrane</i>)
INL	Capa Nuclear Interna (<i>Inner Nuclear Layer</i>)
IPL	Capa Plexiforme Interna (<i>Inner Plexiform Layer</i>)
LCR	Líquido Cefalorraquídeo

ABREVIATURAS

LOAD	Enfermedad de Alzheimer de Aparición Tardía (<i>Late-onset AD</i>)
LTM	Lóbulo temporal Medial
MMSE	<i>Mini-Mental State-Examination</i>
NBACE	<i>Neuropsychological Battery of Fundació ACE</i>
NGL	Núcleo Genuculado Lateral
NORFACE	<i>Neuro-Ophthalmology Research at Fundació ACE</i>
OCT	Tomografía de coherencia óptica
OMS	Organización Mundial de la Salud
OLM	Membrana Limitante Externa (<i>Outer Limiting Membrane</i>)
ONL	Capa Nuclear Externa (<i>Outer Nuclear Layer</i>)
OPL	Capa Plexiforme Externa (<i>Outer Plexiform Layer</i>)
PET-FDG	Tomografía por Emisión Positrones 18F-Flúorodeoxiglucosa
PEV	Potenciales Evocados Visuales
PIO	Presión Intraocular
PL	Punción Lumbar
PSEN1	Presenilina-1
PSEN2	Presenilina-2
RM	Resonancia Magnética
RNFL	Capa de fibras nerviosas de la retina (<i>Retinal Nerve Fiber Layer</i>)
RPE	Epitelio pigmentario de la Retina (<i>Retinal Pigment Epithelium</i>)

ABREVIATURAS

PET-FDG	Tomografía por Emisión de Positrones Flúor-18 Fluorodeoxiglucosa
SPECT	Tomografía computarizada por emisión de fotón único
SUVR	Razón del Valor de Captación Estandarizado
T7M	Test de los 7-Minutos
TAC	Tomografía computarizada
TCE	Traumatismo craneoencefálico
TMT	<i>Trail Making Test</i>
UM	Unidad de Memoria
UM-FACE	Unidad de Memoria de la Fundació ACE

2. RESUMEN

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA), la mayor causa mundial de demencia, es incurable actualmente. Su diagnóstico precoz en fase de deterioro cognitivo leve (DCL) se antoja clave para lograr un tratamiento con mejores perspectivas de éxito. Por ello, sus biomarcadores están en pleno desarrollo e incluso algunos se han incluido en sus criterios diagnósticos, como los de neuroimagen y de líquido cefalorraquídeo (LCR). Los síntomas visuales aparecen en la EA desde sus fases iniciales y se especula que resulten de una “neurodegeneración retiniana” que precedería y luego acompañaría a los síntomas cognitivos. Por ende, la búsqueda de biomarcadores retinianos está en auge.

ANTECEDENTES

Varios estudios han mostrado adelgazamiento retiniano alrededor del disco óptico y la mácula mediante estudios anatomopatológicos y de tomografía de coherencia óptica (OCT) en la EA, con muestras pequeñas e hiperseleccionadas, si bien otros estudios desmienten estos hallazgos. La OCT es una técnica que captura, de manera rápida, fácil y económica imágenes de resolución histológica del fondo de ojo, características que hacen albergar esperanzas en su uso como biomarcador para el diagnóstico precoz de trastornos neurodegenerativos en las unidades de memoria (UM).

OBJETIVOS

1. Crear una cohorte de sujetos sanos y con patología cognitiva de una UM (NORFACE) a los que se realizará simultáneamente anamnesis y exploración oftalmológica completas seguidas de una OCT (N=3930).
2. Conocer las patologías oftalmológicas asociadas a una UM y cómo se tratan.
3. Evaluar la factibilidad de la OCT a gran escala en una UM, con sujetos con DCL o demencia tipo EA (N=930), patologías cuyas alteraciones cognitivas o visuales pueden dificultar su implementación.
4. Comprobar si realmente existe un adelgazamiento retiniano en las áreas sospechosas (13 variables de mácula y 5 peripapilares) con un diseño de alta

validez externa, doble ciego, con inclusión prospectiva de sujetos cognitivamente sanos o con diagnóstico clínico de DCL o demencia tipo EA.

5. Verificar los resultados anteriores en una submuestra (N=129) de sujetos diagnosticados con biomarcadores de neuroimagen (PET de amiloide).

6. Averiguar si esas variables retinianas aisladas o combinadas entre si en factores, discriminan sujetos cognitivamente sanos de DCL o/y demencia EA.

7. Meta-analizar estos resultados para fijar el estado actual de la cuestión.

RESULTADOS

a) Tras ajustar por edad, sexo, escolaridad y calidad de imagen de la OCT, sólo en el área nasal y superior del anillo interno ETDRS se encontró una reducción de grosor entre controles sanos y EA, e incluso en esas áreas, fue de escasa magnitud el efecto observado, solapado con el rango de la variabilidad normal intraindividual de la OCT e invalidándolo como biomarcador de EA.

b) Los resultados con biomarcadores de amiloidosis no demostraron diferencias entre los diferentes estadios de deterioro cognitivo ni diferenciado dicotómicamente entre sujetos positivos y negativos, dentro de cada fenotipo cognitivo.

c) La gran mayoría de los pacientes de la UM, incluyendo hasta demencias moderadas, colaboraron y completaron la OCT con imágenes de calidad aceptable. Pese a que dicha técnica se mostró factible a nivel masivo en una UM, en la práctica, su utilidad quedó menoscabada por su escasa capacidad discriminante de los fenotipos cognitivos. La alta prevalencia de retinopatías primarias asociadas a la edad también dificultó la interpretación de los datos.

d) La elevada comorbilidad de patologías oculares como el glaucoma y la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) aconseja la exploración oftalmológica en las UM como cribaje de patología oftalmológica inadvertida.

e) La prevalencia del glaucoma en el grupo de demencia no resultó mayor que en el de controles cognitivos, a diferencia de lo que otros autores sostienen.

f) Los sujetos con demencia tipo EA reciben menos tratamiento ocular tópico y prescripción de lentes de corrección que los sanos, hecho que podría indicar un tratamiento y seguimiento de salud visual subóptima.

3. INTRODUCCION

3.1. La enfermedad de Alzheimer (EA)

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la principal causa de demencia (1). Esta enfermedad neurodegenerativa supone más de la mitad de los casos de demencia en Europa. La incidencia de la EA aumenta exponencialmente con la edad, a partir de los 65 años.

El informe *Alzheimer's Disease International* (2), cifra en 46 millones de personas las que padecen demencia en el mundo. Si tanto la incidencia de la EA como la tendencia de nuestras sociedades al envejecimiento se mantienen, en 2050 habrá 131 millones de personas con demencia, la mayoría en países en vías de desarrollo. Para ese año, un tercio de los españoles tendrán más de 65 años, y habrá un millón de personas con demencia. De estos últimos, entre el 60 y el 80% padecerán EA (3).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) lleva alertando sobre la carga económica y socio-sanitaria de esta enfermedad en los últimos años, instando a sus Estados miembros a tomar medidas para reducir su impacto en la salud pública global (4).

El factor de riesgo principal es la edad pero se han sugerido otros como haber alcanzado bajos logros educativos u ocupacionales, la escasa actividad física o mental durante la vida adulta (1). Otros muchos factores se han puesto en relación con la EA como los traumatismos craneoencefálicos (TCE) o la carga cerebrovascular. Esta última se ha asociado al hábito tabáquico, la hipertensión (HTA), hipercolesterolemia, aterosclerosis, enfermedad coronaria, obesidad y diabetes mellitus (DM).

Otros estudios apuntan a que la ingesta de ácidos grasos poliinsaturados, folato, homocisteína y vitamina B12 o antioxidantes como las vitaminas C y E podría reducir el riesgo de desarrollar EA (5).

Si bien los factores ambientales pueden influir en el desarrollo de esta enfermedad neurodegenerativa, el peso genético es todavía más relevante como han demostrado estudios con grandes poblaciones de gemelos (6).

Según la edad de aparición y la influencia de los genes, se diferencian dos formas de EA: una más frecuente, de inicio tardío, (LOAD por *Late Onset*

INTRODUCCIÓN

Alzheimer's Disease) con un patrón de herencia poligénica y una heredabilidad de entre el 60-80% y otra, con baja prevalencia (<1%), de inicio precoz (EOAD por *Early Onset Alzheimer's Disease*) con comienzo antes de los 65 años, mayoritariamente autosómica recesiva y con heredabilidad cercana al 100%. Las mutaciones más importantes causantes de la EOAD son las del gen de la proteína precursora del amiloide (APP) y las de la presenilina 1 (PSEN1) y 2 (PSEN2).

La mayor parte de los genes responsables de la LOAD son desconocidos y confieren menos susceptibilidad. El más significativo es la apolipoproteína E (APOE) (7,8), cuyo alelo E4 confiere menos eficacia en el transporte de colesterol cerebral y favorece la formación de placas de amiloide. La presencia heterocigota de este alelo multiplica por 3 el riesgo y en homocigosis, por 15. Se estima que por copia del alelo desciende la edad de aparición en una década (9).

Desde un punto de vista histopatológico, las lesiones características de la EA son las placas seniles o neuríticas, concreciones extraneuronales por deposición de la proteína β A y los ovillos neurofibrilares intraneuronales compuestos por la proteína tau (ptau) hiperfosforilada (1). Ambos sucesos empiezan años antes de la aparición de los primeros síntomas cognitivos.

La hipótesis de la cascada amiloide (figura 1) es la más usada para explicar la fisiopatología de la EA. Esta sostiene que es un desequilibrio de la producción y aclaramiento de β A cerebral lo que desencadena la formación de placas de amiloide(10,11) pues hay pruebas tanto de que el exceso de producción (mutaciones deterministas APP, PSEN 1 y PSEN 2) así como el defecto de eliminación del de β A (por factores ambientales o presencia de ApoE4) pueden contribuir a la enfermedad. Tau es una proteína axonal que se une a los microtúbulos y promueve su estabilidad y ensamblaje. La alteración del equilibrio entre quinasas y fosfatasas (figura 2) conduce a una proteína tau anormalmente hiperfosforilada, lo cual lleva a la formación de polímeros tau y a una alteración estructural de los microtúbulos y del flujo axonal (12,13). Tanto las placas como los ovillos, en última instancia, ocasionan la destrucción de las neuronas o/y sus sinapsis. El resultado de dicha neurodegeneración es la disfunción cognitiva.

INTRODUCCIÓN

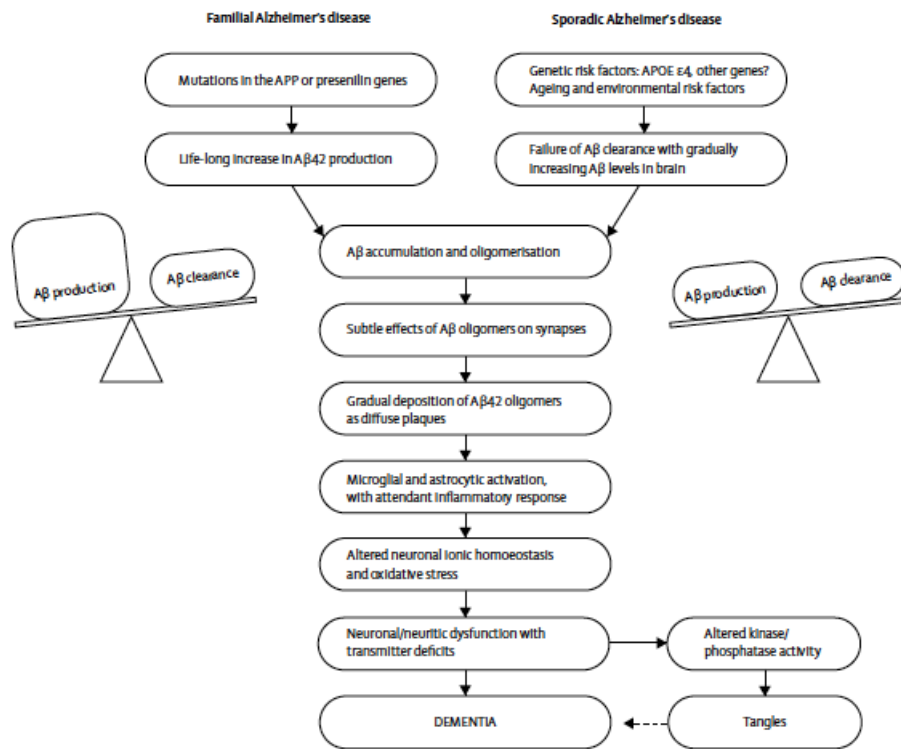


Figura 1. Cascada amiloide en la patogénesis de la EA. Tomado y adaptado de Blennow (1).

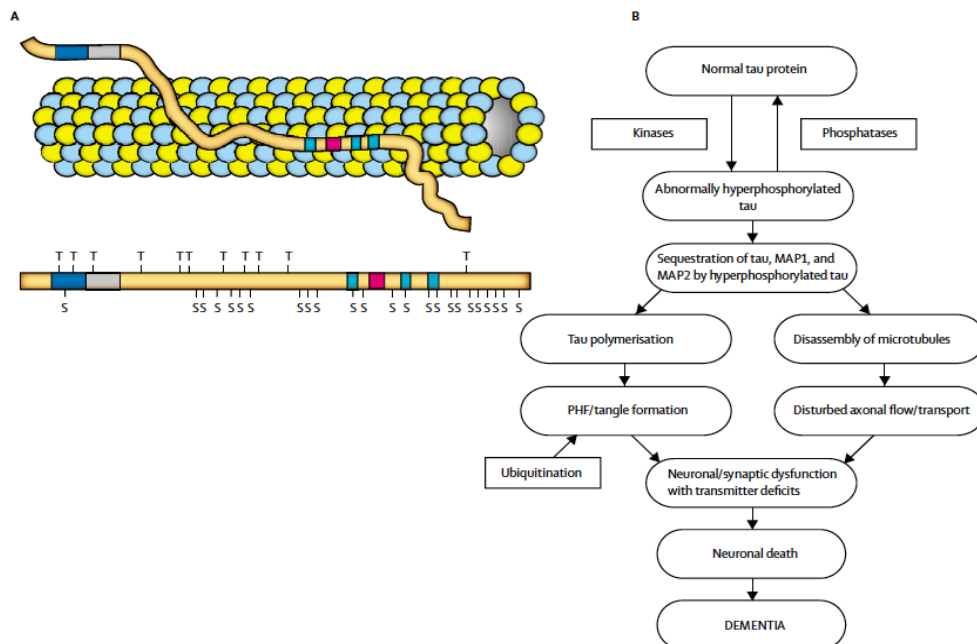


Figura 2. Proteína Tau en la patogénesis de la EA. Tomado y adaptado de Blennow (1).

Otras teorías que se han barajado implican la alteración de proteínas reguladoras del ciclo celular, mecanismos inflamatorios, estrés oxidativo y disfunción mitocondrial (14–17).

INTRODUCCIÓN

Emil Kraepelin y Alois Alzheimer fueron los primeros médicos en describir los síntomas como entidad nosológica y anatomopatológica, respectivamente, a principios del siglo pasado (18).

El deterioro cognitivo es el más marcado de los síndromes de la EA (1,19). Los síntomas se inician de manera insidiosa y progresiva y afectan todos los dominios cognitivos alterando el lenguaje, la memoria, la capacidad visoespacial y el juicio. Los olvidos inicialmente subjetivos (20–23) y luego verificables por observadores externos, son la presentación sintomática más frecuente. Traducen un deterioro precoz de la memoria episódica verbal. Un porcentaje menor de casos puede debutar con afasia (24). A esta fase incipiente en que hay fallos leves en el rendimiento social y laboral se la denomina deterioro cognitivo leve (DCL) y ya se objetiva daño al menos un dominio cognitivo. A pesar de ello, esta alteración no interfiere sustancialmente en el quehacer diario del sujeto (25–27). Conforme progresa la enfermedad, las demás funciones cognitivas se deterioran progresivamente produciendo un síndrome amnésico-afásico-aprático-agnóstico.

Las alteraciones conductuales y afectivas en esta fase también son frecuentes e incluyen ansiedad, estrés, apatía y depresión incluso en fases no avanzadas (19,28–31). Finalmente se afectan las AVD y la autonomía, fase denominada demencia (32–34) y los pacientes se vuelven dependientes de sus cuidadores.

La mayoría de los tratamientos farmacológicos se basan en la hipótesis colinérgica, que establece que la causa de la EA es la síntesis reducida del neurotransmisor acetilcolina (35). Entre los medicamentos utilizados se encuentran los inhibidores de la acetilcolinesterasa (IACE) como la tacrina, rivastigmina, galantamina, donepezilo y antagonistas del receptor de NMDA como la memantina. Estos medicamentos no ayudan a detener o revertir la progresión de la enfermedad. El mejor marco para el desarrollo de la investigación de nuevas terapias modificadores de la EA (36) parte de diagnosticar en fases precoces.

3.1.1. Deterioro cognitivo leve (DCL)

Por deterioro cognitivo leve se entiende una entidad neuropsicológica que describe el declinar de las funciones cognitivas en relación a su rendimiento previo pero que no afecta sustancialmente a las AVD (25,27,37). O dicho de otro modo, esta entidad nosológica hace referencia a las quejas cognitivas objetivables que no alcanzan la entidad suficiente para provocar demencia. Se trata pues de un constructo neuropsicológico que no se asocia a una etiología determinada sino que puede deberse, entre otras, a enfermedades neurodegenerativas, cerebrovasculares, psiquiátricas o del estado de ánimo o incluso a la ingesta de medicación psicotrópica.

Su formulación obedece pues a un fin predictivo, el de identificar los sujetos que tienen más riesgo de evolucionar a demencia de la cual el DCL se considera su fase prodrómica (38). Es por esta razón que, en la búsqueda de criterios más operativos tanto en clínica como en investigación, su definición ha evolucionado en los últimos años considerablemente (39,40).

En los últimos años se han ido identificando factores neuropsicológicos propios del MCI que confieren mayor riesgo de conversión a demencia, especialmente a EA (26,41). El síntoma más remarcable y precoz es el fallo en la memoria episódica (42–44). La dificultad inherente al concepto de DCL es que su diagnóstico exige comparar el rendimiento de un individuo determinado con otros de su edad, sexo y escolaridad, de tal suerte que pueda diferenciarse si dicho rendimiento cae por debajo de lo esperable. Sería pues una entidad diferente o de riesgo en comparación con otras como el “deterioro de memoria asociado a la edad” (45).

El DCL se conceptualiza como una etapa de transición entre la normalidad y la demencia (31,40) de manera que en la práctica se hace equivalente en la escala GDS (*Global Deterioration Scale*) a su estadio 3 (46) y en la escala CDR (*Clinical Dementia Rating*) a su estadio 0,5 (47). Esta última segrega a los cognitivamente normales (CDR 0) de aquellos con DCL (CDR 0,5) y con demencia en sus tres fases: leve (CDR 1), moderada (CDR 2) o grave (CDR 3).

INTRODUCCIÓN

Petersen utilizó la memoria y el número de dominios cognitivos con bajo rendimiento para definir el DCL en cuatro tipos (48) según si afectan la memoria (amnésico DCL-a) o la preservan (no amnésico DCL-na) y si afectan a un único dominio cognitivo (unidominio DCL-ud) o a varios (multidominio DCL-md) como se ve en la figura 3.

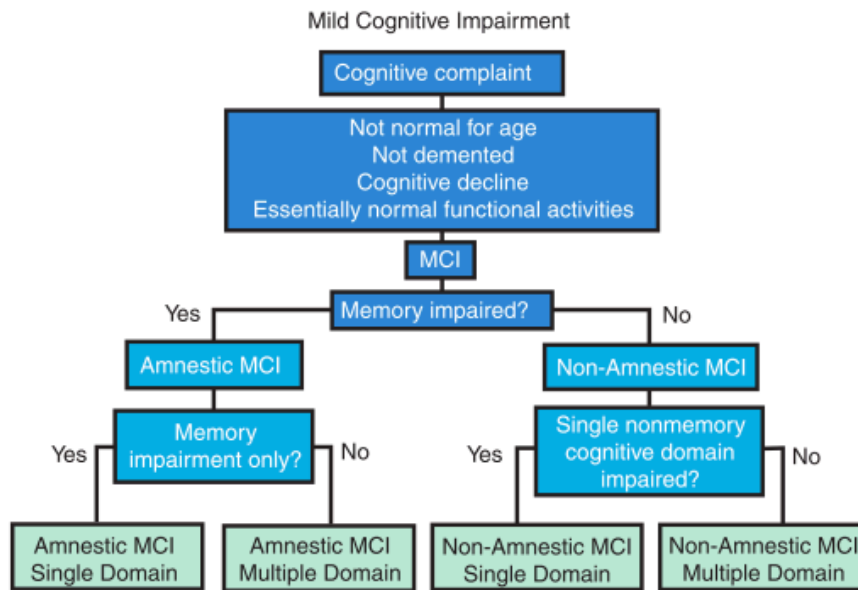


Figura 3. Subtipos de DCL, tomados y adaptados de Petersen (48).

Los criterios de diagnóstico de DCL precisan administrar pruebas neuropsicológicas sensibles para los principales dominios cognitivos. Se considera alterado un rendimiento por debajo de 1,5 desviaciones estándar (DE) en un dominio respecto a sus coetáneos con equivalente escolaridad. Aunque se consideran pautas y no puntos de corte, los pacientes con DCL suelen rendir entre 1 y 1,5 DE por debajo del promedio de un grupo de sujetos sanos del mismo grupo etario y nivel escolar. Para ello es preciso disponer de datos normativos de los rendimientos por test para cada cultura e idioma (27).

3.1.1.1. Estratificación del riesgo de conversión del DCL

Cada patrón de Petersen tiende a evolucionar más selectivamente hacia un tipo de demencia (48,49). Por ejemplo, los DCL-a-ud y DCL-a-md de causa neurodegenerativa suelen evolucionar a demencia tipo EA mientras que los DCL-a-md de causa vascular hacia demencia vascular (DV). Incluso los pacientes con DCL-na tienden a convertir más a EA (41,50,51) que a otras demencias como antes de pensaba (41,48,50,51). Existe controversia sobre si el riesgo de conversión a EA aumenta cuando otros dominios, aparte del mnésico, están afectados. Este hecho podría traducir una fase más avanzada (49,52). Por contra, otros autores sostienen que la memoria es el dominio realmente clave en la progresión a EA incluso aunque aparezca aislada como DCL-a-ud (41,53,54).

El *Cardiovascular Health Study (CHS)* aporta otra clasificación complementaria del DCL amnésico (55,56). Será DCL “probable” si, salvo la neurodegenerativa, no hay otra causa médica que pudiera explicar el cuadro clínico; será DCL “posible” si existe comorbilidad de otro tipo como psiquiátrica, farmacológica o cerebrovascular que pudiera explicar la sintomatología o bien si no se dispusiera de neuroimagen o/y informador o fueran de poca calidad.

Estudios posteriores han probado que los DCL “probables” suelen comprender individuos en fases prodrómicas de enfermedades neurodegenerativas, fundamentalmente EA, mientras que los “posibles” podían deberse a una amplia gama de patologías incluyendo también la propia EA. En cualquier caso, el DCL posible, aunque más lentamente, también tiende a convertir a demencia tipo EA (41,56). Una explicación posible es que la EA coexiste en un porcentaje alto con trastornos psiquiátricos como el síndrome ansioso-depresivo y factores cardiovasculares que conducen a la demencia mixta (57).

En el estudio de la presente tesis los pacientes con DCL tenían criterios de amnésicos de único o múltiple dominio y “probables”, para refinar al subgrupo de esa entidad clínica con mayor probabilidad de evolucionar a EA, o dicho de otra manera, el subgrupo que se acercaría al concepto de EA prodrómica.

3.1.1.2. Neuropsicología del deterioro cognitivo leve

Las pruebas neuropsicológicas disponibles se deben adaptar y luego validar en las poblaciones diana, en este caso una población hispanohablante de España. La mayoría de pruebas se desarrollaron inicialmente en inglés y posteriormente se tradujeron al español. Con ellas se generaron baterías conjuntas con datos normativos de edad y escolaridad en población española cognitivamente sana, por ejemplo los *Estudios Normativos Multicéntricos Españoles* (NEURONORMA) (58,59).

Para establecer los límites entre normalidad y anormalidad de una función cognitiva dada se han de administrar dichas baterías validadas en población sana a sujetos con una entidad patológica conocida (por ejemplo un DCL probable), diagnosticada con los criterios estándar de tal forma que se hallan los valores de sensibilidad y especificidad en función del puntaje de la prueba y los puntos de corte. Varios test han publicado los puntos de corte con este método, validados en español (60–63). En nuestro estudio se utilizó una batería neuropsicológica completa y validada llamada NBACE (Batería Neuropsicológica de Fundació ACE) con baremos actualizados y estandarizados (64,65) que ha probado su validez para el diagnóstico cognitivo y también para discriminar conversión de DCL a demencia (41).

3.1.2. Criterios diagnósticos

Tradicionalmente el diagnóstico de demencia y de la enfermedad de Alzheimer se ha realizado con los criterios del *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke* (NINCDS) y el *Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (ADRDA)(66) junto con los del Manual de diagnóstico y estadístico DSM-IV(67)

Con el fin de establecer un diagnóstico en fases precoces de la enfermedad de Alzheimer se diseñaron los nuevos criterios diagnósticos NIA-AA en los que se acuñan los conceptos de la EA y el DCL debido a EA en 2011 (27) y que en 2018 fue refinada con el sistema AT(N) (68). La detección en fases iniciales de la EA, permitiría tratar cuando el paciente es autónomo y todavía no tiene comprometidas las AVD.

3.1.2.1. Demencia

Para el diagnóstico sindrómico de demencia cualesquiera que sean sus etiologías y fases se utilizan los criterios del *National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease* (69). Se debe cumplir que los cambios cognitivos ocasionen una caída respecto en la capacidad laboral o social previas, objetivados por la historia clínica proporcionada por un informante válido y la exploración neuropsicológica y que no se deban a trastornos psiquiátricos mayores. El deterioro cognitivo-conductual debe afectar al menos dos dominios: a) memoria; b) razonamiento y manejo de tareas complejas; c) capacidad visuoespacial; d) lenguaje y e) personalidad y conducta.

3.1.2.2. Demencia tipo Alzheimer probable (69)

Se considera demencia tipo Alzheimer probable si aparte de los criterios de demencia se cumple que hay un inicio insidioso en meses o años, pruebas de deterioro de la cognición con un informador fiable y si estos síntomas se evidencian en la historia y exploración. Las presentaciones pueden ser:

-Amnésica: la más frecuente en la EA, cursa con alteración del aprendizaje y del recuerdo de información nueva.

-No amnésica: esta a su vez puede ser afásica, visuoespacial, disejecutiva según el dominio cognitivo cuyos fallos predominen.

Para que sea probable se debe excluir que exista carga cerebrovascular significativa (ictus, leucoaraiosis extensa,..) o síntomas prominentes compatibles con demencia por cuerpos de Lewy (DLB), demencia fronto-temporal variante de conducta (DFTvc), demencia semántica (DS), afasia progresiva primaria (APPr) o cualquier otra condición médica incluyendo la ingesta de medicación que altere la cognición.

Hay ciertas situaciones donde el diagnóstico de EA probable se hace con mayor certeza. Son los casos de "EA con declinar documentado" en los que éste se corrobora en visitas sucesivas con pruebas cognitivas o la "EA en portadores de una mutación determinista" como la APP, PSEN1 y PSEN2.

El diagnóstico definitivo se hace mediante estudio anatomopatológico aunque la correlación clínico-patológica no es óptima (70).

3.1.2.3. Demencia tipo Alzheimer posible (69)

Se califica de posible cuando: 1) El curso clínico es atípico por tener inicio brusco, declive no progresivo o mal documentado o 2) Tiene biomarcadores negativos en neuroimagen o líquido cefalorraquídeo (LCR) o 3) Presenta carga cerebrovascular concomitante o características de DLB, DFTvc, DS o APPr o, en general, cualquier situación clínica que altere la cognición.

3.1.2.4. Demencia debida a EA fisiopatológicamente probada (69)

Cuando se une el diagnóstico clínico de EA con el neuropatológico, que demuestra las características histológicas propias de Alzheimer.

3.1.3. Biomarcadores y clasificaciones derivadas

Los biomarcadores son indicadores endógenos de la actividad o estadio de un proceso biológico como por ejemplo una enfermedad (71). Su búsqueda en la EA es un área emergente de investigación que puede ser de gran utilidad sobre todo en el diagnóstico precoz en fase de DCL (72–77).

Un biomarcador ideal es aquel que es específico, sensible, no invasivo, económico, reproducible y adecuado y fácilmente disponible para el cribado de poblaciones a gran escala. Los biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer suelen cumplir sólo parte de esta lista de requisitos (78).

Existe consenso en que el desarrollo de nuevos biomarcadores es clave para el progreso de la investigación en EA y que deben ser utilizados de manera habitual en ensayos clínicos e investigación para aumentar la precisión diagnóstica. En la práctica clínica habitual, los biomarcadores se utilizan para discernir casos de diagnóstico incierto por cursos atípicos o comorbilidades que puedan alterar la cognición (69). Se especula que con su concurso, las intervenciones preventivas o/y terapéuticas con o sin fármacos, en fases tempranas podrían disminuir la prevalencia de demencia EA o/y su velocidad de evolución tal que el paciente viva más años y con cierta calidad de vida (4).

INTRODUCCIÓN

Los biomarcadores podrían aclarar, incluso en fases de deterioro precoz y preclínicas, si los síntomas de un paciente evolucionarán hacia demencia tipo EA, se quedarán estables o incluso remitirán. De tal manera, conceptos como las quejas cognitivas subjetivas (20–22,79–82) o DCL (27,48) perderían su significación actual y los pacientes en esos grupos, a la luz de un biomarcador fiable positivo para Alzheimer, se podrían diagnosticar de EA preclínica o EA prodrómica, respectivamente (38).

En el pasado, los biomarcadores se han buscado en test genéticos como el de la apoE (8,83–86) o en baterías y *composites* neuropsicológicos (26,41,87–91). En los últimos años los patrones de atrofia en resonancia magnética (RM) (92–95) se han instaurado en la práctica clínica habitual como posibles indicadores de neurodegeneración.

Los biomarcadores de LCR (73,76,96–99) y los de PET de amiloide (100–107) se están desarrollando muy rápidamente. Estos últimos utilizan compuestos como el B de Pittsburgh (PiB), el amyvid™ (florbetapirF18), vizamyl™ (flutemetamol) y el neuraceq™ (florbetaben F18) como trazadores radiactivos para estimar la carga amiloide.

Los biomarcadores más precisos, utilizados en los ensayos clínicos e investigación y con más relación con el proceso fisiopatológico de la EA se dividen en los de:

-Amiloidosis o depósito de la proteína β A intracerebral: la baja concentración intratecal de β A-42 o la positividad de un PET de amiloide. Los biomarcadores de PET (100–107) se han desarrollado aceleradamente.

-Neurodegeneración o lesión neuronal: hiperconcentración intratecal de Tau total y Fosforilada (P- Tau) o hipocaptación en corteza basal y lateral tampo-parietal con el PET de 18- fluorodesoxiglucosa (FDG). Estos marcadores de neurodegeneración se positivizan antes de que aparezca la atrofia marcada en la RM en las cortezas temporal (basal, medial y lateral) y la corteza parietal medial.

Los biomarcadores específicamente oculares merecen un capítulo aparte en esta tesis (108–116).

3.1.3.1. Dinámica de biomarcadores en la EA

Como los cambios de la fisiopatología del Alzheimer aparecen décadas antes de los primeros síntomas clínicos, existe un decalaje entre el depósito de placas βA , signo anatomopatológico precursor de la EA y la clínica (72,104). La carga de dichos depósitos βA , el % de portadores del alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE* y el grado de deterioro cognitivo crecen progresivamente a partir de la sexta década de la vida en los pacientes con DCL (117).

En la figura 4 vemos la dinámica de positivación de los biomarcadores principales de amiloidosis y de neurodegeneración, por este orden, años antes de que debuten los primeros síntomas neuropsicológicos que a su vez preceden a los fallos de las funciones cognitivas. En la figura 4 vemos el modelo teórico de la historia natural de la EA (72), donde el depósito de amiloide sucedería antes que la propia neurodegeneración. Esto no siempre ocurre así, y en ocasiones es al revés, siendo la carga crítica de depósitos βA la que aceleraría el proceso de neurodegeneración y deterioro cognitivo.

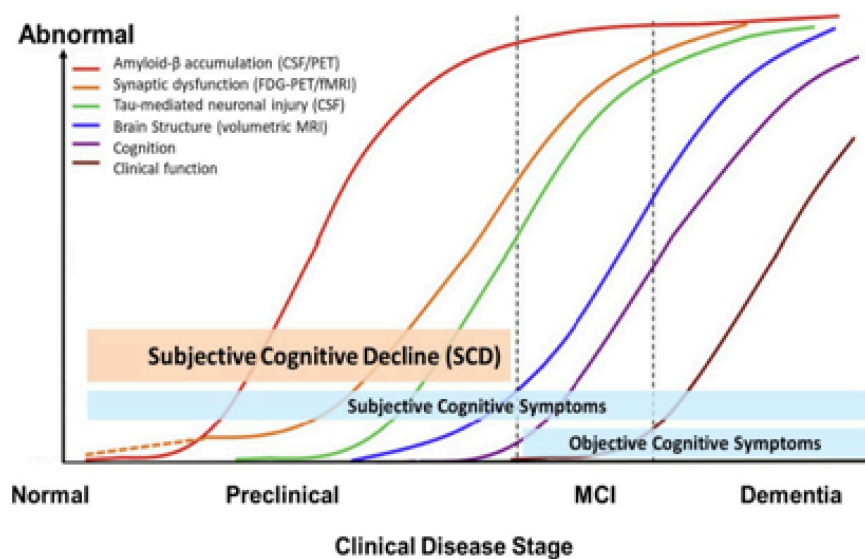


Figura 4: dinámica de positivización de los biomarcadores EA adaptado de *Jack* (72).

El *International Working Group (IWG)* ha publicado en los últimos 15 años los criterios IWG-1 (38) e IWG-2 (118) y los criterios NIA-AA (*National Institute on Aging-Alzheimer's Association*) (27) que tienen en común el uso de diversos biomarcadores para incrementar el nivel de certeza

INTRODUCCIÓN

de patología EA en los pacientes con DCL (tablas 1 y 2). Estos artículos se han comparado entre si y demostrado equivalentes (119) y a su vez en relación a su capacidad de conversión a EA en estudios longitudinales (120).

Tabla 1. Clasificación por criterios IWG-1 e IWG-2.

IWG-1 (2007)	Criterios de investigación para la EA prodrómica
EA prodrómica	<ul style="list-style-type: none"> Deterioro cognitivo en cualquier dominio cognitivo, al menos un biomarcador de EA anormal. Estos pueden ser: <ul style="list-style-type: none"> -Topográficos: atrofia del lóbulo temporal medial en RMN o hipoperfusión en la corteza parieto-temporal en el PET-FDG. -Patofisiológicos: bajos niveles de amiloide – βA1-42 en LCR, altos niveles de Tau en el LCR o aumento en PET de la captación de amiloide.
IWG-2 (2014)	Criterios de investigación para la EA prodrómica
EA no prodrómica	<ul style="list-style-type: none"> Deterioro cognitivo en cualquier dominio, βA1-42 en LCR y/o Tau normal o PET de βA normal.
EA prodrómica	<ul style="list-style-type: none"> Deterioro cognitivo gradual y progresivo en memoria episódica de tipo hipocámpico aislado o acompañado de otras alteraciones cognitivas/ conductuales sugestivas de DCL o de un síndrome de demencia. Disminución de βA1-42 en LCR y/o aumento de Tau o Aumento de la captación de βA en PET.

Tabla 2. Clasificación del NIA-AA.

NIA-AA (2011)	Criterios de DCL debido a EA
Grupo con baja probabilidad de EA	Deterioro cognitivo en cualquier dominio, marcadores de amiloide y daño neuronal normales.
Grupo con alta probabilidad de EA	Deterioro cognitivo en cualquier dominio, marcadores de amiloide y daño neuronal anormales.
Grupo conflictivo IAP <i>(isolated amyloid pathology)</i>	Deterioro cognitivo en cualquier dominio, niveles β A anormales y marcadores de daño neuronal normales.
Grupo conflictivo SNAP <i>(suspected non-Alzheimer pathophysiology)</i>	Deterioro cognitivo en cualquier dominio, niveles β A normales y marcadores de daño neuronal. anormales.
Grupo con probabilidad intermedia de EA	Deterioro cognitivo en cualquier dominio, un marcador testeado y anormal.
Grupo no concluyente / no informativo	Deterioro cognitivo en cualquier dominio, un marcador testeado y normal.

INTRODUCCIÓN

A pesar de dicha validación de biomarcadores e integración en los nuevos criterios de diagnóstico clínico, hay revisiones Cochrane que muestran o una precisión subóptima para los de LCR (99) o de neuroimagen como los PET FDG (121) o PIB (122) o bien que no evolucionan paralelamente a la neurodegeneración. Por ejemplo, el amiloide podría alcanzar una meseta mientras la neurodegeneración prosigue (123).

Además los biomarcadores actuales son muy costosos económicamente, como es el caso de la detección de depósitos de A β y Tau en el cerebro mediante tomografía por emisión de positrones (PET) o bien muy invasivos, como la obtención de proteína tau y péptido A β en LCR mediante punción lumbar (PL) (75). Por todo ello, la búsqueda de nuevos biomarcadores para el Alzheimer sigue muy en boga. Nuestro grupo de investigación se ha centrado en la búsqueda de biomarcadores retinianos porque estudios previos habían demostrado resultados prometedores en ese área (108,111,124).

3.2. La retina, ventana al Sistema Nervioso Central (SNC)

El ojo es un órgano fácilmente accesible porque no está encerrado en las estructuras óseas como el cráneo o la columna vertebral que alojan el SNC. Por lo tanto, la retina se presta para la búsqueda de biomarcadores de las enfermedades neurológicas (71).

La retina se considera una protuberancia anatómica del sistema nervioso central con los mismos orígenes embriológicos.

El hecho de que la retina se desarrolle a partir del tubo neural y una invaginación diencefálica de las células pluripotentes explica que comparta muchas similitudes morfológicas con el cerebro (125,126) y, en parte, la comorbilidad entre enfermedades neurológicas y oculares y la alta concurrencia de síntomas visuales en patología estrictamente cerebral (111,127).

La retina procesa las señales neurales a raíz de un estímulo lumínico. Antes de atravesar la neuroretina y estimular los fotorreceptores, la luz pasa por varios medios dióptricos transparentes:

- La córnea, la parte anterior de la esclerótica, una lente de 49 dioptrías.
- El humor acuoso, de composición similar al LCR y cuya homeostasis es clave

INTRODUCCIÓN

para regular la presión intraocular (PIO).

-El cristalino, una lente biconvexa de 11 dioptrías y una acomodación de 15 dioptrías. Con la contracción del músculo ciliar, se incrementa el grosor del cristalino y se enfoca de cerca, con su relajación, para el enfoque lejano.

-El humor vítreo, constituido por un líquido gelatinoso de ácido hialurónico.

Los fotorreceptores detectan la luz y transducen la información visual a las RGC mediante varios grupos de neuronas intermedias. Todas en su conjunto forman las capas de la neuroretina (figura 5).

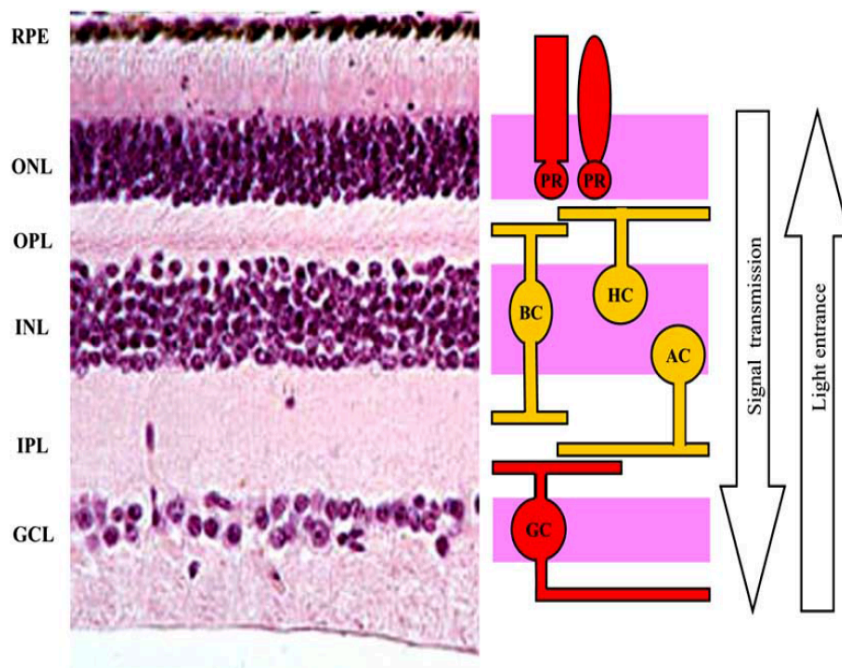


Figura 5. Capas de la retina, tomado de Guo (111) con su correspondencia en la imagen OCT. De fuera adentro están los fotorreceptores (PR) en la capa nuclear externa (ONL: *outer nuclear layer*); las células bipolares (BC: *bipolar cells*), células horizontales (HC: *horizontal cells*) y amacrinas (AC: *Amacrine Cells*) en la capa nuclear interna (INL: *Inner Nuclear Layer*); las células ganglionares de la retina (GC: *Ganglion Cells*) en la capa de células ganglionares (GCL: *Ganglion Cell Layer*). Rodeando por fuera a la ONL están el epitelio pigmentario de la retina (RPE: *Retinal Pigment Epithelium*). Entre las capas nucleares externa e interna hay una capa fibrilar, la capa plexiforme externa (OPL: *Outer Plexiform layer*) y entre la nuclear interna y la de células ganglionares, otra, la capa plexiforme interna (IPL: *Inner Plexiform Layer*).

INTRODUCCIÓN

Los mamíferos poseen cinco grupos neuronales de la retina: fotorreceptores (conos y bastones), células bipolares (BC), horizontales (HC), amacrinas (AC) y ganglionares de la retina (GC).

Las GC retransmiten las señales visuales al cerebro mediante sus axones que forman la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL). Este contingente de fibras no mielinizadas forma el nervio óptico, a su salida del globo ocular. Su cabeza es una región pequeña, circular por la cual descienden los axones de las RGC a través de una lámina en forma de tamiz conocida como lámina cribrosa. Su primer relevo es el núcleo geniculado lateral (NGL) del tálamo que a su vez deriva estas señales a la corteza visual primaria (figura 6).

El NGL procesa tres canales visuales distintos desde la retina hacia la corteza visual primaria: las vías magno-, parvo- y konio-celulares. Mientras la vía parvocelular transmite información sobre el color y el objeto, la magnocelular se encarga de señales de reconocimiento espacial y el movimiento (128) y la koniocelular de la información cromática azul / amarillo. El NGL humano está organizado anatómicamente en seis capas principales, con neuronas magnocelulares M ubicadas en las capas ventrales 1 y 2, neuronas parvocelulares P ubicadas en las capas dorsales de la 3, 4, 5 y 6 y neuronas koniocelulares K intercaladas entre dichas capas principales. Estas neuronas en las capas del NGL comparten el mismo nombre que sus homólogas retinianas de la RGC. Mientras las capas de 2, 3 y 5 del NGL se conectan con el ojo ipsilateral, las capas 1, 4 y 6 provienen del ojo contralateral. Desde el NGL, la radiación óptica transmite información visual a la corteza visual primaria y después a regiones corticales superiores para un procesamiento en la corteza de asociación visual (129).

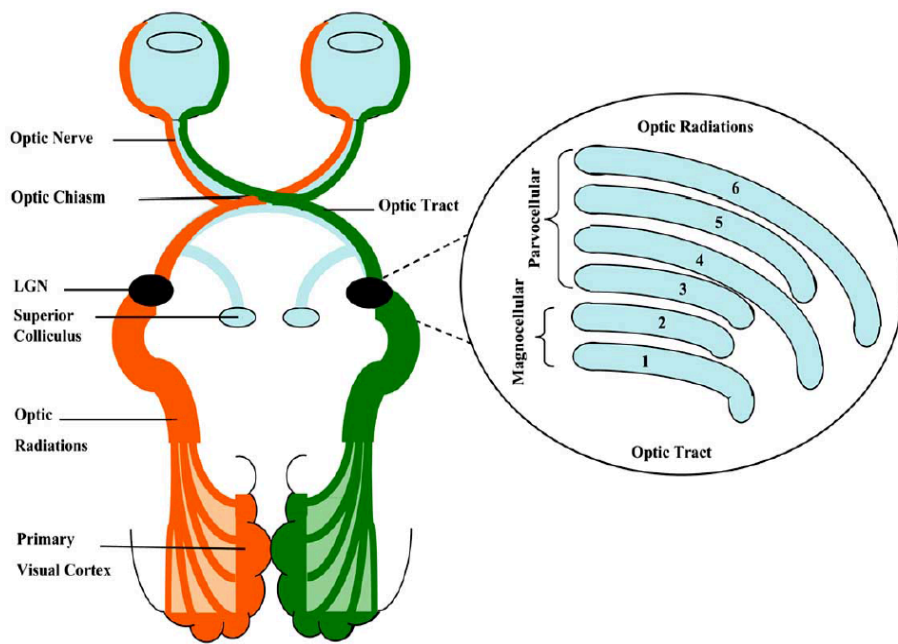


Figura 6. Vía visual, tomada de Guo (111).

Hay múltiples enfermedades del SNC que tienen síntomas visuales marcados. Por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas como la atrofia cortical posterior (ACP) que daña las vías de procesamiento visual (130) y tiene histología compatible mayoritariamente con la EA. Entre sus múltiples y heterogéneos síntomas aparecen la apraxia oculomotora, la ataxia visual, los problemas para la lectura y conducción, la simultagnosia, la agrafia, desorientación topográfica, entre otros, produciendo un cuadro muy invalidante parecido a una ceguera cortical.

Otras demencias como la de cuerpos de Lewy (DLB), la segunda más frecuente de etiología degenerativa tras la EA, desarrollan un cuadro de parkinsonismo, fluctuaciones cognitivas y vívidas alucinaciones visuales (131), a la par del propio daño en la cognición. La DLB presenta múltiples déficits visuales en la percepción del movimiento espacial y de objetos, la orientación de líneas, los movimientos sacádicos, etc.

También las demencias vasculares cursan con síntomas visuales: el más llamativo es la hemianopsia homónima, especialmente en aquellas con daño en territorio occipital por infartos en el territorio de irrigación de la arteria cerebral posterior; otros como la heminegligencia y la diplopia también son frecuentes.

INTRODUCCIÓN

Cabe mencionar el síndrome de Charles-Bonnet, fuente de alucinaciones visuales en invidentes o pacientes con visión deficiente sobre todo en edad avanzada (132,133).

3.2.1. Manifestaciones visuales de la EA

Los cambios oculares en la EA (tabla 3) pueden ocurrir antes de que se establezca el diagnóstico (134,135) ya en fase de DCL o de demencia incipiente. Los más frecuentes son las dificultades para leer y encontrar objetos (136,137), para percibir la profundidad (135,136,138), movimiento (139) y color (135,140), el campo visual (141) y la sensibilidad de contraste (142,143). También podría existir alteración en los movimientos finos y sacádicos de seguimiento (144,145). La severidad del déficit visual se correlaciona con la del estadiaje cognitivo. Además, el 20% de los pacientes con EA experimentan alucinaciones visuales, especialmente aquellos con problemas de visión y deterioro cognitivo más grave (146).

Tabla 3. Anomalías visuales en la EA, tomado de *Guo* (111).

	Referencia	Manifestaciones
Córtex primario / córtex visual más elevado	(135)	Lectura y localización de objetos
	(135,140)	Reconocimiento de color
	(136)	Memoria y atención visual
	(135,136,138)	Profundidad y percepción de movimiento (V1, MT o V5*)
Retina, RGCs y RNFL	(136,142,143)	Sensibilidad al contraste espacial

* MT o V5: área visual temporal medial

3.2.1.1 Correlatos oculares de las síntomas visuales de la EA

Dada la diversidad de los síntomas, diferentes puntos de la vía visual podrían explicar la naturaleza de estos hallazgos clínicos. Clásicamente, se pensaba que la disfunción visual en la EA se debía exclusivamente al daño en la corteza visual primaria y áreas corticales superiores (147–149). Es cierto que en la corteza visual, se ha detectado pérdida de células piramidales (147,150) con un patrón de abundantes placas seniles y pocos ovillos neurofibrilares

INTRODUCCIÓN

(151). Sin embargo, para la gravedad de los síntomas visuales la corteza está relativamente preservada (152–154) lo cual ha llevado a buscar la causa de estos síntomas en localización precortical. Como botón de muestra, en la vía visual de pacientes con EA se ha descrito acumulación de lipofucsina en el núcleo geniculado lateral (NGL) y alteraciones de la difusividad y anisotropía en estudios con tensor de difusión en los nervios ópticos (155).

Sin embargo, cada vez hay más evidencia de que la participación ocular puede ser esencial en los problemas visuales (156–159). Se ha descrito menor grosor neuroretiniano, hiperreactividad pupilar, depósitos de beta amiloide (β A) intrarretinianos, cambios del flujo y arquitectura de la retina vascular (figura 7) y alteraciones electroretinográficas.

Cambios neuroretinianos: Histológicamente, se ha encontrado una pérdida preferencial de GC y axones de gran diámetro en pacientes con EA (159). Dado que en comparación con las células P (más pequeñas) (128), las GC de tipo M (más grandes) tienen sensibilidad al contraste en frecuencias espaciales bajas y/o temporales altas, se especula que la alteración de la sensibilidad al contraste pudiera explicarse por esa aparente mayor vulnerabilidad de las RGC grandes y sus axones (135,159). Dicha pérdida más selectiva de células M podría explicar también las anomalías de la percepción del movimiento en pacientes con EA (135).

El adelgazamiento peripapilar de la RNFL es el hallazgo más común en la EA pero también en otras muchas afecciones neurológicas como la esclerosis múltiple, los ictus, la neuromielitis óptica, la demencia con cuerpos de Lewy o la enfermedad de Parkinson (160–162).

Utilizando la oftalmoscopia con láser confocal se ha observado una disminución significativa en el grosor de la RNFL peripapilar y el volumen y área del borde neuroretiniano así como un aumento en el relación copa / disco, todo lo cual indicaría daño del nervio óptico (163). Además, la palidez de la papila medida con fotografía de alta resolución con luz azul se correlaciona significativamente con la gravedad y la duración de la EA (164).

Cambios en la reactividad pupilar: los pacientes diagnosticados de EA probable manifiestan un patrón específico de hipersensibilidad en la respuesta pupilar a tropicamida a baja concentración (0,01%), un colirio midriático parasimpaticolítico (165). La tropicamida, como antagonista del receptor de acetilcolina (ACh), compite con la ACh para unirse a los receptores muscarínicos. Como los pacientes con EA exhiben un déficit en las vías de ACh, se postula que sus receptores de ACh pueden ser mucho más sensibles a bajas concentraciones de tropicamida que los sujetos normales.

Estudios posteriores han corroborado esta respuesta específica (166,167) y que la variabilidad alélica de la ApoE, un factor relacionado con la EA esporádica de aparición tardía (7,8,86), influye en la respuesta pupilar a través de la hiperfosforilación de tau (168). Se ha comprobado que esta respuesta alterada, detectable por pupilometría, confiere más riesgo de empeoramiento cognitivo, y que dicho riesgo estaría modulado por la variabilidad alélica ApoE (169).

Depósitos de beta amiloide intrarretinianos:

Los depósitos de β A, signo patológico característico de la EA, denotan un procesamiento anormal de la proteína precursora amiloide (APP). La inmunorreactividad de la APP y la proteína tau se ha demostrado en la retina humana normal. La reactividad APP aumentaría con la edad mientras que la segunda, no (170). Estudios con ratones transgénicos para EA [19, 25, 65] confirmaron estos hallazgos de APP y β A especialmente en las capas GCL, RNFL e IPL y el patrón de variación etario descrito (171,172).

Se ha observado mayor deposición de β A en el área supranuclear del cristalino de pacientes Alzheimer, lo que podría explicar las cataratas supranucleares ecuatoriales característicamente observadas en la EA (173) y en modelos murinos del síndrome de Down (174), una condición cuya trisomía 21 favorece un cuadro similar a la EA de inicio temprano (EOAD).

En busca de la correlación cerebroretiniana, un estudio realizó PET de amiloide a 63 sujetos con alta probabilidad de desarrollar EA por sus antecedentes familiares y, a continuación, una OCT con autofluorescencia con láser azul (175). Dicha OCT no puede detectar depósitos $A\beta$ pero sí cuerpos

INTRODUCCIÓN

de inclusión en forma de sombra en la retina (sobre todo en la IPL, capa muy colinérgica) que se correlacionaron bien con el nivel de β A del PET.

La curcumina, un extracto fitoquímico proveniente del rizoma de *Curcuma longa*, inyectada intravenosamente o vía oral, se une al β A. Puede usarse como agente colorante y diluyente de las placas en la medida que al fijar los oligómeros, evita que estos se agreguen en fibrillas insolubles (176). Por tanto, los derivados de la curcumina pueden servir como marcadores en PET de amiloide (177) y generar imágenes de fluorescencia en la retina, cuya medida se correlacionaría con la magnitud de esos depósitos.

Recientemente, se ha desarrollado un sistema de escaneo ocular con ligando fluorescente (FLES) que mediante láser escanea el ojo cuyas posibles placas se han marcado con fluorescencia. Se ha encontrado una alta concordancia entre PET amiloide y FLES en el cristalino (178).

Por otra parte, se sabe que la proteína β A es un componente de las drusas en la DMAE (179,180) y que en la retina periférica de los pacientes con EA existe una prevalencia mayor de drusas duras (181).

Retina vascular:

Las anomalías del flujo sanguíneo cerebral se consideran un factor cada vez más importante en la patogénesis de la EA (182,183). El depósito de β A en la angiopatía amiloide reduce la luz de arterias y arteriolas (184) y estos cambios también se han encontrado en la circulación retiniana (185), con la cual, la cerebral comparte similitudes. Por medición del flujo retiniano con efecto Doppler (186), se ha identificado en la EA:

- Un estrechamiento marcado del diámetro de la microvasculatura retiniana, más escasa y tortuosa en EA, lo que condiciona una reducción significativa del flujo sanguíneo retiniano en estos pacientes (187)
- Un patrón de ramificación de menor complejidad y vénulas ensanchadas (188,189). Estas anomalías podrían preceder a los cambios neurodegenerativos en el cerebro (190).

El estudio de envejecimiento AIBL (*Australian Imaging, Biomarkers and Lifestyle Flagship study of Aging*) correlacionó los cambios en los vasos sanguíneos de la retina con la carga amiloide cerebral medida con PET (108).

INTRODUCCIÓN

Se encontró que en sujetos sanos desde un punto de vista cognitivos, el factor de asimetría de ramificación venular y la relación longitud arteriolar / diámetro era más alto en aquellos con alta carga amiloide, lo cual podría indicar mayor riesgo de progresión a DCL tipo EA. Los pacientes con menor valor de fracción venular o menor tortuosidad arterial tendían más a desarrollar EA, después del ajuste por edad, tabaquismo, hipertensión, diabetes y fármacos aunque estos parámetros no se correlacionaban con la puntuación en el MMSE.

La saturación de oxígeno de la retina medida por oximetría en las arteriolas y vénulas de la retina está significativamente elevada (191). Como el suministro de oxígeno es el producto del flujo sanguíneo por la diferencia arterio-venosa en la concentración de oxígeno, si, como ocurre en la EA se reduce el flujo sanguíneo (185), y por ende, el aporte de oxígeno, la elevada saturación de oxígeno sería una compensación fisiológica. El disco óptico, por análisis colorimétrico en pacientes con EA es pálido debido a la alteración de la perfusión y la pérdida axonal en las primeras etapas (192).

Electrofisiología: Se ha detectado un retraso significativo en los componentes N35, P50 y N95 del electroretinograma de patrón. La reducción de la amplitud de la onda b podría explicarse por el supuesto número reducido de células ganglionares en la EA. Los potenciales evocados visuales (PEV) también muestran cambios en pacientes con EA avanzada. (193)

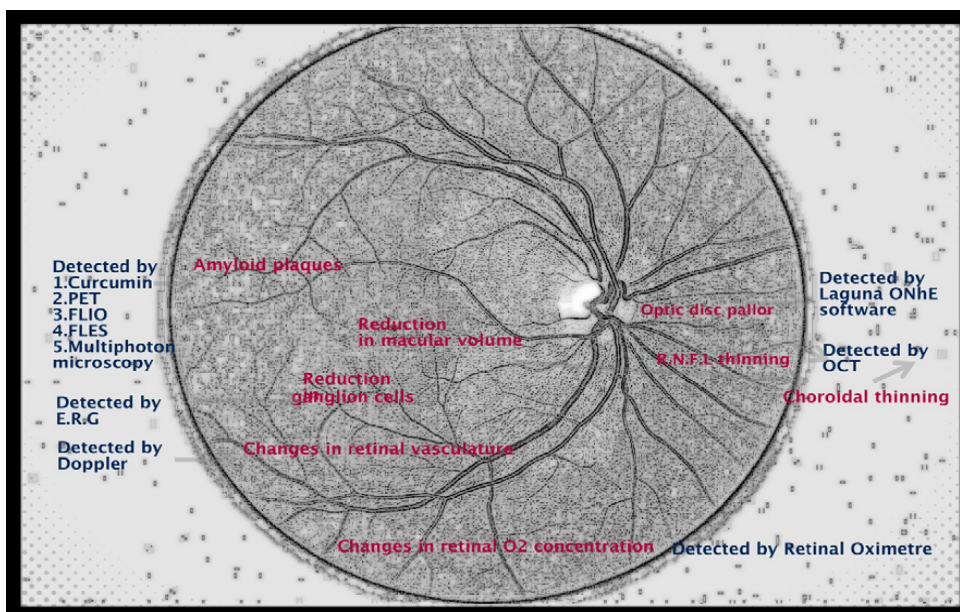


Figura 7. Cambios en la retina en la EA, tomado de Mahajan (127).

3.2. La tomografía de coherencia óptica (OCT)

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una rápida técnica transpupilar, poco costosa e inocua que permite cuantificaciones objetivas in vivo de gran precisión para valorar la integridad de las estructuras oculares (194).

Se basa en la interferometría de baja coherencia (195) propiciada por fuentes de luz de banda ancha generada por diodos superluminiscentes o láseres con pulsos extremadamente cortos (fento- o picosegundo).

La luz emitida se divide en dos haces: uno en dirección al objeto de estudio que será reflejada parcialmente por el mismo y otro a un espejo de referencia, de distancia conocida. Tras sus respectivas reflexiones retornaran al divisor del haz donde existe un detector. La combinación de la luz reflejada del rayo de muestra (reproduce las interfaces del tejido explorado, por ejemplo las capas de la retina) y la del de referencia produce un patrón de interferencia si o cuando dichos haces se han movido en la misma distancia óptica (menor de una longitud de onda).

La reflectividad de este patrón de profundidad axial (*A-scan*) reproduce la localización o profundidad del elemento de interés. Si se combinan lateralmente distintos *A-scans* contiguos se puede producir una tomografía de corte transversal bidimensional (*B-scan*).

La capacidad de discriminación (resolución axial y transversal) y velocidad de captura no ha hecho sino aumentar desde los primeros aparatos de dominio temporal (TD-OCT) con cada nueva generación de la OCT. Los modelos más recientes se acercan a la micra (196).

Sus principales utilidades son la biometría de longitud anteroposterior del ojo, la exploración del segmento anterior, el estudio del glaucoma y la cabeza del nervio óptico (196–198). El análisis estructural de la retina neural permite, entre otros, conocer el grosor de capas como la RNFL o la GCL y realizar un estudios morfométricos de la papila óptica. Estas medidas se pueden comparar en el tiempo para valorar el éxito de un determinado tratamiento, por ejemplo para el glaucoma o la neuritis óptica.

Entre los avances destaca la OCT funcional que monitoriza cambios funcionales de reflectividad mediante estimulación sucesiva (199) de las capas

INTRODUCCIÓN

de la retina lo cual permite cuantificar el flujo sanguíneo retiniano por Doppler OCT color (200) y la saturación de oxígeno en sangre retiniana (201,202). Este análisis permite realizar angiografías sin el tradicional contraste de fluoresceína sódica, para estudiar los lechos vasculares retinianos, la interfase vítreo-retiniana, la coriocapilar y la coroides.

También es una herramienta prometedora para la investigación neurológica (203,204) por su confiabilidad en muchas patologías del SNC (162,205–207) y su elevada correlación con varias técnicas electrofisiológicas visuales (208–210).

Como cada modelo de cada casa comercial puede arrojar un valor absoluto de grosor diverso tras una medición de un mismo ojo, son necesarias bases de datos normativas que permitan comparar mediante sus percentiles los valores de referencia para cada modelo de tomógrafo (211–213).

Para este estudio se ha utilizado la tecnología Maestro OCT-1000 de la firma Topcon (Tokio, Japón) que genera imágenes de alta resolución axial (en torno a 5 micras).

3.3.1. La OCT en la EA

El interés por la degeneración retiniana en la EA arrancó en 1986 con un análisis post-mortem que mostró una degeneración axonal generalizada en los nervios ópticos de pacientes, junto con un grosor reducido de la RNFL y una reducción significativa en el número de GC (159), especialmente de las GC tipo M y sus axones, los de gran diámetro (158,159). Más tarde, se describieron las lesiones intracelulares en las GC desde la inicial palidez citoplásmica con mitocondrias hinchadas y núcleos pálidos con cromatina dispersa, hasta las tardías vacuolización del citoplasma y agrupación de la cromatina (214). También se vio que el daño neuronal más pronunciado tenía lugar en los cuadrantes superior e inferior asociado a una importante astrocitosis (215). Además la mácula también se vio muy afectada por estos cambios especialmente la región foveal temporal (216). Sin embargo, otros estudios histopatológicos no han encontrado afectación retiniana ni del nervio óptico (148,217,218).

INTRODUCCIÓN

Los artículos de OCT en EA han usado dos generaciones difícilmente comparables: la primera, la OCT de dominio tiempo (TD-OCT) y la siguiente, la OCT de dominio espectral (SD-OCT) (o de dominio de Fourier) que mejora la adquisición, procesamiento y análisis de imágenes respecto a la TD-OCT (219). Este salto permite que la resolución de la imagen mejore desde una resolución $>10 \mu\text{m}$ a una $<5 \mu\text{m}$ y la velocidad de adquisición de alrededor de 400 escaneos por segundo a 40.000/s.

Aunque la exploración OCT es incruenta y rápida, su finalización requiere una cooperación mínima. Los pacientes con etapas avanzadas de demencia son menos capaces de seguir instrucciones y permanecer quietos, lo que puede afectar la calidad de imagen lograda. En esta tesis se ha estudiado cómo los distintos grados de deterioro clínico y cognitivo (47) pueden influir en la correcta realización de una OCT en una clínica de memoria.

Hallazgos de OCT en la EA

Con la aparición de la OCT se verificaron los hallazgos histológicos arriba descritos. Así, en pacientes con DCL o demencia tipo EA (en comparación con controles coetáneos) había una reducción significativa en el grosor de la RNFL peripapilar (110,156,157,209,220), especialmente prominente en el cuadrante superior (185). Esto coincide con la pérdida predominante del campo visual inferior en la EA(141). El segundo cuadrante más afectado fue el inferior. Que los cuadrantes superior e inferior contengan más neuronas puede ser una explicación, pues en ellos se espera que la neurodegeneración sea más prominente. Este adelgazamiento era detectable con cualquier generación de OCT y se correlacionó con parámetros clínicos (221).

A nivel macular también se encontró un grosor reducido en la capa de fibras nerviosas de la retina, las células ganglionares, las capas plexiforme interna y nuclear externa en comparación con los controles coetáneos (222) y esto era tanto más evidente en enfermedad de larga duración o severa. Como en la mácula se encuentran la mayoría de somas de las neuronas retinianas a priori parece un lugar ideal para detectar neurodegeneración.

INTRODUCCIÓN

Hay incluso estudios (223,224) que afirman que se pueden objetivar alteraciones en las OCT de sujetos con deterioro cognitivo subjetivo, entidad en la que no se evidencia ninguna alteración en las baterías neuropsicológicas al uso y que se ha relacionado con aumento de riesgo de evolucionar a EA.

Esta merma morfológica se correlacionan con la de la función de la retina medida con electroretinograma de patrón (135,209,220) prueba que refleja la actividad bioeléctrica de las GC y sus fibras (225), afectadas en la EA. No existe consenso sobre el hecho de que la tasa de conversión a demencia tipo EA desde DCL sea mayor si hay adelgazamiento retiniano previo (31).

La reducción del volumen y grosor parece ocurrir de manera más precoz en el área macular que peripapilar (226), ser más marcada en el área macular supero-interna, correlacionarse con el estadio de la enfermedad y con la puntuación del test MMSE (157,227). Estos hallazgos se corresponden con estudios histológicos previos (216) donde se observa una reducción de más de 40% de neuronas de la capa RGC en la retina central (definida por excentricidad <0,5mm), sobre todo en el área más temporal y del 25% en la más periférica (excentricidad de 0,5-1,5 mm) en EA.

El avance de la tecnología SD-OCT ha facultado la detección de un adelgazamiento de la coroides en EA (112,228,229).

No se han observado patrones diferenciales de atrofia en los distintos tipos de demencia. En un estudio español la demencia tipo Parkinson y DLB tenían un adelgazamiento de la RNFL equiparable al de la EA (161).

3.4. Controversias y limitaciones en los estudios previos con OCT en EA

Como se ha venido explicando, los síntomas visuales en el contexto de la EA se han postulado consecuencia de una degeneración precortical de la vía visual (sobre todo a nivel retiniano) más que de un daño cortical.

El supuesto de que el daño retiniano obedece a depósitos de β A suscita polémica. Si bien estudios histológicos clásicos no han encontrado placas de β A u ovillos neurofibrilares en la retina de pacientes con EA (158,159), otros estudios más recientes afirman detectarlos (170,180,230).

INTRODUCCIÓN

Este apartado se centrará más en las controversias sobre la existencia de adelgazamiento retiniano o no. Los metaanálisis sobre RNFL peripapilar y grosor macular (231–234) no son concluyentes ya que se basan en series de pequeño tamaño y denotan, amén de resultados discrepantes, una importante heterogeneidad metodológica. Así, algunos estudios muestran un adelgazamiento marcado de RNFL que afecta a todos los cuadrantes peripapilares en DCL y demencia tipo EA (156,157,221,235), mientras que otros no (112,114,205,226,236).

Esta falta de consenso impide asentar un valor de grosor como punto de corte capaz de distinguir binariamente entre casos y controles, y por ende, calcular la utilidad diagnóstica del potencial biomarcador en términos de sensibilidad y especificidad (233).

Los estudios sobre adelgazamiento macular tampoco son concluyentes. En comparación con las personas cognitivamente sanas, la mayoría de los estudios reportan reducción del volumen y del grosor macular en el deterioro cognitivo tipo EA (DCL o demencia). Esta reducción afecta principalmente a los anillos interno y externo (158,205,237) estando más preservada la fovea (205,237). Los sujetos con demencia tipo EA muestran una reducción mayor en el grosor macular que aquellos con DCL.

Un estudio muestra resultados llamativos como que los DCL amnésicos tengan mayor volumen macular que los controles y los sujetos con demencia tipo Alzheimer (221) lo que se ha tratado de explicar invocando mecanismos como la gliosis o inflamación en la fase prodrómica de EA.

La segmentación en capas de la mácula revela atrofia de CGL y RNFL en EA que se asocia con gravedad de la enfermedad (222). Sin embargo, estudios recientes no evidencian el referido adelgazamiento macular (113,238,239).

Los meta-análisis que han integrado tales resultados opuestos concluyen que:

1. las diferencias en la RNFL peripapilar y el grosor macular son pequeñas lo que limita la aplicación clínica de estas medidas como biomarcador de EA.
2. cuando estas diferencias se comparan con las halladas por los

biomarcadores de RM (240–242), ampliamente utilizados, la estandarización de los de retina muestra una diferencia de grupo comparable a las puntuaciones de calificación visual como la de la atrofia del lóbulo temporal medial (1,1-1,79 DE).

En todo caso el valor diagnóstico de la OCT se ha de medir frente al patrón oro (*Golden standard*) actual, el basado en los criterios NIA-AA con el uso de biomarcadores (PET amiloide, LCR y / o PET-FDG) para determinar la sensibilidad y especificidad de la OCT (234).

Este trabajo trata de añadir nuevos datos para tratar de resolver las controversias sobre el papel diagnóstico en la EA del grosor retiniano peripapilar y macular, usando segmentación automática y evitando los puntos débiles de los que adolecen los estudios previos:

- 1) Bajo número de participantes: el número de pacientes es escaso en todos ellos, la gran mayoría cuenta con pocas decenas de sujetos. Por ejemplo en el estudio de mayor dimensión (187) la muestra es de 264 sujetos.
- 2) Escasa caracterización clínica: Los pacientes, en general, están pobremente estudiados tanto desde el punto de vista neuropsicológico y neurológico.
- 3) Diagnósticos no validados con biomarcadores de PET amiloide o punción lumbar. Durante la realización de esta tesis apareció el primer estudio de OCT con biomarcadores de amiloide (238).
- 4) Diseños de poca validez externa: los pacientes están hiperseleccionados, el oftalmólogo evaluador conoce el diagnóstico neurológico. Los diseños no son doble ciego ni la inclusión es prospectiva ni consecutiva.

3.5. Comorbilidad oftálmica en EA

Las alteraciones oftalmológicas son muy frecuentes en el deterioro cognitivo por EA (135). Se ha comprobado en estudios poblacionales grandes que existe mayor prevalencia de problemas visuales asociados a la edad si además existe demencia (243). Además esta tendencia se acentuará porque la EA aumentará en el futuro paralelamente a la esperanza de vida (244,245).

Pese a esta alta prevalencia de discapacidad visual en ancianos con demencia, se les diagnostica y trata con menos diligencia (246). Entre las razones que se

han propuesto están que el deterioro cognitivo lleva aparejado dificultades de comunicación, lo cual podría explicar que consultaran menos (247). Otra razón es el fenómeno de "eclipse diagnóstico" (248), esto es, la tendencia de los médicos a pasar por alto y no diagnosticar las comorbilidades médicas en pacientes con retraso mental, enfermedades psiquiátricas y demencia. Por último, los cuidadores tienden a adoptar una actitud menos invasiva y demandan menos atención médica y quirúrgica, y esto es tanto más cierto cuanto más avanzada sea la fase o si hay síntomas psicóticos (249).

Existen muchas lagunas todavía en la interacción de la EA con el glaucoma y con la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), principales causas de pérdida visual no evitable en relación a la edad en primer mundo. Ambas retinopatías comparten con la EA características histopatológicas, factores de riesgo comunes como la edad y una disminución crónica de la función visual (109,250–252).

3.5.1. Glaucoma y Alzheimer

El glaucoma, una de las principales causas mundiales de ceguera irreversible, es una neuropatía óptica progresiva asociada a elevación de la presión intraocular (PIO) y caracterizada por la pérdida de GC, un hecho que, como hemos visto, también parece ocurrir en la EA. Si bien parece que la muerte neuronal de las GC en el glaucoma sucede por apoptosis inducida, entre otras, por la alta PIO, sus mecanismos íntimos no se conocen bien (253–255). De hecho, la terapia de reducción farmacológica de PIO, sólo muestra una eficacia limitada y variable en la progresión del daño glaucomatoso (256,257).

Si bien un estudio (258) japonés reveló una alta prevalencia de glaucoma de ángulo abierto en pacientes con EA más que duplicaba la de los controles, otros lo ponen en duda (259). Un trabajo reciente de nuestro grupo, al ajustar por edad, género y años de educación, no detectó esa supuesta mayor prevalencia de glaucoma de ángulo abierto (ni de la DMAE) (247).

INTRODUCCIÓN

Varios estudios ya habían mostrado la asociación fisiopatológica y epidemiológica (260,261) tal que el daño retiniano en pacientes con EA acaba pareciéndose al de una neuropatía glaucomatosa. Al igual que en la EA, en el glaucoma también hay:

- Disminución del flujo sanguíneo parieto-temporal, el patrón de hipoperfusión típico de la EA que se asocia con mayor progresión del defecto campimétrico (262).
- Pérdida de neuronas y sus dendritas en las vías parvo, konio- y magno-celulares, asociada a la de fibras del nervio óptico (263,264), y al hipometabolismo en las capas de células M y P de la GCL.
- Neurodegeneración en los colículos o el córtex visual primario (en animales de experimentación con glaucoma) (265).
- Acúmulo de la proteína tau hiperfosforilada (en EA es intracerebral) en la capa nuclear interna y en las células horizontales (170,266).
- Disminución de niveles de A β 1-42 y aumento de tau en el gel vítreo -en la EA se observan en el LCR y refleja la evolución (267) de la enfermedad-, lo cual ha hecho sospechar que estos productos pudieran jugar un rol en la génesis de patología puramente retiniana (268).

Por otra parte, el depósito de β A en la GCL en modelos experimentales de glaucoma o la inyección de péptidos A β exógenos en el ojo (269) induce una apoptosis de esa capa in vivo. Dicha acumulación anormal de β A en las retinas con glaucoma se asocia con la activación de caspasa-3 y -8 y lleva a una anómala escisión de la APP en las GC. Este mecanismo produce péptidos neurotóxicos y, en última instancia, placas seniles en el cerebro con EA (270). La influencia del alelo épsilon 4 de ApoE, una proteína polimórfica implicada en el metabolismo y homeostasis lipídica en sangre y SNC y factor de riesgo bien establecido de EA (9,86), es sin embargo controvertida en el glaucoma: mientras hay estudios que lo consideran un factor de riesgo (271,272) otros no le atribuyen ningún efecto remarcable (273).

3.5.2. Degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y Alzheimer

La DMAE, una enfermedad caracterizada por la pérdida progresiva de la visión central en pacientes ancianos por disfunción y muerte de los fotorreceptores en la mácula, también se ha relacionado con la EA (109,252).

En la DMAE temprana aparecen drusas, unos depósitos extracelulares anormales, sobre la superficie basal del epitelio pigmentario de la retina (RPE). Se ha comprobado la presencia de β A en las drusas (172,180,181,274), producido por el RPE, una fuente abundante de ARNm de APP (179). Las drusas que contienen β A se colocan con componentes activados del complemento tanto a nivel del RPE (179,274) como en las placas seniles del cerebro. Tanto en el RPE como en el cerebro, el β A se baraja como activador de la cascada del complemento en episodios inflamatorios locales y en la formación de drusas, en la DMAE (274,275).

Tanto la DMAE como la EA comparten una herencia poligénica, cuyos componentes no se han aclarado suficientemente. Los portadores del alelo ϵ 4 de ApoE ϵ 4 en DMAE son menos frecuentes que sus controles etarios por lo que se ha conjeturado su rol como factor protector (276–278). Mientras, el alelo ϵ 2 está asociado con un mayor riesgo de DMAE (277,278). Este hecho contrasta con la EA donde el ϵ 4 es el factor de riesgo muy importante (7,9).

El papel de la neurotoxicidad mediada por β A en la muerte celular en la EA, el glaucoma y la DMAE ha llevado a probar las estrategias neuroprotectoras ensayadas ya en la EA (11,279) en las otras dos patologías. Por ejemplo, la terapia combinada con un inhibidor de la β -secretasa, un anticuerpo anti- β A y rojo Congo se ha probado útil para reducir la producción, la deposición, la agregación de β A y finalmente, la apoptosis de las GC tanto in vivo en el glaucoma humano (269) como en un modelo de DMAE en ratón (280).

3.5.3. Los problemas visuales como factor de riesgo de deterioro cognitivo

Los síntomas visuales en el deterioro cognitivo van desde confusión y caídas hasta dificultad para completar las actividades de la vida diaria. Esos déficits visuales junto con a las alucinaciones visuales empeoran la calidad de vida y autonomía de manera manifiesta (135). Además, a medida que evoluciona el deterioro cognitivo, los pacientes sufren anosognosia, esto es se vuelven menos capaces de describir y quejarse de su problema visual (281,282) y empeoran su agudeza visual (283–285).

La asociación de discapacidad visual y demencia en población de edad avanzada es nefasta pues conduce a una peor calidad de vida, mayor aislamiento (286), ansiedad (287) y tasa de mortalidad (288). Por eso, la optimización de la percepción sensorial es esencial para potenciar la autonomía dañada por el deterioro cognitivo.

En nuestra clínica, la agudeza visual (AV) empeoró en paralelo al deterioro cognitivo (247): los pacientes con demencia tenían 3.4 y 1.6 veces más probabilidades de presentar peor AV que los sanos cognitivos y los pacientes con DCL, respectivamente. También recibían menos prescripciones de lentes correctoras o tratamientos oftalmológicos, incluidas las faquectomías.

Hasta el 40% de estos pacientes con demencia tenían AV baja a pesar de usar gafas (247). Sin embargo, en nuestro medio no hay protocolos específicos de revisión oftalmológica en pacientes que residen en centros de día o residencias de crónicos y eso a pesar de que hay estudios que indican que hasta un tercio de los residentes de estos centros con demencia tipo EA no tienen sus necesidades visuales cubiertas ya sea porque pierden o dañan sus gafas o porque están infragraduados (282). Por eso, las revisiones oftalmológicas periódicas preventivas son básicas. Se trata de evaluar la AV, medir su presión intraocular (PIO), descartar patologías oculares comunes relacionadas con la edad (cataratas, glaucoma de ángulo abierto, DMAE y el síndrome del ojo seco), y ofrecer un tratamiento o graduación.

INTRODUCCIÓN

Aunque hay estudios muy recientes como el PrOVIDe en el Reino Unido (243) y en nuestro entorno (247) que han estudiado la prevalencia de discapacidad visual en demencia, en el momento de la creación de la cohorte NORFACE (289,290) que da sustento a este doctorado, ese tema apenas había contado con el interés del mundo científico.

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Uno de las mayores empresas en las unidades de memoria (UM) es identificar a los sujetos con riesgo de progresión clínica, esto es entre los sujetos con:

- a) DCL, a aquellos que convertirán a demencia tipo EA.
- b) Deterioro cognitivo subjetivo, a aquellos que evolucionarán a DCL de tipo neurodegenerativo.

El fin es ofrecerles terapias establecidas o experimentales amén de apoyo psicosocial al paciente y su entorno. Sin embargo, los test utilizados habitualmente son tardíos y tienen sensibilidad y especificidad subóptimas (baterías neuropsicológicas, biomarcadores de neuroimagen y de LCR).

HIPÓTESIS

1-Existe una reducción progresiva del grosor de la RNFL a nivel peripapilar, y, del volumen y grosor total de las distintas regiones ETDRS, de la RNFL y GCL a nivel macular, en los pacientes con EA que coincide con o incluso precede al deterioro cognitivo.

2-Dichos pacientes, a pesar de sus fallos de atención y de otros dominios, colaborarán y completarán la OCT con una calidad de imagen aceptable.

3-Dicha reducción es lo suficientemente grande como para poderse medir con la OCT de dominio espectral, con una buena fiabilidad.

4-Dicha reducción se correlaciona con el estadio cognitivo de manera tal que no existe en los sanos y es más marcada en la demencia tipo EA probable que en el DCL probable.

5-Dicha correlación es suficientemente fuerte como para que todas o algunas de estas medidas se comporten como biomarcadores diagnósticos de la EA prodrómica.

6-Dichos biomarcadores serán capaces de probar su validez cuando sean comparados con otros biomarcadores existentes para la EA como el PET de amiloide.

OBJETIVOS

PRINCIPALES

1. Comprobar la factibilidad de las OCT masivas en una UM con pacientes con distintos grados de deterioro cognitivo y etiologías. Para ello se creará:
 - a. Un estudio piloto para comprobar la reproducibilidad o correlación intraclase de la OCT de dominio espectral (Topcon 3D-OCT Maestro 1000) con mediciones de disco y mácula en 39 individuos sanos, el mismo día y hora, en semanas consecutivas.
 - b. NORFACE, la mayor cohorte mundial de pacientes con deterioro cognitivo en una UM.
 - c. Un algoritmo oftalmológico completo con medición de PIO y realización de OCT por un optometrista integrado en las visitas de la UM.
2. Comprobar la utilidad de la OCT como biomarcador diagnóstico en el deterioro cognitivo debido a EA en un diseño longitudinal, doble ciego, con un tamaño muestral adecuado, con inclusión prospectiva consecutiva.

SECUNDARIOS

- 1) Evaluar la importancia de los factores confusores de patología cognitiva (edad, sexo, escolaridad, calidad de imagen) en el uso del grosor retiniano como biomarcador de EA.
- 2) Conocer las patologías oftalmológicas más frecuentes en una UM.
- 3) Realizar un meta-análisis para conocer cómo impactan nuestros resultados sobre el estado actual de la cuestión.
- 4) Comprobar si la capacidad de los potenciales biomarcadores retinianos basados en OCT se verifica en una pequeña muestra con diagnóstico basado en biomarcadores de PET de amiloide.
- 5) Explorar estadísticamente si las variables retinianas, obtenidas mediante OCT, aisladas o combinadas entre si en factores, pueden discernir fenotipos cognitivos.

5. MÉTODOS

Esta tesis consta de tres estudios clínicos prospectivos y uno retrospectivo. Además incluye un meta-análisis y dos análisis estadísticos (factorial y de conglomerados)

-Estudio A: evaluación de fiabilidad de la OCT en las variables testadas en el estudio B y C. Participan 39 sujetos cognitivamente sanos.

-Estudio B: evaluación del potencial diagnóstico de las variables de disco óptico, medidas con OCT-SD, en la cohorte NORFACE (3930 sujetos) en deterioro cognitivo tipo EA.

-Estudio C: evaluación del potencial diagnóstico de las variables de mácula, medidas con OCT-SD, en la cohorte NORFACE (3930 sujetos) en deterioro cognitivo tipo EA.

Los estudios prospectivos B y C de esta tesis doctoral están publicados (289,290) y cuentan con el mismo número de participantes (930 sujetos) divididos en tres grupos (sanos cognitivos, DCL probable y EA probable), diagnosticados con criterios clínicos habituales.

-Estudio D: retrospectivo sobre las variables de disco y maculares con OCT-SD en grupos cognitivos diagnosticados esta vez con criterios basados en biomarcadores con PET de amiloide para DCL debido a EA (27) y para demencia EA probable con alto nivel de certeza (69). Los grupos diagnósticos serán los mismos que en los estudios B y C pero la N diferente (99 sanos cognitivos, 21 sujetos con DCL probable y 9 con demencia EA probable)

-Estudio E: **meta-análisis** con las variables del estudio B.

-Estudio F: **análisis factorial** y **análisis de conglomerados** con las variables del estudio B y C (930 sujetos).

La metodología y protocolos neurooftalmológicos son comunes a todos los estudios.

5.1. ESTUDIO A. Estudio piloto de fiabilidad

Los sujetos del estudio A eran 39 personas cognitivamente sanas, entre 21 y 72 años, trabajadores de la propia Unidad de Memoria (UM), sin patología retiniana conocida ni tratamiento oftalmológico. No recibieron seguimiento neurológico ni oftalmológico a posteriori.

Esos 39 participantes repitieron los protocolos de OCT de disco y mácula el mismo día y hora en la semana siguiente en septiembre de 2015, para poder calcular el índice de correlación de la técnica OCT-SD en condiciones óptimas de repetibilidad.

El coeficiente de correlación intraclase (CIC) es un estadístico descriptivo utilizado para describir la fuerza de la asociación o parecido entre mediciones cuantitativas en unidades organizadas en grupos (291). Se ha sugerido que los valores de $CIC < 0.5$ se deben interpretar como baja fiabilidad, entre 0.5 y 0.75 como fiabilidad moderada, entre 0.75 y 0.9 buena fiabilidad y valores > 0.90 indican excelente fiabilidad.

Este parámetro puede ponderar la fiabilidad:

- i) Entre varios evaluadores que miden el mismo grupo de sujetos
- ii) Test-retest que refleja la variación en las medidas tomadas por un instrumento sobre el mismo sujeto en las mismas condiciones.
- iii) Intraevaluador que indica la variación de los datos medidos por un evaluador en dos o más ensayos.

Se utilizó siempre al mismo evaluador (optometrista) para hallar la fiabilidad test-retest en el mismo sujeto en dos momentos dados por el mismo aparato y explorador. La CIC se calculó con el paquete estadístico IBM SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL).

En el estudio B, las variables estaban en el rango de buena fiabilidad y en el estudio C, en el de excelente fiabilidad. Por protocolo, a todos los sujetos participantes se les realizó la OCT en ambos ojos. Sin embargo, como la CIC era sistemáticamente ligeramente mayor en el ojo derecho, se decidió analizar para los estudios B, C y D los valores de las variables del ojo derecho.

5.2. ESTUDIOS B y C. Estudios principales prospectivos

Los participantes en los estudios B, C realizaron los protocolos clínicos de la UM. Las primeras visitas se llevaron a cabo en busca de diagnóstico. Después han recibido seguimiento neurológico anual y oftalmológico.

Los sujetos acudieron a la UM por quejas cognitivas variadas formuladas por ellos mismos o por observadores en el contexto asistencial del *Servèi Català de Salut*, esto es derivados por médicos de atención primaria. Otra fuente menor fueron sujetos que acudieron voluntariamente para realizar un screening cognitivo abierto a la población general en el contexto de una iniciativa benéfica de responsabilidad social corporativa llamada JPO (*Jornades de Portes Obertes*) (79). En función del resultado de este cribaje, se les ha seguido en la UM (si había déficit cognitivo evidenciable con los test de cribado) o se les ha ofrecido participar en FACEHBI, una cohorte de sujetos cognitivamente sanos con quejas subjetivas de memoria (292). FACEHBI, *Fundació ACE Healthy Brain Initiative* (224,293–295) se ha instaurado para investigar biomarcadores clínicos, neuropsicológicos, genéticos y de neuroimagen en personas sanas. A todos los sujetos de dicha cohorte se les realiza seguimientos bianuales donde se les estudia concienzudamente con baterías neuropsicológicas, analíticas y pruebas de neuroimagen convencional y nuclear -incluye un PET florbetaben (FBB)-. Además se les administra el mismo protocolo oftalmológico NORFACE que se describe a continuación.

Algunos de estos pacientes con DCL o demencia tipo EA han participado en ensayos clínicos en los que se han realizado un PET de amiloide para conocer su status amiloide como criterio de inclusión. Con esta subpoblación de pacientes en ensayos clínicos o voluntarios sanos en FACEHBI, convenientemente anonimizados, se ha realizado el estudio D, de corte retrospectivo.

La cohorte NORFACE: NORFACE (*Neuro-Ophthalmology Research at Fundació ACE*) se creó a finales de 2014 en la Fundación ACE Barcelona (España) (296) para explorar biomarcadores retinianos en el contexto de deterioro cognitivo y examinar las intrincadas relaciones entre la fisiopatología retiniana y las patologías demenciantes como la EA, DFT, DLB, DV, la enfermedad de Parkinson, entre otras. En esta tesis nos centramos exclusivamente en la EA. Los sujetos del estudio B y C son el producto del reclutamiento durante 18 meses, entre enero de 2015 y junio de 2016, ambos inclusive.

Se caracteriza por un:

- (a) Reclutamiento prospectivo y consecutivo en una UM
- (b) Extenso examen neurológico, neuropsicológico y socio-funcional
- (c) Cribado neuro-oftalmológico completo que incluye una exploración OCT con OCT de dominio espectral (OCT-SD) con un modelo Topcon Maestro 3D OCT-1000 (Tokio, Japón)
- (d) Diagnóstico clínico por consenso realizado por un equipo multidisciplinario compuesto por neuropsicólogos, neurólogos, geriatras y trabajadores sociales
- (e) Seguimiento clínico, neuropsicológico y neurooftalmológico periódico longitudinal en dicha UM.

Fundació ACE. Institut Català de Neurociències Aplicades: es una fundación privada, declarada "fundación benéfica de tipo asistencial" y registrada por la Generalitat de Cataluña con fecha 31 de marzo de 1995. Está situada en Barcelona, España. Ha desarrollado un enfoque multidisciplinario para diagnosticar y atender a pacientes con enfermedades neurodegenerativas (296), basado en exámenes neuropsicológicos y médicos estandarizados (64,65) como se verá a continuación.

Evaluación neurológica: los pacientes son remitidos a la Unidad de Memoria de la Fundación ACE (FACE-MU) por médicos de atención primaria o especialistas médicos del Sistema Catalán de Salud. En la UM, los pacientes se

someten a un examen cognitivo y psicológico, incluido el test MMSE (*Mini-Mental State Examination*) (61,297), el test de cribado “7 minutos” (298), la versión en español del cuestionario de inventario neuropsiquiátrico (NPI- Q) (299), el GDS (46), la puntuación de clasificación de demencia clínica (CDR) (47), la escala de demencia Blessed (300), la escala de ansiedad y depresión hospitalaria (HAD) (301) y la escala de Hachinski (302) que estima el riesgo de deterioro cognitivo de origen isquémico (303).

Posteriormente, se administra una batería neuropsicológica integral llamada NBACE que cuenta con datos normativos de edad, educación y sexo como se describe seguidamente (64,65).

Batería NBACE: contiene diecinueve pruebas que cuantifican la atención, la orientación, la velocidad de procesamiento de la información, las gnosias el lenguaje, capacidad de aprendizaje verbal y memoria verbal a largo plazo, praxias, funciones visuoespaciales y ejecutivas. Incluye los siguientes test: Dígitos Directos e Inversos; Orientación Temporal, Espacial y Personal; la Lista de Palabras de la prueba de Aprendizaje de la WMS-III; Cubos y Semejanzas abreviado de la Escala de Inteligencia de la Wechsler para Adultos-Tercera Edición (WAIS-III); la versión española del Test del Reloj; Repetición de palabras y frases; el test de Poppelreuter; los Relojes de Luria; Comprensión verbal (ejecución de 2 órdenes simples, 2 semi-complejas y 2 complejas, extraídas de la *Alzheimer’s Disease Assessment Scale-Cognitive* (ADAS-Cog); la batería de pruebas del Test Barcelona; Test de Denominación de Boston, versión abreviada de 15 ítems; el Test de los 15-Objetos; el subtest de Inhibición de respuestas automáticas del *Síndrome Kurtz test* (SKT); Fluidez verbal fonética; Fluidez verbal semántica.

Pruebas complementarias: Los análisis de sangre permiten despistar causas tratables de demencia e incluyen serología de sífilis, función hepática, renal y tiroidea, perfil de colesterol y niveles séricos de vitamina B12 y folato.

La atrofia cerebral, medida en el lóbulo temporal medial (LTM) se evalúa

mediante resonancia magnética estructural o/y TC craneal y permite mejorar la precisión diagnóstica (304). Esta medición de LTM se considera un biomarcador de neuroimagen para EA aceptado universalmente (69).

Para algunas personas seleccionadas, los datos de biomarcadores de amiloide en PET o LCR también están disponibles (102,107,305,306). Después del examen clínico realizado por el neurólogo y neuropsicólogo, se llega a un diagnóstico de consenso por un equipo multidisciplinar compuesto por los dos anteriores más el resto de neurólogos, geriatras, neuropsicólogos y trabajadores sociales de la UM, reunidos en sesión clínica.

Desde enero de 2015, tras la firma de un consentimiento informado por el paciente o su tutor legal, todos los pacientes nuevos y de seguimiento que asisten a la FACE-MU y pueden colaborar y comprender instrucciones básicas, se someten a una historia completa y examen neurooftalmológico siempre por el mismo optometrista, antes de llegar al diagnóstico clínico definitivo. Esa visita con el optometrista dura entre 20 minutos y se inserta en la rutina de la FACE-MU.

Evaluación oftalmológica: La evaluación incluye:

- (i) anamnesis con recogida de antecedentes oftalmológicos como cirugías oculares, instilación de colirios, antecedentes de ambliopía, etcétera;
- (ii) la evaluación en ambos ojos por separado de la mejor agudeza visual (AV) corregida por refractometría subjetiva utilizando una lámina ETDRS (*Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study*) (307,308) a través de un agujero estenoico y las lentes correctoras que usase el paciente habitualmente;
- (iii) una medición de presión intraocular (PIO) ejecutada por tonometría Icare (309);
- (iv) un examen con lámpara de hendidura realizado a discreción del optometrista cuando estima que la biomicroscopía / oftalmoscopia sería útil en función de la historia clínica, AV o de cualquier otro hallazgo inesperado observado en las imágenes de OCT;
- (v) un examen OCT de dominio espectral (310).

La PIO alta se definió como ≥ 24 mm Hg usando la tonometría descrita (309).

El optometrista y el neurólogo desconocen los resultados de la evaluación del otro, de manera tal que el optometrista ignora el grado de deterioro cognitivo y su etiología posible y el neurólogo los datos de la medición retiniana.

Tomografía de coherencia óptica: Los pacientes fueron fotografiados con un software 3D-OCT-1000 Maestro®, Fast Map versión 8.40 (Topcon Co. Tokio, Japón) para evaluar las regiones de disco óptico y macular. El aparato es utilizado frecuentemente para estudios de oftalmología (311) y neurooftalmología (312,313), con resultados comparables con los de otros proveedores (211). El examen duró entre 5 y 10 minutos. Es importante destacar que no se requirió dilatación de la pupila gracias al modo Bscan de alta resolución que también permite obtener también imágenes confocales CScan a través del software EnFace. La captura de OCT se combina con una imagen de fondo de ojo en color real obtenida a través de una cámara interna.

La segmentación de las capas de retina es una práctica habitual en neurooftalmología y es esencial cuando se pretende analizar miles de imágenes o realizar un estudio ecológico en disciplinas ajenas a la oftalmología. Aunque es más precisa la corrección manual, esto es, imagen por imagen, por un oftalmólogo capaz de detectar errores puntuales en las delimitaciones intercapa, cada vez la precisión de la segmentación automática es mayor. Además, la segmentación automática tiene mejor repetibilidad que la manual cuando se trata de comparar mediciones separadas en el tiempo (314).

En nuestro estudio, la segmentación se llevó a cabo utilizando el algoritmo TABS (Topcon Advanced Boundary Segmentation™) (313,315) como parte del software Fast Map. El algoritmo TABS proporciona mediciones precisas y consistentes en imágenes de retina, demostrando una buena reproducibilidad y exactitud. También proporciona delineación de múltiples capas como la membrana limitante interna (ILM), la capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL), la capa de células ganglionares (GCL), la capa plexiforme interna (IPL), la capa nuclear interna (INL), el epitelio pigmentario de la retiniana

(RPE) y la membrana de Bruch (BM). TABS generó automáticamente la RNFL (de ILM a RNFL / GCL), GCL + (de RNFL / GCL a IPL / GCL) y el grosor total de la retina (de ILM a RPE).

Variables retinianas estudiadas: para el estudio B, los parámetros de RNFL evaluados en este estudio fueron el grosor total promedio o promedio (medición de 360°), el grosor del cuadrante temporal (316–45°), del cuadrante superior (46–135°), del nasal (136–225°) y del inferior (226–315°).

Para este estudio, los datos de OCT solo se analizaron de un único ojo (el derecho) en todos los pacientes porque, como ya se ha explicado, el estudio previo de fiabilidad con voluntarios sanos demostró índices de correlación algo mayores en el ojo derecho.

Para el estudio C, los datos de grosor macular también se mostraron en tres anillos concéntricos del mapa ETDRS centrados en la foveola (figura 8). Estos estaban situados así: un anillo macular central, a 1 mm de la fovea; un anillo macular interno, a 3 mm de la fovea; y un anillo macular externo, a 6 mm de la fovea. Los anillos interno y externo estaban compuestos por cuatro cuadrantes (superior, inferior, nasal y temporal). Los datos maculares se obtuvieron para toda la neurorretina y, segmentados automáticamente, para la RNFL y CGL. También se calculó el volumen macular.

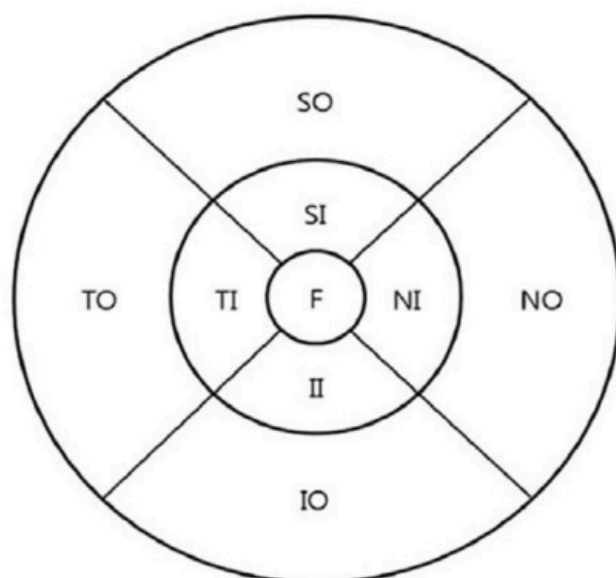


Figura 8. Áreas ETDRS T: Temporal; I: Inferior; S: Superior; N: nasal; F: Foveola.

Antes de comenzar el estudio, con el objetivo de diferenciar las imágenes normales de los hallazgos anormales, el oftalmólogo experto en retina había entrenado al optometrista en la evaluación de imágenes OCT. El oftalmólogo revisó el historial oftalmológico, los hallazgos del examen ocular y las imágenes de OCT de aquellos casos que el optometrista consideró anormales o de dudoso diagnóstico. En algún caso se diagnosticaron oftalmopatías desconocidas para los sujetos participantes (247).

El diagnóstico de glaucoma se estableció presuntivamente si había: hallazgos glaucomatosos en la imagen de la cabeza del nervio óptico (ONH), la PIO era > 24 mm Hg, tomaba colirios para el glaucoma o había tenido una cirugía antiglaucoma. No se dispone de imágenes OCT de cámara anterior.

Criterios de elegibilidad: Los pacientes se incluyeron en el estudio si tenían entre 50 y 95 años de edad al llegar a FACE-UM y cumplían con los criterios de diagnóstico de control, DCL o EA descritos a continuación.

El grupo de control se definió por:

- (a) Ausencia de síntomas significativos (CDR = 0 y GDS=1 o 2) y
- (b) un rendimiento normal para su edad, sexo y educación según en la batería NBACE (64,65).

El grupo DCL se definió por:

- (a) cumplir con los criterios de Petersen para MCI amnésico (48) y
- (b) ausencia de signos significativos de enfermedad cerebrovascular en la prueba de neuroimagen o en la escala de Hachinski (302) o de enfermedad psiquiátrica, entendida esta como historia previa o predominante de síntomas de depresión o/y ansiedad. El último criterio se aplicó como se describe en publicaciones anteriores (41,55) para aumentar la probabilidad de que los DCL se debieran a una etiología Alzheimer.

Todos los sujetos en el grupo de AD cumplieron con los criterios de NINCDS-ADRDA (*National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*) para EA probable (66).

Es importante recalcar que los criterios de inclusión elegidos requieren la ausencia de otras enfermedades que justifiquen síntomas similares, lo que resulta en una cohorte de estudio con alta probabilidad de etiología de AD "pura". En otras palabras, los pacientes con DCL o demencia y signos de etiologías no AD fueron excluidos para evitar efectos de confusión en el análisis o interpretación de la relación entre el grosor retiniano y los grupos clínicos del espectro AD. Y se actuó así incluso si se pensaba que la EA también estaba presente, como en los casos de DCL o demencia de etiología mixta (57).

La medicación para la EA no fue un criterio de inclusión o exclusión porque se pretendía crear un estudio ecológico, con el mayor número de situaciones clínicas posibles. Tampoco lo fue la presencia de comorbilidad metabólica como dislipemia, hipertensión arterial (HTA) o diabetes mellitus (DM). Sin embargo, si la HTA y la DM producían una maculopatía hipertensiva o diabética, respectivamente, sí que eran excluidos, como veremos a renglón seguido.

A nivel oftalmológico, los pacientes fueron excluidos si:

- i. no podían permanecer quietos durante unos pocos minutos o/y entender órdenes simples para colaborar en la evaluación neurooftalmológica, hecho que ocurrió sólo de manera habitual en los casos que presentaban una demencia avanzada ($GDS > 5$),
- ii. solo se obtuvieron datos del ojo izquierdo (por mala calidad de OCT o ambliopía o amaurosis en el derecho, por ejemplo) o
- iii. existían artefactos o enfermedades que pudieran afectar la calidad de la medida tales como glaucoma, maculopatías, neuropatías ópticas, cirugía retiniana previa, presión intraocular ≥ 24 mmHg, miopía alta (> -6 Dp) o hipermetropía ($> + 6$ Dp) o anomalías congénitas del nervio óptico. Esta exclusión se hizo a posteriori, es decir se les llegó a realizar la OCT incluso si tenían estos antecedentes por anamnesis. En otras ocasiones fue la medición de PIO o la imagen OCT la que permitió el diagnóstico de estas patologías excluyentes.

En general, estos pacientes excluidos tienen una intensidad de señal OCT baja, pero este parámetro no era un criterio de exclusión en sí mismo. Dado que está comprobado que la calidad de imagen es uno de los factores (316–318) que influye en la reproducibilidad de la medición de la OCT longitudinalmente, por segmentación automática, se fue muy estricto en la depuración de toda patología retiniana concurrente.

Consideraciones éticas: Este estudio y su consentimiento informado fueron aprobados por los comités de ética tanto del Hospital Clínic i Provincial como del Hospital Vall D'Hebron, (Barcelona, España) de conformidad con las leyes biomédicas españolas (Ley 14/2007, 3 de julio, sobre investigación biomédica; Real Decreto 1716/2011, 18 de noviembre) y siguió las recomendaciones de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado. Para aquellos con etapas de demencia moderada, el consentimiento informado fue firmado por su representante legal o un miembro de la familia.

Análisis estadístico: Los análisis estadísticos se realizaron con IBM SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL) y de acuerdo con las directrices APOSTEL (319) sobre la forma de informar los resultados de investigación con OCT. Todos los datos fueron analizados para hallar su normalidad, sesgo y rango. Todas las variables cuantitativas se distribuyeron normalmente. Los resultados se presentan como media \pm DE para variables cuantitativas, rango y número y porcentaje para variables categóricas.

Se utilizaron la prueba de Chi-cuadrado para variables cualitativas (género) y la prueba t de Student paramétrica para variables cuantitativas y así comparar las características demográficas, los diagnósticos clínicos y las mediciones de OCT. El análisis primario del estudio, que evaluó las diferencias en las variables retinianas (variables de disco y mácula) entre subgrupos ajustados por edad, educación, género y calidad de imagen de la OCT; se probó con un análisis de covarianza (ANCOVA), para todas las variables de OCT estudiadas, como factores dependientes y grupos clínicos como factores

independientes (tres categorías). El parámetro Eta^2 se calculó para cada factor del modelo, para obtener la varianza explicada de todos los predictores. Se consideró un efecto significativo cuando la p era inferior a 0.05. Cuando una variable resultó estadísticamente significativa, se realizó la corrección por comparaciones múltiples post-hoc.

ESTUDIO D. Retrospectivo con biomarcadores de PET de amiloide

Grupo de controles

Todos los controles (GDS=2, CDR=0) del estudio pertenecen a FACEBHI, una cohorte de adultos cognitivamente sanos con deterioro cognitivo subjetivo (20,293) a la que periódicamente se somete a pruebas de neuroimagen, se les extraen muestras séricas y genéticas y pasan baterías neuropsicológicas extensas en busca de biomarcadores de conversión a DCL debido a EA.

La tomografía de emisión de positrones se realiza en los siguientes 90 días a la exploración clínica con el trazador florbetaben (FBB-PET). Previamente a cada exploración FBB-PET, se obtuvo también una RM en un Siemens © Magnetom Aera (Erlangen, Alemania) en Clínica Corachán, Barcelona. Tanto los datos de FBB como los de RM craneal se registraron conjuntamente con el paquete de software FSL 5.0 y FreeSurfer.

Las exploraciones FBB-PET se adquirieron en una máquina de TC molecular Siemens © Biograph en el Servicio de Radiología del Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. Se obtuvieron cuatro exploraciones de 5 min cada una 90 minutos después de la inyección de 300 MBq de [F18] -FBB (Neuraceq ©), administrado como un único bolo intravenoso lento (6 s / ml, volumen total 10ml).

Se seleccionó un valor de corte de SUVR cortical global = 1,35 para clasificar a los sujetos en estado PET +/- según el mismo protocolo seguido en otros papers de nuestro grupo (224). Como la distribución de la captación de amiloide cerebral entre los participantes del estudio no se distribuyó normalmente, las cuantificaciones de SUVR globales se transformaron logarítmicamente antes de su uso en los análisis.

Grupo de casos (demencia y DCL)

A los pacientes con DCL probable (GDS=3, CDR=0,5) y demencia tipo EA probable leve (GDS=4, CDR=1) diagnosticados por criterios clínicos en la UM, se les ofrece la posibilidad de participar en ensayos clínicos con fármacos de experimentación contra la EA (320,321). La mayoría de ensayos clínicos requieren que los pacientes no tengan insuficiencia de otros órganos o sistemas ni tomen medicación anticoagulante y psicotrópica como ansiolíticos o antidepresivos a dosis altas.

Dichos pacientes han calificado para ensayos clínicos en fase III donde se testan o bien inhibidores de la enzima beta-secretasa BACE (*beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1*) (322) o bien anticuerpos monoclonales antiamiloides beta (323).

Previamente a su participación en estos ensayos y como criterio de inclusión, los candidatos se someten a una prueba para conocer su estado amiloide. Puede ser una punción lumbar o, lo que atañe a nuestro estudio, un PET de amiloide, cuya positividad es condición necesaria antes de ser aleatorizados. Al ser un protocolo confidencial de la industria farmacéutica que promueve dicho ensayo, la Fundación ACE no dispone de los detalles últimos del protocolo de adquisición y análisis de imagen nuclear que finalmente conduce a determinar como positivo o negativo al candidato. Sin embargo, sí que dispone de una base de datos anonimizada en la cual aparecen los datos demográficos de edad y sexo así como la condición dual positivo/negativo para el PET de amiloide. Esa base de datos es la que se ha cruzado con la de NORFACE de manera tal que se ha creado otra nueva base donde aparece el status amiloide del PET (positivo/negativo) con los grosores retinianos obtenidos en la OCT (en micras) y la información demográfica de edad y sexo. Tanto la OCT como el PET de amiloide se realizan antes de iniciar el tratamiento experimental. Los pacientes se han agrupado por edad y sexo de manera tal que para estos confusores no hubiera diferencias estadísticamente significativas en los fenotipos cognitivos. Los pacientes con DCL probable se sometieron un PET de flutemetamol y aquellos con demencia tipo EA probable, de florbetapir.

5.4. ESTUDIO E. Meta-análisis

Se utilizaron técnicas de meta-análisis para estimar el efecto predictor del adelgazamiento de la RNFL peripapilar en el riesgo de desarrollar deterioro cognitivo, ya sea en forma de DCL probable o de demencia probable tipo EA. Para ello, en marzo de 2017, nuestro grupo realizó un meta-análisis tomando como base una revisión sistemática (figura 9) publicada en 2015 en *Alzheimer's & Dementia* (233), y que, en nuestra opinión, era el más riguroso desde un punto de vista técnico entre los entonces publicados (231–233). Agregamos los datos de la serie NORFACE en el meta-análisis. Posteriormente han aparecido otros meta-análisis que también han abordado otros parámetros retinianos como el adelgazamiento macular (238,324) en la predicción de EA.

AD vs. normal controls: overall RNFL thickness

Study	OCT type	One or both eyes	Number of subjects (eyes)		Mean age ± SD (yrs)		Overall mean RNFL thickness ± SD (µm)	
			AD	Controls	AD	Controls	AD	Controls
Ascaso et al. [9]	TD	Both	18 (36)	41 (82)	AD and MCI: 72.1 ± 8.7	72.9 ± 7.9	64.96 ± 16.71***	103.1 ± 8.04
Berisha et al. [14]	TD	One	9 (9)	8 (8)	74.3 ± 3.3	74.3 ± 5.8	85.5 ± 7.4	93.8 ± 10.4
Chi et al. [19]	TD	One	12 (12)	17 (17)	75.39 ± 7.30	75.29 ± 5.84	93.18 ± 11.36	99.44 ± 8.88
Garcia-Martin et al. [15]	SD	One	20 (20)	28 (28)	79.3 ± 4.1	72.1 ± 5.1	88.6 ± 20.5	89.2 ± 20.9
Gharbiya et al. [20]	SD	Both	21 (42)	21 (42)	73.1 ± 6.9	70.3 ± 7.3	96.8 ± 6.9	95.9 ± 8.5
Günes et al. [5]	SD	One	40 (40)	40 (40)	75.02 ± 6.34	74.15 ± 5.76	84.0 ± 7.0***	107.1 ± 6.3
Iseri et al. [12]	TD	Both	14 (28)	15 (30)	70.16 ± 9.7	65.1 ± 9.8	87.46 ± 23.78***	113.16 ± 6.72
Kang et al. [8]	SD	Both	8 (16)	8 (16)	71.5	67.4	80.44 ± 16.73*	92.50 ± 9.8
Kesler et al. [10]	TD	Mix	30 (52)	24 (38)	73.7 ± 9.9	70.9 ± 9.2	84.7 ± 10.6*	94.3 ± 11.3
Kirbas et al. [7]	SD	Both	40 (80)	40 (80)	69.3 ± 4.9	68.9 ± 5.1	65.0 ± 6.2***	75.0 ± 3.8
Kromer et al. [21]	SD	Mix	22 (42)	22 (42)	75.9 ± 6.1	64.0 ± 8.2	105 ± 17.0	101.8 ± 10.7
Larrosa et al. [22]	SD	One	151 (151)	61 (61)	75.29	74.87	97.55 ± 14.12	100.55 ± 12.99
Moreno-Ramos et al. [23]	SD	Both	10 (20)	10 (20)	73.0 ± 6.5	70.2 ± 5.5	94.5 ± 2.2***	108.0 ± 2.2
Paquet et al. [11]	TD	Both	26 (52)	15 (30)	78.5 ± 4.91	75.5 ± 5.1	83.4 ± 7.19**	102.2 ± 1.8
Parisi et al. [13]	TD	One	17 (17)	14 (14)	70.37 ± 6.1	Age-matched	59.5 ± 16.7**	99.9 ± 8.95
Polo et al. [6]	SD	One	75 (75)	75 (75)	74.15 ± 9.15	73.98 ± 9.05	97.40 ± 11.2	99.21 ± 9.9
Zhu et al. [24]	SD	NR	10 (NR)	167 (NR)	79.6 ± 8.6	75.5 ± 7.7	90.7 ± 15.8***	96.7 ± 9.6

Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; RNFL, retinal nerve fiber layer; OCT, optical coherence tomography; SD, standard deviation; TD, time-domain; SD, spectral domain; NR, not reported.

NOTE. One or both eyes or a mix of one and both eyes used per subject in the evaluation of mean RNFL thickness. Number of subjects (number of eyes in brackets).

P* < 0.05, *P* < 0.01, ****P* < 0.001.

Figura 9. Datos demográficos del meta-análisis de Thomson (233).

Método: La revisión sistemática con el meta-análisis referenciado (243) buscó en línea estudios originales de utilidad diagnóstica del grosor de RNFL peripapilar medida por OCT en EA diagnosticada con criterios NINCDS-ADRDA (66) en los que se compararan casos con controles, ajustados al menos por edad y sexo, con un tamaño muestral de al menos 10 sujetos.

MÉTODOS

Se eliminaron los artículos irrelevantes o duplicados antes de evaluar la elegibilidad de los restantes mediante una revisión de texto completo basándose el método QUADAS de evaluación de la calidad de estudios incluibles en meta-análisis de precisión diagnóstica (325). Finalmente se extrajeron los datos originales de los estudios (medias, desviaciones estándar, tamaños de la muestra) y, cuando fue necesario, se calcularon los datos que no estaban disponibles.

Se utilizó el programa RevMan 5.3 para el meta-análisis calculando las estimaciones según intervalos de confianza (IC) del 95%. Se usaron las medias, las desviaciones estándar y los tamaños de muestra extraídos de los estudios para calcular la diferencia de medias ponderada (DMP) mediante el modelo de efectos aleatorios de varianzas inversas. La $p < 0,05$ se consideró significativa y se evaluó la heterogeneidad con la prueba de Higgins I^2 , tal que un valor de I^2 de más del 50% implicaba heterogeneidad significativa.

Finalmente se identificaron un total de 17 estudios que incluían 702 ojos AD y 790 ojos de control, los cuales mostraban una reducción significativa en el grosor medio de la CFNR en los pacientes con EA en comparación con los controles y una heterogeneidad muy elevada de $I^2=96\%$ (figura 10)

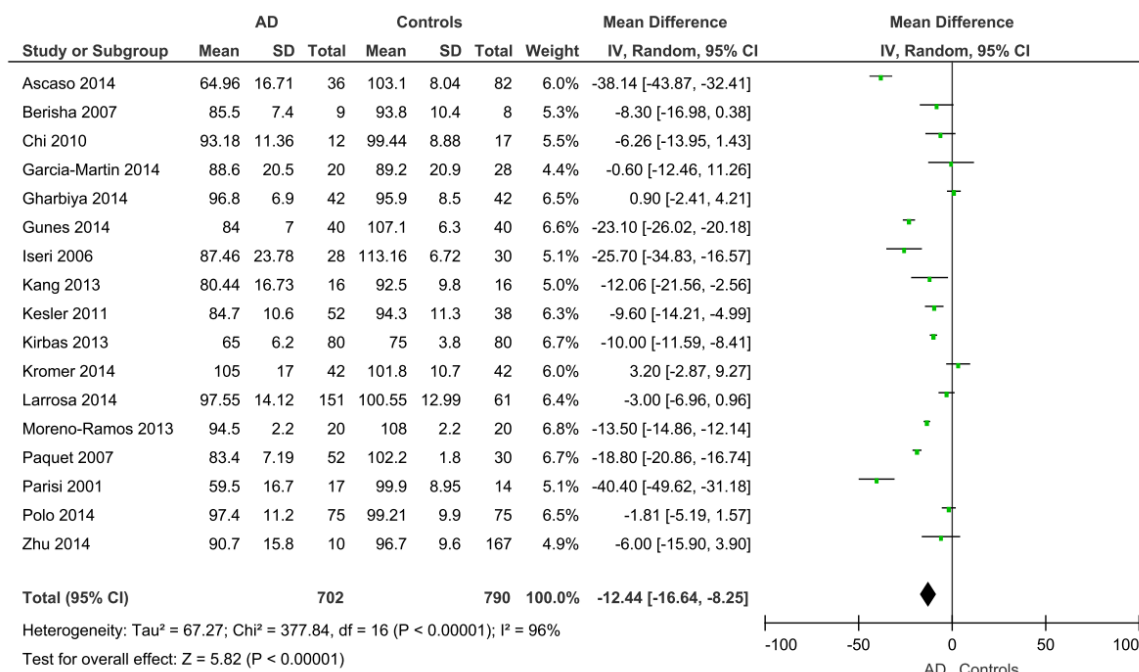


Figura 10. Meta-análisis de Thomson para grosor de RNFL en DCL y EA(233).

A esos 17 añadimos nuestro estudio, realizado con tecnología SD-OCT el cual aportó 414 al grupo control y 324 al grupo demencia y sólo consideró un ojo (el derecho) en todos los sujetos (tabla 4) Se volvieron a calcular los parámetros del meta-análisis con RevMan 5.3.

Tabla 4: Meta-análisis incluyendo datos de NORFACE

Estudio	Grupos clínicos	Ajuste
Ascaso 2014 (221)	EA, DCL, Controles	Edad, sexo (por MMSE en un modelo)
Berisha 2007 (185)	EA y controles	No descrito
Chi 2010 PMID:20388347	EA y controles	No discernible (chino)
García-Martín 2014 (226)	EA y controles	No descrito
Gharbiya 2014 (112)	EA y controles	No descrito
Günes 2014 PMID: 26738353	EA y controles	Sin ajuste
Iseri 2006 (326)	EA y controles	Sin ajuste
Kang 2013 Kang BH, Kim JI. Decreased retinal thickness in patients with Alz-heimer's disease. J Korean Neurol Assoc 2013;31:173-7	EA y controles	No discernible (coreano)
Kesler 2011 (235)	EA, DCL y controles	Edad en la regresión
Kirbas 2013 (327)	EA y controles	No descrito
Kromer 2014 (236)	EA y controles	No descrito
Larrosa 2014 (237)	EA y controles	No descrito
Moreno-Ramos 2013 (161)	EA y controles	No descrito
Paquet 2007 (156)	EA, DCL y controles (DCL vs controles no comparados por cuadrantes)	No descrito
Parisi 2001 (220)	EA y controles	No descrito
Polo 2014 (205)	EA y controles	No descrito
Sánchez 2018 (289)	EA, DCL y controles	Edad, sexo, educación, calidad de imagen
Zhu 2014 Zhu LP, Ren XL, Wang YX, Xu L, Zhang XJ. Retinal nerve fiber layer thickness in the patients with mild cognitive impairment or Alz-heimer's disease. Ophthalmol CHN2014;23:231-4.	EA, DCL y controles	No discernible (chino)

No se optó por un modelo de análisis por efectos fijos que asigna mayor peso a los estudios más grandes y da un intervalo de confianza más estrecho porque en la revisión sistemática realizada la heterogeneidad era muy alta ($I^2 > 75\%$).

Según la Cochrane, valores de I^2 cercanos a 0 indica no heterogeneidad, valores de $I^2 < 40\%$ tienen heterogeneidad baja; los de $I^2 = 30-60\%$, heterogeneidad moderada; entre 50-90% heterogeneidad significativa; entre 75-100% implica heterogeneidad muy alta. $I^2 = 100\%$ es la heterogeneidad máxima. Esta I^2 obedecía a múltiples razones (tipo de diseño prospectivos o retrospectivos, varias marcas distintas de OCT (Zeiss, Heidelberg, Topcon,...) con tecnologías diferentes (SD-OCT, TD-OCT).

Ante esta variabilidad, la red internacional Cochrane recomienda elegir (y así hicimos) el modelo de efectos aleatorios que asigna menos peso a los estudios de tamaño muestral más elevado de manera tal que potencia los pequeños. Su resultado final será valorable siempre y cuando se derive de muchos estudios componentes (fue el caso de nuestro meta-análisis que agrupó 18 estudios) y los sesgos metodológicos de estos no sean importantes (no fue el caso, pues había múltiples en esos estudios).

También se realizó un gráfico de embudo (*funnel plot*) para valorar la existencia de sesgos de publicación.

5.4. ESTUDIO F.

5.4.1. Análisis factorial o de componentes principales.

El análisis factorial es una técnica usada en estadística cuando existen muchas variables y se pretende conocer mejor su estructura interna (328). Permite, en base a correlaciones, reducir el número de las variables observadas o medidas a otro número menor de variables no observadas llamadas factores y obtenidas por modelaciones de aquellas a las que se asocia un determinado peso o carga. Por ejemplo, diversas variables miden el espesor de RNFL en distintos puntos de disco y mácula y parece lógico pensar que sus valores no son completamente independientes. También es probable que la medición del grosor de CGL, capa que alberga los somas de las GC se correlacione con la capa que alberga sus axones (RNFL).

Dado que las variables elegidas en disco óptico y mácula en este estudio a) no mostraron capacidad de discriminar el fenotipo cognitivo en nuestra cohorte y b) estaban altamente correlacionadas entre si, optamos por un análisis factorial exploratorio de 27 de las variables neuroretinianas medidas por OCT que aparecen con distinta frecuencia en estudios de neurooftalmología, para hallar sus componentes principales.

Estas son las variables que analizamos factorialmente a partir de los datos del ojo derecho:

1. Área de disco total
2. Área de copa total
3. Área del anillo
4. Volumen de la copa
5. Ratio CD de área de disco
6. Ratio CD lineal de disc
7. Ratio CD vertical de disco
8. Diámetro vertical de disco
9. Diámetro horizontal de disco
10. Centro_ETDRS
11. Int-Temporal_ETDRS
12. Int-Superior_ETDRS
13. Int-Nasal_ETDRS
14. Int-Inferior_ETDRS
15. Ext-Temporal_ETDRS
16. Ext-Superior_ETDRS
17. Ext-Nasal_ETDRS
18. Ext-Inferior_ETDRS
19. Grosor macular central
20. Grosor de centro macular
21. Volumen macular total
22. Grosor promedio de capa de células ganglionares (GCL+) en hemirretina superior
23. Grosor promedio del resto de capas de la neuroretina (descontando CGL y

RNFL) en hemirretina superior

24. Grosor promedio de capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL) en hemirretina superior

25. Grosor promedio de capa de células ganglionares (GCL+) en hemirretina inferior

26. Grosor promedio del resto de capas de la neuroretina (descontando CGL y RNFL) en hemirretina inferior

27. Grosor promedio de capa de fibras nerviosas de la retina (RNFL) en hemirretina inferior.

Con la aplicación IBM SPSS 26 (SPSS Inc., Chicago, IL) se creó una matriz de correlación entre todas esas variables (27 x 27) y generaron 27 componentes o cofactores que se ordenaron jerárquicamente según la cantidad de varianza explicada.

Finalmente se seleccionaron los 5 primeros factores de la lista de 27 como los más explicativos y parsimoniosos delimitando el punto de corte crítico entre factores, con criterios como un eigenvalue >1 , la caída relativa en la gráfica de sedimentación (*scree plot*) mostrada en la figura 11, y la revisión de la magnitud de la comunalidad (*communality*).

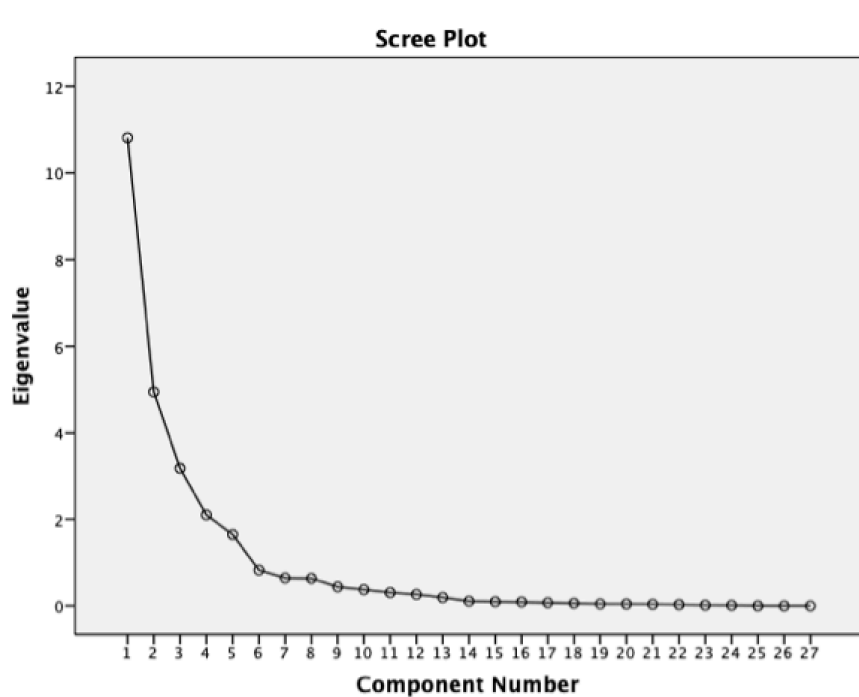


Figura 11. Gráfica de sedimentación (*scree plot*).

Estos 5 primeros factores eran la solución óptima para explicar el máximo de la varianza explicada (más de un 84%) con menos factores. En este estudio exploratorio se optó por una estructura factorial ortogonal, que asume la independencia entre los factores.

Posteriormente se generaron **los pesos factoriales** de cada variable (de 0 a +/- 1). A continuación se muestran los 5 componentes principales que explican buena parte de la variabilidad de las 27 variables (también listadas).

Se comprobó si estos 5 factores tenían capacidad para discernir entre los grupos clínicos conocidos con la población de partida (930 sujetos: 414 controles cognitivos, 192 DCL probable, 324 EA probable).

5.4.2. Análisis de clusters o conglomerados.

El análisis de conglomerados o clústeres (*cluster analysis*), es una técnica estadística multivariante que agrupa automáticamente variables o individuos con el fin de lograr máximas homogeneidad intragrupo y diferencia intergrupos. Estos grupos homogéneos llamados conglomerados o clústeres no son condicionados o delimitados de antemano sino que surgen de la misma naturaleza estadística de los datos en función de su parecido. Su utilidad en la biomedicina y en la psicología es muy frecuente (329).

Realizamos un análisis de clústeres agrupando los 930 sujetos en:

1. tres grupos diferenciados (*clusters*), precisamente el mismo número de grupos de fenotipos cognitivos que tratamos de discernir, primero utilizando los factores óptimos obtenidos en el análisis factorial y después, las 27 variables de OCT arriba descritas.
2. dos grupos diferenciados (*clusters*) siguiendo un modelo caso-control. En este modelo se retiraron los pacientes con DCL y se dejaron sólo los grupos extremos, esto es casos como pacientes con demencia tipo EA y controles como sanos cognitivos. Se ejecutó doblemente: primero, basado en los factores arriba descritos y, segundo, en las variables OCT.

6. RESULTADOS

Artículo I**Usefulness of peripapillary nerve fiber layer thickness assessed by optical coherence tomography as a biomarker for Alzheimer's**

Sánchez D, Castilla-Martí M, Rodríguez-Gómez O, Valero S, Piferrer A, Martínez G, Martínez J, Serra J, Moreno-Grau S, Hernández-Olasagarre B, De Rojas I, Hernández I, Abdelnour C, Rosende-Roca M, Vargas L, Mauleón A, Santos-Santos M, Alegret M, Ortega G, Espinosa A, Pérez-Cordón A, Sanabria A, Ciudin A, Simó R, Hernández C, Villosalada P, Ruiz A, Tárraga L, Boada M.

Sci Rep **8**, 16345 (2018).

<https://doi.org/10.1038/s41598-018-34577-3>

Received 6 March 2018

Accepted 17 October 2018

Published 5 November 2018

SCIENTIFIC REPORTS

Usefulness of peripapillary nerve fiber layer thickness assessed by optical coherence tomography as a biomarker for Alzheimer's disease

Domingo Sánchez¹, Miguel Castilla-Martí^{2,3}, Octavio Rodríguez-Gómez¹, Sergi Valero^{1,4}, Albert Piferrer⁵, Gabriel Martínez^{6,7}, Joan Martínez¹, Judit Serra¹, Sonia Moreno-Grau¹, Begoña Hernández-Olasagarre¹, Itziar De Rojas¹, Isabel Hernández¹, Carla Abdelnour¹, Maitée Rosende-Roca¹, Liliana Vargas¹, Ana Mauleón¹, Miguel A. Santos-Santos¹, Montserrat Alegret¹, Gemma Ortega¹, Ana Espinosa¹, Alba Pérez-Cordón¹, Ángela Sanabria¹, Andrea Ciudin⁸, Rafael Simó⁸, Cristina Hernández⁸, Pablo Villoslada⁹, Agustín Ruiz¹, Lluís Tàrraga¹ & Mercè Boda¹

¹Alzheimer Research Center and Memory Clinic of Fundació ACE, Institut Català de Neurociències Aplicades, Barcelona, Spain.

²Clínica Oftalmològica Dr. Castilla, Barcelona, Spain.

³Valles Ophthalmology Research, Hospital General de Catalunya, Sant Cugat del Vallès, Spain.

⁴Psychiatry Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, CIBERSAM, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain.

⁵Topcon España Clinical Affairs, Sant Just Desvern, Spain.

⁶Faculty of Medicine and Dentistry. Faculty of Medicine and Dentistry, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

⁷Iberoamerican Cochrane Centre, Barcelona, Spain.

⁸Diabetes and Metabolism Research Unit and Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociada (CIBERDEM), Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona, Spain.

⁹Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain.

Correspondence and requests for materials should be addressed to D.S. (email: dsanchez@fundacioace.com)

Received: 6 March 2018

Accepted: 17 October 2018

Published online: 05 November 2018

The use of optical coherence tomography (OCT) has been suggested as a potential biomarker for Alzheimer's Disease based on previously reported thinning of the retinal nerve fiber layer (RNFL) in Alzheimer's disease's (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI). However, other studies have not shown such results.

930 individuals (414 cognitively healthy individuals, 192 probable amnesic MCI and 324 probable AD) attending a memory clinic were consecutively included and underwent spectral domain OCT (Maestro, Topcon) examinations to assess differences in peripapillary RNFL thickness, using a design of high ecological validity. Adjustment by age, education, sex and OCT image quality was performed.

We found a non-significant decrease in mean RNFL thickness as follows: control group: $100,20 \pm 14,60 \mu\text{m}$, MCI group: $98,54 \pm 14,43 \mu\text{m}$ and AD group: $96,61 \pm 15,27 \mu\text{m}$. The multivariate adjusted analysis revealed no significant differences in mean overall ($p = 0,352$), temporal ($p = 0,119$), nasal ($p = 0,151$), superior ($p = 0,435$) or inferior ($p = 0,825$) quadrants between AD, MCI and control groups.

These results do not support the usefulness of peripapillary RNFL analysis as a marker of cognitive impairment or in discriminating between cognitive groups. The analysis of other OCT measurements in other retinal areas and layers as biomarkers for AD should be tested further.

Alzheimer's disease (AD) is a complex neurodegenerative disease and the most common cause of dementia¹. Clinical diagnostic criteria for AD do not discriminate with accuracy between different dementing etiologies². Before the onset of dementia, cognitive disorders progress slowly with minor cognitive impairment and without significant interference in daily activities. This

prodromal phase is known as mild cognitive impairment (MCI), a clinically heterogeneous syndrome whose definition has evolved in last years³⁻⁵ and can be due to many different etiologies (AD, vascular damage, depression,...). Although some MCI patients can remain stable for decades or even return to cognitive normality, it is well established that amnesic and multi-domain MCI condition increases the risk of progressing to AD^{6,7}. Given the fact that diagnosis of AD is still complicated especially in the MCI stage,, the search of inexpensive and noninvasive biomarkers is a promising area of research⁸. Even though some biomarkers have been validated and integrated into the new clinical diagnostic criteria^{9,10}, most show suboptimal test accuracy and either are very expensive such as detection of A β and Tau deposits in the brain using positron emission tomography (PET) or fairly invasive such as measurement of tau protein and A β peptide levels in cere- brospinal fluid (CSF) analysis^{11,12}

The retina is considered an anatomical protrusion of the central nervous system with same embryological origins. Unmyelinated axons of retinal ganglion cells form the retinal nerve fiber layer (RNFL) which prolongs as the optic nerve and connects to the lateral geniculate nucleus (LGN) in the thalamus, which serves as the first relay center of the visual pathway.

Color and contrast sensitivity impairment, worse depth and motion perception, visual field deficits and impaired visual acuity are often seen in AD patients^{13,14}. Visual symptoms in AD are supposedly caused by dam- age to associative visual cortical areas^{15,16}, however, there is mounting evidence that neuroretinal involvement could also be a contributing factor¹⁷ and this has spurred interest in the search for retinal AD biomarkers^{18,19}. Numerous postmortem histopathological studies reported RNFL and ganglion cell layer (GCL) reduction in AD patients^{18,19} although others demonstrated disparate results²⁰⁻²².

Optical coherence tomography (OCT) is a relatively inexpensive, innocuous, quick transpupillary technique that permits *in vivo* objective retinal measurements and quantification. OCT is routinely used in ophthalmology to evaluate retinal integrity through high-resolution cross-sectional scans of retinal layers such as the RNFL and CGL at different locations such as the macula or papilla^{23,24}. OCT is widely used in clinical ophthalmology and is a promising tool for neurological research²⁵ due to its good reliability in a variety of Central Nervous System (CNS) pathologies^{26–28} and high correlation with several visual electrophysiological techniques^{29,30}.

Peripapillary RNFL thinning is the most common finding in many neurological conditions such as multiple sclerosis, stroke, neuromyelitis optica, Lewy Body Dementia, Parkinson's disease and AD^{31–33}. It has been postulated to occur due to retrograde degeneration of the retinal ganglion cell axons or retinal deposits of AD pathology. Of note, classical histological studies^{18,19} have not found beta-amyloid plaques or neurofibrillary tangles in the retina of AD patients but more recent studies claim to detect them^{34–36}.

Studies on peripapillary RNFL are inconclusive as they are based on small size samples and show important methodological heterogeneity^{37–39} and discrepant results as will be discussed in further sections. Some studies show marked RNFL thinning affecting all retinal quadrants in patients with AD and MCI^{13,40–43}, whereas others do not^{26,44–46}.

Our study aims to assess the clinical usefulness and feasibility of collecting RNFL thickness using OCT in a memory unit (MU) from a large, consecutively recruited cohort.

Results

Figure 1 depicts the participant algorithm selection. 3,930 subjects attending a MU from January 2015 to July 2016 were invited to take part in this study and underwent a complete ophthalmological examination. 3,536 individuals (90%) received clinical diagnosis. 955 (24.4%) individuals out of 3,930 patients were discarded owing to several eye diseases (Table 1). Glaucoma and degenerative maculopathy were the main reasons for exclusion and their prevalence was especially high, especially among older and AD patients.

After the comprehensive application of inclusion and exclusion criteria depicted in detail below (see Methods), 930 (23.6%) participants in the cohort met all the inclusion criteria and none of the exclusion criteria: 414 subjects were in the control group, 192 in the MCI group and 324 in the AD group. Demographics are described in Table 2.

There were significant differences between all three diagnostic groups in all demographical features ($p < 0.001$). Women made up most of the total sample and were significantly more prevalent in the AD than in the MCI group. Cognitively healthy individuals were younger and showed higher education levels, higher MMSE scores and a slightly better OCT image quality than both MCI and AD patients. The MCI group was younger and scored higher in the MMSE (Mini-mental State Examination) than the AD group.

Table 3 summarizes each covariate's contribution to RNFL thickness variance including eta-squared and significance, after using ANCOVA.

OCT image quality, followed by age and education turned out to be the most decisive factors for explaining variability of RNFL thickness and showed a very significant correlation and effect size. These three variables were more strongly associated with RNFL measurements than the diagnosis itself, whose correlation

was not significant. The effect of gender was not significantly correlated with the peripapillary RNFL thickness.

Due to the differences in demographics between groups, we adjusted overall and sector-specific RNFL thickness in a multivariate model by the following covariates: OCT image quality, age, gender and education. No significant differences in mean overall ($p = 0.352$), temporal ($p = 0.119$), nasal ($p = 0.151$), superior ($p = 0.435$) and inferior ($p = 0.825$) RNFL thickness were found after comparing diagnostic groups. Our Mean and SD values are within the range of previously published studies.

Raw and adjusted data is displayed for mean overall (Table 4) and sector-specific (Table 5) RNFL thickness. A boxplot for mean overall RNFL thickness is represented (Fig. 2).

Since previous studies showing significant differences in RNFL thickness compared data between age and gender matched groups instead of using multivariate regression, we performed a sensitivity analysis in some age and gender groups at different age intervals to verify that the observed lack of significance in RNFL reduction between diagnostic groups was not due to this methodological difference. No significant differences were obtained by comparing age and gender matched groups (Table 6).

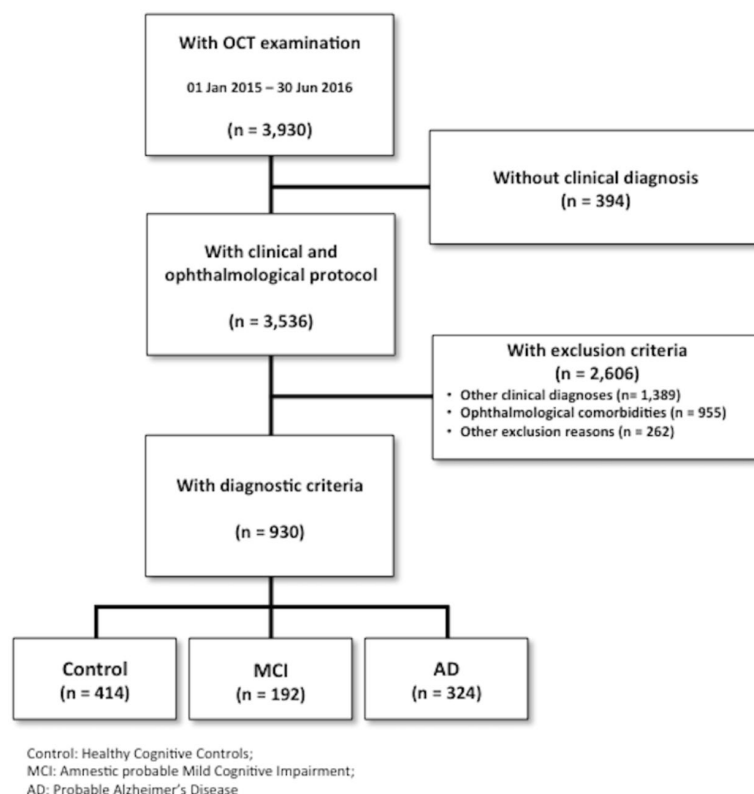


Figure 1. Patient selection and study cohort flow chart. Eligible population and selection of the study sample for this study through inclusion and exclusion criteria.

Causes	Number (% over excluded)	Prevalence in MU
Glaucoma	292 (30.6)	7.4%
Macular degeneration	289 (30.3)	7.3%
Amblyopia	135 (14.1)	3.4%
Intraocular pressure >24	62 (6.5)	1.6%
Retinal surgery	46 (4.8)	1.1%
OCT artifacts	39 (4.1)	1.0%
Myopia magna	36 (3.8)	0.9%
Optic neuropathies	18 (1.9)	0.5%
Ocular injury	6 (0.6)	0.2%
Other causes	61 (6.4)	1.6%
Unknown	72 (7.6)	1.8%

Table 1. Ophthalmological causes of exclusion. 955 out of 3,930 participants were excluded because of ophthalmological causes. Some subjects met more than one ophthalmological exclusion criterion.

		Mean	SD	Inter-groups Significance
Education (years)	Control	10.96	4.13	
	MCI	7.00	4.32	
	AD	6.14	4.08	
	Total	8.46	4.72	<0.001+
Age (years)	Control	65.93	9.01	
	MCI	76.46	7.14	
	AD	78.99	7.87	
	Total	73.05	10.23	<0.001+
MMSE (points)	Control	29.29	1.00	
	MCI	25.14	2.97	
	AD	20.28	3.98	
OCT Image Quality (%)	Control	47.81	7.57	
	MCI	44.59	8.23	
	AD	43.23	10.33	
	Total	45.41	9.09	<0.001+
Gender (% women)	Control	67.7%		
	MCI	56.2%		
	AD	74.0%		
	Total	67.8%		<0.001*

Table 2. Baseline demographics. Demographic features like age, gender and education, MMSE scores, and OCT quality image among groups are summarized. All the analyzed characteristics were significantly different among diagnostic groups. *Pearson's Chi2 test. +1-factor ANOVA.

Covariate	Significance	*D.f.	Partial Eta ²
Education	0.018	1	0.006
Gender	0.516	1	0.000
Age	0.0001	1	0.033
OCT image quality	0.0001	1	0.037
Diagnosis	0.352	2	0.002

Table 3. Contribution of every covariate to variance of RNFL thickness. Correlation between demographical and ophthalmical covariates with the dependent variable is itemized. *D.f.: Degrees of Freedom.

Group (N)	Mean	SD	Mean ^{aa}	SEM	p value
Control (414)	100.20	14.59	97.81 ^{aa}	0.82	
MCI (192)	98.54	14.43	99.86 ^{aa}	1.05	
AD (324)	96.61	15.27	98.88 ^{aa}	0.89	
Total (930)	—	—	—	—	0.352

Table 4. Results of mean RNFL in all diagnostic groups. Raw and adjusted mean overall RNFL thickness (μm), standard deviation (SD) and standard error of the mean (SEM). After a multivariate adjustment, no significance between any diagnostic groups appeared and dispersion data is shown as SEM. SD: Standard

Deviation; aa: after adjustment; SEM: Standard Error of the Mean; p: Significance; AD: Alzheimer's Disease; MCI: Mild Cognitive Impairment.

p value	Group (N)	Mean	SD	Mean ^{aa}	SEM
Temporal 0.119	Control (413)	72.76	12.43	71.44 ^{aa}	0.77
	MCI (192)	72.46	13.73	73.24 ^{aa}	0.99
	AD (324)	72.82	14.63	74.04 ^{aa}	0.83
	Total (929)		—	—	—
Superior 0.435	Control (413)	117.74	24.54	114.88 ^{aa}	1.34
	MCI (192)	116.31	24.17	117.74 ^{aa}	1.73
	AD (324)	114.27	22.34	117.05 ^{aa}	1.45
	Total (929)		—	—	—
Nasal 0.151	Control (413)	78.67	18.18	77.12 ^{aa}	1.00
	MCI (192)	78.95	17.27	79.68 ^{aa}	1.29
	AD (324)	75.18	17.65	76.72 ^{aa}	1.08
	Total (929)		—	—	—
Inferior 0.825	Control (413)	131.80	21.97	128.06 ^{aa}	1.28
	MCI (192)	126.34	21.82	128.53 ^{aa}	1.65
	AD (324)	123.82	25.25	127.28 ^{aa}	1.39
	Total (929)		—	—	—

Table 5. Results of quadrants RNFL in all diagnostic groups. Raw and adjusted sectorial RNFL thickness (μm), standard deviation (SD) and standard error of the mean (SEM). After a multivariate adjustment, no significance between any diagnostic groups appeared and dispersion is shown as SEM. SD: Standard Deviation; aa: after adjustment; SEM: Standard Error of the Mean; p: Significance (missing data: 1); AD: Alzheimer's Disease; MCI: Mild Cognitive Impairment.

Group (N)	Women (%)	p value	Age (years)	SD	p value
Control(85)	55.3		74.48	2.87	
MCI (84)	58.3		74.55	2.64	
AD (63)	63.5		74.81	2.61	
Total (232)	58.6	0.60	74.62	2.70	0.99
Group (N)	p RNFL	SD	p value		
Control (85)	97.36	13.03			
MCI (84)	100.44	15.10			
AD (63)	99.88	12.33			
Total (232)	99.16	13.65	0.185		

Table 6. Example of mean RNFL thickness in all diagnostic groups using a matching strategy for age. Mean age (years), mean peripapillary RNFL thickness (μm) and standard deviation (SD) are shown. Age ($p = 0.99$) and gender ($p = 0.60$) do not differ among all diagnostic groups. Changes in RNFL thickness between any diagnostic groups were not significant ($p = 0.185$). SD: Standard Deviation; p: Significance; p RNFL: Peripapillary RNFL; AD: Alzheimer's Disease; MCI: Mild Cognitive Impairment.

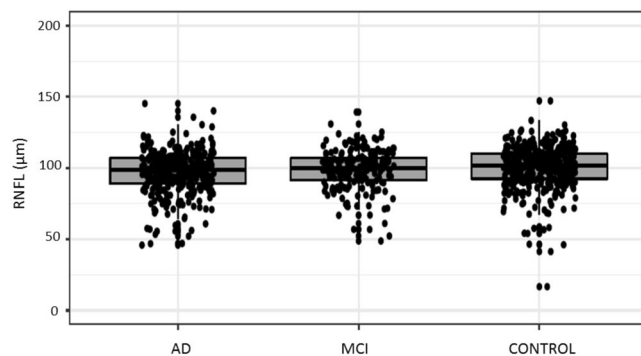


Figure 2. Mean RNFL for each diagnostic group. This boxplot represents the mean RNFL for each diagnostic group (Control, MCI, AD). No differences were found between clinical categories. The bottom and top of the box are the first and third quartiles and the band inside the box represents the median. AD: Alzheimer's Disease; MCI: Mild Cognitive Impairment.

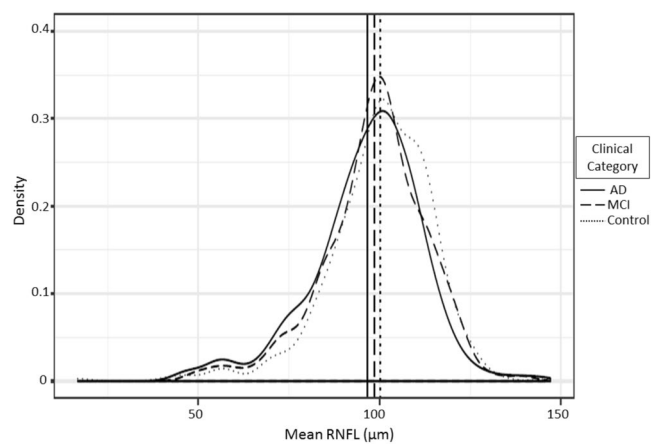


Figure 3. Mean RNFL distribution for all the diagnostic groups. AD: Alzheimer's Disease; MCI: Mild Cognitive Impairment.

Discussion

In contrast to some previous studies, we have not found significant differences in peripapillary RNFL thickness between cognitively healthy subjects, MCI and AD patients. However, previous literature on this matter is discrepant and inconclusive so far. Most publications showed that peripapillary RNFL thinning might affect all quadrants in the AD as well as in the MCI stage and correlates with functional measurements of visual pathways^{13,40–43}. However, other recent studies do not show a marked reduction of disc RNFL thickness^{26,44–46}. Such discrepancies may be due to several reasons such as lack of a strong involvement of the RNFL in AD, and, therefore, the effect is not detectable.

Due to the difficulty to recruit very old cognitive controls and very young people with dementia, the examined age interval in previous literature was very reduced (mean age between 70 and 80 years). Thus, cognitive impairment happening at very early or very advanced ages was not taken into account and it is known that rates of cognitive decline vary depending on the age⁴⁷. Other important factors affecting cognition such as education or affecting measurements such as OCT image quality were seldom studied in prior investigations. Our study tests both of these key covariates and in all age intervals showing that OCT image quality appears to be the most influential covariate determining peripapillary RNFL variability, followed by age. OCT signal strength is considered as a proxy of OCT image quality. Its value ranges from 0 (minimal) to 1 (maximal) and is given automatically by the software, after each acquisition. Controls got higher OCT signal than AD patients. This parameter also appeared to be much more influential in OCT protocols assessing disc than macula possibly because the disc protocol requires excentric fixation and therefore it is more demanding for the cognitively impaired patients than for healthy controls whose attention is better. It is also possible that cognitively impaired patients have more subclinical corneal or lens opacities than healthy individuals, even after having excluded all the subjects with evident ocular

etiologies, due to the known comorbidity between AD and degenerative maculopathies^{48,49}. Thus, we consider that image quality values should always be included in future research when studying the optic disc using OCT.

We have conducted a cross-sectional study using a large sample representative of clinical practice in a wide range of ages, cognitive stages and medical etiologies in order to enhance ecological validity. Most patients from our cohort were able to collaborate during OCT performance and this fact supports the feasibility of OCT assessment in a memory clinic setting. However, 24.4% of eligible subjects were excluded due to ophthalmological comorbidities, mainly glaucoma and macular degeneration. Both are diseases associated to age and different authors consider that both diseases share some pathophysiological underlying mechanisms with AD^{48,49} and it could partly explain the high prevalence observed in our cohort. The fact that these retinal pathologies also affect RNFL thickness might make the application of OCT as biomarker in a memory clinic more complex.

We consider our study counts with various strengths compared to previous investigations that study the retina in AD. Unlike other studies, where diagnostic criteria for cognitive normality and impairment are not detailed or only based on simple screening tests, we applied a comprehensive and standardized diagnostic protocol including extensive neuropsychological testing and neuroimaging biomarkers, as shown in the Methods. Most studies in the past were case-control designs based on small, hyperselected and underpowered sample sizes^{37–39}. Their methods and results were very heterogeneous, given the fact that some studies included only one eye per patient whereas others included both, that different OCT techniques and brands were used, etcetera. Heterogeneity between studies can be measured through the Higgins I² test⁵⁰. I² was calculated in three meta-analysis^{37–39} showing values over 95%, indicating an extreme lack of homogeneity that makes comparison difficult. Inclusion of participants in

previous studies was not consecutive and investigators were not blinded to the clinical diagnosis before OCT execution leading to important risk of bias and overestimating test accuracy^{51,52}. We took special care to avoid these limitations, by including every consecutive patient attending the MU, independently of their clinical presentation, education and age. The cohort of this study is the largest sample size collected in a single site so far. To avoid bias, clinician and optometrist were blinded to all procedures carried out in the same patient by the other. In our results, peripapillary RNFL is not discriminating enough between cognitive groups and its normal variability due to ageing and other factors might be fairly more pronounced than the variability hypothetically due to active neurodegeneration. Our results do not support the usefulness of RNFL thickness as biomarker of cognitive impairment in a MU.

We also acknowledge several limitations of this study. First of all, the results are only cross-sectional, therefore no conclusions can be drawn about the dynamics of RNFL thinning. We envision a longitudinal analysis to elucidate the RNFL changes over time. Second, standard deviation of RNFL measurements showed an important inter-individual variability within each group, similar to the one observed in some population-based or normative studies^{53,54}. However, this higher variability may be related to the fact that the age range in our population is less restricted than in the case-control studies previously mentioned. Third, given the heterogeneity of clinical and visual symptoms in AD, it may be possible that there are certain subgroups of AD patients with significant lesions of the visual system and this fact could contribute to explain observed discrepancies in the literature⁴⁵. Fourth, the covariates considered in our model might not be sufficient to control for inter-group variability, as we did not consider important eye parameters that might be confounding factors such as axial length and optic disc area, among others⁵³.

Although controversial, the peripapillary RNFL thinning is the most published retinal discovery in AD. However, many other OCT findings such as reduction in macular volume, ganglionar cell layer thickness, choroid width and some vascular alteration have been described and might be promising biomarkers for dementia staging and AD progression^{55–59}. In fact, it is possible that retinal AD biomarkers can only be achieved after having integrated various of the already cited biomarkers, both neuroretinal (such as RNFL, CGL, macular width) and retinovascular parameters (vessel morphology among others), in a composite biomarker. In any case, rapid advancements both in OCT technology such as automatic segmentation and in biomarkers in PET/CSF to improve diagnostic certainty^{60,61}, can give us a better insight into relationships between brain and eye.

Methods

Participant selection and characterization: the NORFACE cohort. The Neuro-Ophthalmology Research At Fundació ACE (NORFACE) research cohort was founded to search for retinal biomarkers of AD and examine the intriguing relationships between retinal pathophysiology and different types of neurodegenerative disease that cause cognitive impairment including AD, frontotemporal dementia, Lewy body dementia, Parkinson's Disease and vascular dementia among others. It is characterized by (a) prospective and consecutive recruitment in a memory clinic, (b) extensive neurological, neuropsychological and socio-functional evaluations, (c) a complete neuro-ophthalmological evaluation including a OCT scan, (d) consensus-based clinical diagnosis made by a multidisciplinary team (e) a longitudinal periodical clinical and neuro-ophthalmological reassessment. Fundació ACE-Institut Català de Neurociències Aplicades, Barcelona, Spain has developed a multidisciplinary approach to diagnose and care for patients with neurodegenerative diseases⁶² based on standardized neuropsychological and medical examinations^{63,64}.

Patients are referred to Fundació ACE-Memory Unit (FACE-MU) by primary care physicians or medical specialists of the Catalan Public Health System and undergo cognitive and psychological screening, including the Mini-Mental State Examination (MMSE)^{65,66}, the 7-minute tests⁶⁷ and the Hospital Anxiety and Depression Scale (HAD)⁶⁸. Afterwards, a comprehensive neuropsychological battery called NBACE is administered. NBACE counts with normative data and includes tests sensitive to orientation, memory, language, executive, visuoconstructive, visuospatial and visuoperceptive functions^{63,64}.

Blood tests comprising syphilis screening, liver and renal function, cholesterol profile, thyroid function and serum vitamin B12 and folate levels are analyzed to exclude possible causes of dementia. Brain atrophy, in particular medial temporal lobe (MTL) involvement is assessed by structural MRI and CT to improve diagnostic certainty⁶⁹. For some selected individuals PET or CSF data is also available^{60,61}. After the neurologist's and neuropsychologist's clinical examination made by the neurologist, a consensus-based diagnosis is reached by a multi-disciplinary team (neurologist, neuropsychologist, social worker).

Since January 2015 all new and follow-up patients attending the FACE-MU who are able to collaborate and understand instructions, undergo a complete a neuro-ophthalmological history and examination always by the same optometrist, before reaching the definite clinical diagnosis. The assessment includes (i) ophthalmological history, (ii) best-corrected visual acuity assessment by subjective refractometry using the Early Treatment of Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) chart, (iii) slit lamp examination was only used if the optometrist considered that biomicroscopy/ophthalmoscopy would be useful based on the medical history or on any unexpected finding seen in OCT scans, (iv) intraocular pressure measurement by Icare tonometry (v) and spectral domain OCT examination.

The optometrist and neurologist were blinded to all data from each other evaluation.

Optical Coherence Tomography. Patients were imaged with a 3D-OCT Maestro®, Fast Map software version 8.40 (Topcon Co. Tokyo, Japan) to assess macular and optic disc regions. Importantly, no pupil dilatation was required because of high resolution Bscan mode which also allows to get also CScan confocal imaging through the EnFace software. The OCT capture is combined with a real color fundus picture obtained through an internal camera.

Retina layer segmentation was performed using the TABS (Topcon Advanced Boundary Segmentation™) algorithm as part of the Fast Map software. TABS provide accurate and consistent measurements on retina images, improving reproducibility and accuracy together with great stability in performance across blood vessel shadows and it has proved effectiveness in ophthalmological diseases^{70,71}. It also provides multi-layer delineation in one aggregate operation including the internal limiting membrane (ILM), nerve fiber layer (NFL), ganglion cells layer (GCL) boundary, inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL) boundary, retinal pigment epithelium (RPE) and Bruch's membrane (BM). NFL (from ILM to NFL/GCL), GCL+ (from NFL/GCL to IPL/GCL) and total retinal thickness (from ILM to RPE) was automatically generated by TABS. RNFL parameters evaluated in this study were average or mean overall thickness (360° measurement), temporal quadrant thickness (316–45°), superior quadrant thickness (46–135°), nasal quadrant thickness (136–225°) and inferior quadrant thickness (226–315°). For this study, OCT data was only analyzed from one eye (right). After finishing a OCT imaging session, the same optometrist screened all images searching for abnormalities and sent all images to a consultant ophthalmologist, an expert in retinal pathology, who reviewed them all, one by one and made a diagnostic report.

Eligibility criteria. Patients were included if they were between 50 and 95 years of age and met control, MCI or AD diagnostic criteria described in continuation.

The control group was defined by (a) absence of significant symptoms (CDR = 0) and (b) a normal age, gender, and education-adjusted performance on NBACE^{63,64}. The MCI group was defined by (a) meeting Petersen criteria for amnesic MCI⁷² and (b) absence of significant signs of cerebrovascular or psychiatric disease. The last criterion was applied as described in previous publications^{6,73} to increase the probability of AD etiology. All subjects in the AD group met National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) criteria for probable AD⁷⁴. Note that the chosen inclusion criteria require the absence of other diseases capable of producing similar symptoms, resulting in a study cohort with high probability of "pure" AD etiology. In other words, patients with MCI or dementia and signs of non-AD etiologies (even if AD was also thought to be present, such as in cases of mixed AD and non AD etiology) were excluded to avoid confounding effects on the analysis of the relationship between RNFL thickness and AD-spectrum groups.

Patients were excluded if they could not understand or collaborate in the neuro-ophthalmological evaluation, if there was only data obtained from the left eye or presence of OCT artifacts or diseases that could affect OCT measurement such as glaucoma, maculopathies, neuropathies, prior retinal surgery, an intraocular pressure ≥ 24 mmHg, high myopia (<-6 Dp), or hyperopia ($>+6$ Dp), congenital abnormalities of the optic nerve. These excluded patients usually have low OCT signal strength but this parameter was not an exclusion criteria by itself.

Ethical considerations. This study and its informed consent were approved by the ethics committees of both the Hospital Clínic I Provincial and the Hospital Vall D'Hebron, (Barcelona, Spain) in accordance with Spanish biomedical laws (Law 14/2007, July 3rd, about biomedical research; Royal Decree 1716/2011, November 18th) and followed the recommendations of the Declaration of

Helsinki. All the participants signed the informed consent.

Statistical analysis. Statistical analyses were performed using IBM SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL) and according to APOSTEL guidelines⁷⁵. All data were examined for normality, skew, and restriction of range. All quantitative variables were normally distributed (Fig. 3). The results are presented as mean \pm SD for quantitative variables, range and number and percentage for categorical variables.

Chi-Squared test and parametric Student t-test were used to compare the demographic characteristics, clinical diagnoses and OCT measurements. The primary analysis of the study, assessing differences in the RNFL between subgroups adjusted by age, education, gender and image quality was tested with ANCOVA, with mean overall RNFL or sector-specific RNFL thickness (the sectorial areas were included in the same multivariate analysis, according to its correlated profile), as dependent factors and clinical groups as independent factors (three categories). Age, gender, years of education and OCT image quality were included in the model as adjustment variables. Eta² was calculated for every factor of the model, obtaining the explained variance of all the predictors. A significant effect was considered when $p < 0.05$.

Data Availability Statement

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

References

1. Blennow, K., de Leon, M. J. & Zetterberg, H. Alzheimer's disease. *Lancet* **368**, 387–403 (2006).
2. Beach, T. G., Monsell, S. E., Phillips, L. E. & Kukull, W. Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **71**, 266–273 (2012).
3. Morris, J. C. *et al.* Mild Cognitive Impairment Represents Early-Stage Alzheimer Disease. *Arch. Neurol.* **58**, 124–129 (2001).
4. Bondi, M. W. *et al.* Neuropsychological Criteria for Mild Cognitive Impairment Improves Diagnostic Precision, Biomarker Associations, and Progression Rates. *J. Alzheimers. Dis.* **42**, 275–289 (2014).
5. Petersen, R. C. *et al.* Mild cognitive impairment: A concept in evolution. *J. Intern. Med.* **275**, 214–228 (2014).
6. Espinosa, A. *et al.* A longitudinal follow-up of 550 mild cognitive impairment patients: evidence for large conversion to dementia rates and detection of major risk factors involved. *J. Alzheimers. Dis.* **34**, 769–780 (2013).
7. Gainotti, G., Quaranta, D., Vita, M. G. & Marra, C. Neuropsychological predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *J. Alzheimers. Dis.* **38**, 481–495 (2014).
8. Jack, C. R. & Holtzman, D. M. Biomarker modeling of Alzheimer's disease. *Neuron* **80**, 1347–1358 (2013).
9. McKhann, G. *et al.* The diagnosis of Dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **7**, 263–269 (2011).
10. Dubois, B. *et al.* Revising the definition of Alzheimer's disease: A new lexicon. *Lancet Neurol.* **9**, 1118–1127 (2010).
11. Engler, H. *et al.* Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease. *Brain* **129**, 2856–2866 (2006).
12. Diniz, B. S. O., Pinto, J. A. & Forlenza, O. V. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and β -amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. *World J. Biol. Psychiatry* **9**, 172–182 (2008).
13. Iseri, P. K., Altinas, Z., Tokay, T. & Yüksel, N. Relationship between Cognitive Impairment and Retinal Morphological and Visual Functional Abnormalities in Alzheimer Disease. *J. Neuro-Ophthalmol.* **26**, 18–24 (2006).
14. Katz, B. & Rimmer, S. Ophthalmologic manifestations of Alzheimer's disease. *Surv. Ophthalmol.* **34**, 31–43 (1989).
15. Cogan, D. G. Visual disturbances with focal progressive dementing disease. *Am. J. Ophthalmol.* **100**, 68–72 (1985).
16. Whitehouse, P. J., Price, D. L., Clark, A. W., Coyle, J. T. & DeLong, M. R. Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann. Neurol.* **10**, 122–126 (1981).
17. Berisha, F., Feke, G. T., Trempe, C. L., McMeel, J. W. & Schepens, C. L. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **48**, 2285–2289 (2007).
18. MacGillivray, T. J. *et al.* Retinal imaging as a source of biomarkers for diagnosis,

- characterization and prognosis of chronic illness or long-term conditions. *Br. J. Radiol.* **87**(1040), 20130832 (2014).
19. Ikram, M. K., Cheung, C. Y., Wong, T. Y. & Chen, C. P. L. H. Retinal pathology as biomarker for cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **83**, 917–922 (2012).
 20. Hinton, D. R., Sadun, A. A., Blanks, J. C. & Miller, C. A. Optic- nerve degeneration in Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **315**, 485–487 (1986).
 21. Sadun, A. A. & Bassi, C. J. Optic nerve damage in Alzheimer's disease. *Ophthalmology* **97**, 9–17 (1990).
 22. Davies, D. C., McCoubrie, P., McDonald, B. & Jobst, K. A. Myelinated axon number in the optic nerve is unaffected by Alzheimer's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **79**, 596–600 (1995).
 23. Puliafito, C. A. *et al.* Imaging of macular diseases with optical coherence tomography. *Ophthalmology* **102**, 217–229 (1995).
 24. Schuman, J. S. *et al.* Quantification of nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous eyes using optical coherence tomography: A pilot study. *Arch. Ophthalmol.* **113**, 586–596 (1995).
 25. Kardon, R. H. Role of the macular optical coherence tomography scan in neuro-ophthalmology. *J. Neuroophthalmol.* **31**, 353–361 (2011).
 26. Polo, V. *et al.* Reliability and validity of Cirrus and Spectralis optical coherence tomography for detecting retinal atrophy in Alzheimer's disease. *Eye* **28**, 680–690 (2014).
 27. Garcia-Martin, E. *et al.* Ability and reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomography to detect retinal nerve fiber layer atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmology* **119**, 2161–2167 (2012).
 28. Garcia-Martin, E. *et al.* Fourier-Domain OCT in multiple sclerosis patients: Reproducibility and ability to detect retinal nerve fiber layer atrophy. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **52**, 4124–31 (2011)
 29. Kromer, R., Serbecic, N., Hausner, L., Froelich, L. & Beutelspacher, S. C. Comparison of visual evoked potentials and retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer's disease. *Front. Neurol.* **4**, 203 (2013).
 30. Parisi, V. *et al.* Correlation between optical coherence tomography, pattern electroretinogram, and visual evoked potentials in open- angle glaucoma patients. *Ophthalmology* **108**, 905–912 (2001).
 31. Ratchford, J. N. *et al.* Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies. *Neurology* **73**, 302–308 (2009).
 32. Moreno-Ramos, T., Benito-León, J., Villarejo, A. & Bermejo-Pareja, F. Retinal nerve fiber layer thinning in dementia associated with Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers. Dis.* **34**, 659–664 (2013).
 33. Martinez-Lapiscina, E. H. *et al.* Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: A cohort study. *Lancet Neurol.* **15**, 574–584 (2016).
 34. Jentsch, S. *et al.* Retinal fluorescence lifetime imaging ophthalmoscopy measures depend on the severity of Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **93**, 241–247 (2015).
 35. Dentechev, T., Milam, A. H., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q. & Dunaief, J. L. Amyloid-beta is found in drusen from some age-related macular degeneration retinas, but not in drusen from normal retinas. *Mol. Vis.* **9**, 184–190 (2003).
 36. Löffler, K. U., Edward, D. P. & Tso, M. O. Immunoreactivity against tau, amyloid precursor

- protein, and beta-amyloid in the human retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **36**, 24–31 (1995).
37. He, X. F. *et al.* Optical coherence tomography assessed retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer’s disease: a meta-analysis. *Int. J. Ophthalmol.* **5**, 401–405 (2012).
 38. Coppola, G. *et al.* Optical Coherence Tomography in Alzheimer’s Disease: A Meta-Analysis. *PLoS One* **10**(8), e0134750, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134750> (2015).
 39. Thomson, K. L., Yeo, J. M., Waddell, B., Cameron, J. R. & Pal, S. A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimers. Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **1**, 136–143 (2015).
 40. Kirbas, S., Turkyilmaz, K., Anlar, O., Tufekci, A. & Durmus, M. Retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer disease. *J. Neuro-Ophthalmology* **33**, 58–61 (2013).
 41. Ascaso, F. J. *et al.* Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease: An optical coherence tomography study. *J. Neurol.* **261**, 1522–1530 (2014).
 42. Kesler, A., Vakhapova, V., Korczyn, A. D., Naftaliev, E. & Neudorfer, M. Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **113**, 523–526 (2011).
 43. Paquet, C. *et al.* Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Neurosci. Lett.* **420**, 97–99 (2007).
 44. Gharbiya, M. *et al.* Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer’s disease: evidence from enhanced depth imaging spectral domain optical coherence tomography. *J. Alzheimers. Dis.* **40**, 907–917 (2014).
 45. Kromer, R. *et al.* Detection of Retinal Nerve Fiber Layer Defects in Alzheimer’s Disease Using SD-OCT. *Front. psychiatry* **5**, 22 (2014).
 46. Garcia-Martin, E. S. *et al.* Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer’s disease. *Ophthalmology* **121**, 1149–1151 (2014).
 47. Bernick, C., Cummings, J., Raman, R., Sun, X. & Aisen, P. Age and rate of cognitive decline in Alzheimer disease: implications for clinical trials. *Arch. Neurol.* **69**, 901–905 (2012).
 48. Valenti, D. A. Alzheimer’s disease and glaucoma: imaging the biomarkers of neurodegenerative disease. *Int. J. Alzheimers. Dis.* **2010**, 793931 (2011).
 49. Ghiso, J., Doudevski, I., Ritch, R. & Rostagno, A. Alzheimer’s disease and glaucoma: mechanistic similarities and differences. *J. Glaucoma* **22**, S36–S38 (2013).
 50. Higgins, J. P. T., Thompson, S. G., Deeks, J. J. & Altman, D. G. Measuring inconsistency in meta-analyses. *B.M.J.* **327**, 557–560 (2003).
 51. Lijmer, J. G. *et al.* Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *J.A.M.A.* **282**, 1061–1066 (1999).
 52. Whiting, P. *et al.* Sources of variation and bias in studies of diagnostic accuracy: a systematic review. *Ann. Intern. Med.* **140**, 189–202 (2004).
 53. Budenz, D. L. *et al.* Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmology* **114**, 1046–1052 (2007).
 54. Rougier, M. B. *et al.* Retinal nerve fibre layer thickness measured with SD-OCT in a population-based study of French elderly subjects: the Alienor study. *Acta Ophthalmol.* **93**, 539–545 (2015).
 55. de Jong, F. J. *et al.* Retinal vascular caliber and risk of dementia: the Rotterdam study. *Neurology* **76**, 816–821 (2011).
 56. Cheung, C. Y. L. *et al.* Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer’s disease. *Alzheimers. Dement.* **10**, 135–142 (2014).

57. Marziani, E. *et al.* Evaluation of retinal nerve fiber layer and ganglion cell layer thickness in Alzheimer's disease using spectral- domain optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **54**, 5953–5958 (2013).
58. Williams, M. A. *et al.* Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **1**, 229–235 (2015).
59. O'Bryhim, B. E. *et al.* Association of Preclinical Alzheimer Disease With Optical Coherence Tomographic Angiography Findings. *JAMA Ophthalmol.* Published online August 23, 2018.
60. Bouwman, F. H. *et al.* CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **30**, 1895–1901 (2009).
61. Ossenkoppele, R. *et al.* Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. *J.A.M.A.* **313**, 1939–1349 (2015).
62. Boada, M. *et al.* Design of a comprehensive Alzheimer's disease clinic and research center in Spain to meet critical patient and family needs. *Alzheimers. Dement.* **10**, 409–415 (2014).
63. Alegret, M. *et al.* Normative data of a brief neuropsychological battery for Spanish individuals older than 49. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **34**, 209–202 (2012).
64. Alegret, M. *et al.* Cut-off scores of a Brief Neuropsychological Battery (NBACE) for Spanish Individual adults older than 44 years old. *PLoS One* **8**, 1–8 (2013).
65. Folstein, M. F., Folstein, S. E. & McHugh, P. R. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* **12**, 189–198 (1975).
66. Blesa, R. *et al.* Clinical validity of the "mini-mental state" for Spanish speaking communities. *Neuropsychologia* **39**, 1150–1157 (2001).
67. Meulen, E. F. J. *et al.* The seven minute screen: A neurocognitive screening test highly sensitive to various types of dementia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **75**, 700–705 (2004).
68. Zigmond, A. S. & Snaith, R. P. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr. Scand.* **67**, 361–370 (1983).
69. Reiman, E. & Jagust, W. Brain imaging in the study of Alzheimer's disease. *Neuroimage* **61**, 505–516 (2012).
70. Yang, Q. *et al.* Automated layer segmentation of macular OCT images using dual-scale gradient information. *Opt. Express* **18**, 21293–21307 (2010).
71. Hood, D. C. & Raza, A. S. Method for comparing visual field defects to local RNFL and RGC damage seen on frequency domain OCT in patients with glaucoma. *Biomed. Opt. Express* **2**, 1097–1105 (2011).
72. Petersen, R. C. *et al.* Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* **56**, 1133–1142 (2001).
73. Lopez, O. L. *et al.* Prevalence and Classification of Mild Cognitive Impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch. Neurol.* **60**, 1385 (2003).
74. McKhann, G. *et al.* Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* **34**, 939–944 (1984).
75. Cruz-Herranz, A. *et al.* The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology* **86**, 2303–2309 (2016).

Acknowledgements

This study was supported in part by funds from Fundació ACE, Institut Català de Neurociències Aplicades. Fundació ACE researchers are indebted to Trinitat Port-Carbó and her family who are supporting Fundació ACE scientific programs. The authors thank to Fundació ACE staff, patients and their families, without whose contribution this work would not have been possible. It was also funded by donations of “La Nit de l’Alzheimer”, a charity dinner initiative that took place on the 8th of August 2016 in the frame of the International Festival de Peralada. The OCT MAESTRO device was acquired with a grant EFSD/Lilly Mental Health and Diabetes 2013 Program of the European Foundation for the Study of Diabetes (EFSD), given to the project “Retinal neurodegeneration in type 2 diabetes as biomarker of Alzheimer’s disease”, under leadership of Dr. Cristina Hernández. We also want to thank TOPCON for its reliability as technological partnership. The present work was performed as part of Domingo Sánchez Ruiz’ doctoral program with title “Clinical Utility of OCT in diagnosing and monitoring of cognitive impairment” in the Department of Surgery and Morphological Sciences at Universitat Autònoma Barcelona (Barcelona, Spain).

Author Contributions

D.S.R. and M.C.M. have equally contributed to this work. This study was conceived by D.S.R. and A.R. Data were acquired, prepared, processed, or managed by J.S., J.M., and D.S.R. Ophthalmological screening was performed by M.C.M. Statistics were conceived and data were analysed by S.V. The manuscript was written by D.S.R. Data was interpreted by D.S.R., A.R., S.V., M.C.M. and O.R.G. The manuscript was critically revised by A.P., G.M., S.M.G., B.H.O., I.D.R., I.H., C.A., M.R.R., L.V., A.M., M.A.S.S., M.A., G.O., A.E., A.P.C., A.S., A.C., R.S., C.H., P.V., A.R., L.T. and M.B.

Additional Information

Competing Interests: A.P. is currently an employee of Topcon Spain. All the other authors have no conflict of interests to report.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2018



Artículo II

Evaluation of macular thickness and volume tested by optical coherence tomography as biomarkers for Alzheimer's disease in a memory clinic.






Sánchez D, Castilla-Martí M, Marquié M, Valero S, Moreno-Grau S, Rodríguez-Gómez O, Piferrer A, Martínez G, Martínez J, De Rojas I, Hernández I, Abdelnour C, Rosende-Roca M, Vargas L, Mauleón A, Gil S, Alegret M, Ortega G, Espinosa A, Pérez-Cordón A, Sanabria A, Roberto N, Ciudin A, Simó R, Hernández C, Tárraga L, Boada M, Ruiz A.

Sci Rep **10**, 1580 (2020).

<https://doi.org/10.1038/s41598-020-58399-4>

SCIENTIFIC REPORTS

Evaluation of macular thickness and volume tested by optical coherence tomography as biomarkers for Alzheimer's disease in a memory clinic

Domingo Sánchez ^{1*}, Miguel Castilla-Martí ^{3,4}, Marta Marquí ^{1,2}, Sergi Valero^{1,2}, Sonia Moreno-Grau^{1,2}, Octavio Rodríguez-Gómez^{1,2}, Albert Piferrer⁵, Gabriel Martínez^{6,7}, Joan Martínez¹, Itziar De Rojas ¹, Isabel Hernández^{1,2}, Carla Abdelnour^{1,2}, Maitée Rosende-Roca¹, Liliana Vargas¹, Ana Mauleón¹, Silvia Gil^{1,2}, Montserrat Alegret^{1,2}, Gemma Ortega^{1,2}, Ana Espinosa^{1,2}, Alba Pérez-Cordón¹, Ángela Sanabria^{1,2}, Natalia Roberto¹, Andreea Ciudin⁸, Rafael Simó⁸, Cristina Hernández⁸, Lluís Tàrraga^{1,2}, Mercè Boada^{1,2} & Agustín Ruiz ^{1,2}

¹Research Center and Memory Clinic, Fundació ACE, Institut Català de Neurociències Aplicades, Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona, Spain.

²Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

³Clínica Oftalmológica Dr. Castilla, Barcelona, Spain.

⁴Department of Ophthalmology, Hospital de l'Esperança, Parc de Salut Mar, Barcelona, Spain.

⁵Topcon España Clinical Affairs, Sant Just Desvern, Spain.

⁶Faculty of Medicine and Dentistry, Universidad de Antofagasta, Antofagasta, Chile.

⁷Iberoamerican Cochrane Centre, Barcelona, Spain.

⁸Diabetes and Metabolism Research Unit and Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociada (CIBERDEM), Vall d'Hebron Research Institute, Barcelona, Spain.

*email: dsanchez@fundacioace.com

Received: 22 September 2019 Accepted: 10 January 2020

Published online: 31 January 2020

Building on previous studies that report thinning of the macula in Alzheimer's disease (AD) and mild cognitive impairment (MCI) patients, the use of optical coherence tomography (OCT) has been proposed as a potential biomarker for AD. However, other studies contradict these results.

A total of 930 participants (414 cognitively healthy people, 192 with probable amnesic MCI, and 324 probable AD patients) from a memory clinic were consecutively included in this study and underwent a spectral domain oct scan (Maestro, topcon) to assess total macular volume and thickness.

Macular width measurements were also taken in several subregions (central, inner, and outer rings) and in layers such as the retinal nerve fiber (RNFL) and ganglion cell (CGL). The study employed a design of high ecological validity, with adjustment by age, education, sex, and oct image quality.

AD, MCI, and control groups did not significantly vary with regard to volume and retinal thickness in different layers. When these groups were compared, multivariate-adjusted analysis disclosed no significant differences in total ($p = 0.564$), CGL ($p = 0.267$), RNFL ($p = 0.574$), and macular thickness and volume ($p = 0.380$).

The only macular regions showing significant differences were the superior ($p = 0.040$) and nasal ($p = 0.040$) sectors of the inner macular ring. However, adjustment for multiple comparisons nullified this significance.

These results are not supporting existing claims for the usefulness of macular thickness as a biomarker of cognitive impairment in a memory unit. oct biomarkers for AD should be subject to further longitudinal testing.

The diagnosis of Alzheimer's disease (AD), The most frequent neurodegenerative disease, requires clinical diagnostic criteria which do not get to differentiate this disease accurately from other causes of dementia¹. Before dementia phase is established, cognition problems develop in a slow but progressive way, and can interfere limitedly in daily activities. This prodromal stage, called mild cognitive impairment (MCI), is a clinically heterogeneous syndrome and a consequence of different etiologies. Its definition has expanded in recent years²⁻⁴.

MCI symptoms can also be stable for many years or even disappear; however, it is clear that the amnesic and multidomain MCI raises the progression risk to AD^{5,6}. It is complicated to make a correct diagnosis of AD, especially in its MCI stage; therefore, the search for low-cost and innocuous biomarkers is important⁷. Even when a set of biomarkers have been approved and incorporated into the new clinical diagnostic criteria^{8,9}, most demonstrate suboptimal test precision and involve either prohibitive costs or substantially invasive processes^{10,11}.

The retina is a part of the central nervous system (CNS). with shared embryological origins. Unmyelinated axons of neurons in the ganglion cell layer (CGL) build the retinal nerve fiber layer (RNFL). These fibers continue as the optic nerve into the brain.

Optical coherence tomography (OCT) is a cheap, efficient and noninvasive transpupillary technique that facilitates objective in vivo retinal quantification¹². OCT is utilized regularly in clinical ophthalmology to assess retinal integrity and is a promising tool for neurological investigation because of its high correlation with a number of visual electrophysiological tests^{13,14} and considerable reliability in a wide range of neurological pathologies^{15,16}.

Visual symptoms such as impairment of both contrast and color sensitivity and perception of motion and depth are regularly observed in AD and other neurodegenerative conditions^{17,18}. They are typically considered a consequence of damage to associative visual cortical areas^{19,20}; however, there is growing evidence that neuroretinal involvement may also be a contributing factor²¹, and this has generated interest in the quest for retinal AD biomarkers^{22,23}. A significant number of postmortem pathological studies have outlined RNFL and GCL reduction in AD patients^{24,25}, although others have provided divergent results²⁶.

Retinal thinning is found in AD and many other CNS conditions, including neuromyelitis optica, Parkinson's disease^{27,28}. One hypothesis highlights that it is a consequence of retrograde degeneration of the axons of the CGL or the typical pathological deposits of Alzheimer's Disease in the retina. Indeed, initial histological studies^{24,25} have not identified neurofibrillary tangles or beta-amyloid plaques in AD patients' retina. However more recent studies state to have found them^{29,30}. The macula contains most of the retinal neurons' bodies, and therefore, macular volume evaluation may determine neuronal loss, showing if and how the neurodegeneration is taking place. Controls appear to have a higher macular volume than AD but lower relative to amnesic MCI³¹. Gliosis or inflammation in the prodromal phase of AD might be a possible explanation for this finding.

Studies on macular thinning are not fully conclusive because of their small sample size, significant heterogeneity in their methods³²⁻³⁴, and divergent results. Compared with cognitively healthy persons, most studies provide evidence of macular volume and thickness reduction in people with cognitive impairment (either MCI or AD), affecting primarily either the inner and outer rings^{25,35} or the fovea¹⁵. With one exception³¹, people with AD show a larger reduction in macular thickness than those with MCI in

articles cited earlier. Macular layer segmentation reveals CGL and RNFL atrophy in people with AD and is associated with disease severity³⁶ and axonal damage. However, recent studies do not provide evidence of retinal thinning in the macula^{37,38} and the optic disc^{39,40}.

The goal of this paper is to assess the clinical usefulness and viability of the analysis of all main macular parameters obtained through OCT automatic segmentation in the differentiation of controls, MCI, and AD in the work routine of a memory unit (MU).

Results

A total of 3,930 people attending a MU participated in this study. Ninety percent of them were given a clinical diagnosis. The selection algorithm's details is depicted in Fig. 1. An amount of 955 participants were excluded because of several eye diseases. Among them, the most prevalent⁴¹ were glaucoma (30,6%) and degenerative maculopathy (30,3%).

A total of 930 subjects were deemed to meet all the inclusion criteria and none of the exclusion criteria: 414 people were allocated to the control group, 192 to the MCI one, and 324 to the Alzheimer's Disease group. Their demographical features are shown in Table 1. Cognitively healthy persons were the youngest and demonstrated the greatest educational attainment. They showed the best Mini-Mental State Examination (MMSE) scores as well. The MCI patients were younger and had better MMSE scores than the AD group.

Each covariate's contribution to mean retinal thickness variance is summarized in Table 2. The key factor explaining the variability of macular thickness was age, which demonstrated a greater effect size and correlation than the diagnosis itself. OCT image quality did not significantly affect macular thickness variability among diagnostic groups.

We analyzed several macular parameters: mean thickness and volume (Table 3), thickness of macular layers (Table 4), and ETDRS sectors (Table 5). A box plot for macular variables was shown: total thickness (Fig. 2A), CGL thickness (Fig. 2B) RNFL thickness (Fig. 2C) and volume (Fig. 2D). Given the demographic differences among groups, we adjusted all macular variables in a multivariate model, including the next covariates: age, education, gender and OCT image quality. No significant differences in total ($p = 0.564$), CGL ($p = 0.267$), RNFL ($p = 0.574$), and macular thickness and volume ($p = 0.380$) were identified among diagnostic groups. Macular thickness was also compared regionally using Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS)-defined areas⁴². The superior ($p = 0.040$) and nasal ($p = 0.040$) sectors of the inner macular ring were the only macular regions showing significant differences among groups. The effect size was modest: the width of controls was only about 4 μm higher than the AD patients in both variables. However, significance disappeared after adjustment for multiple comparisons.

Discussion

We have conducted a cross-sectional study about differences in macular measurements in healthy controls and MCI and AD dementia groups, employing a large sample of varied ages, cognitive stages, and metabolic diseases to improve its ecological validity. The only requisite to allow participant with a particular disease into the study was that it did not alter retinal structure or cause OCT artifacts. For example, diabetic patients were permitted as long as they did not have diabetic retinopathy.

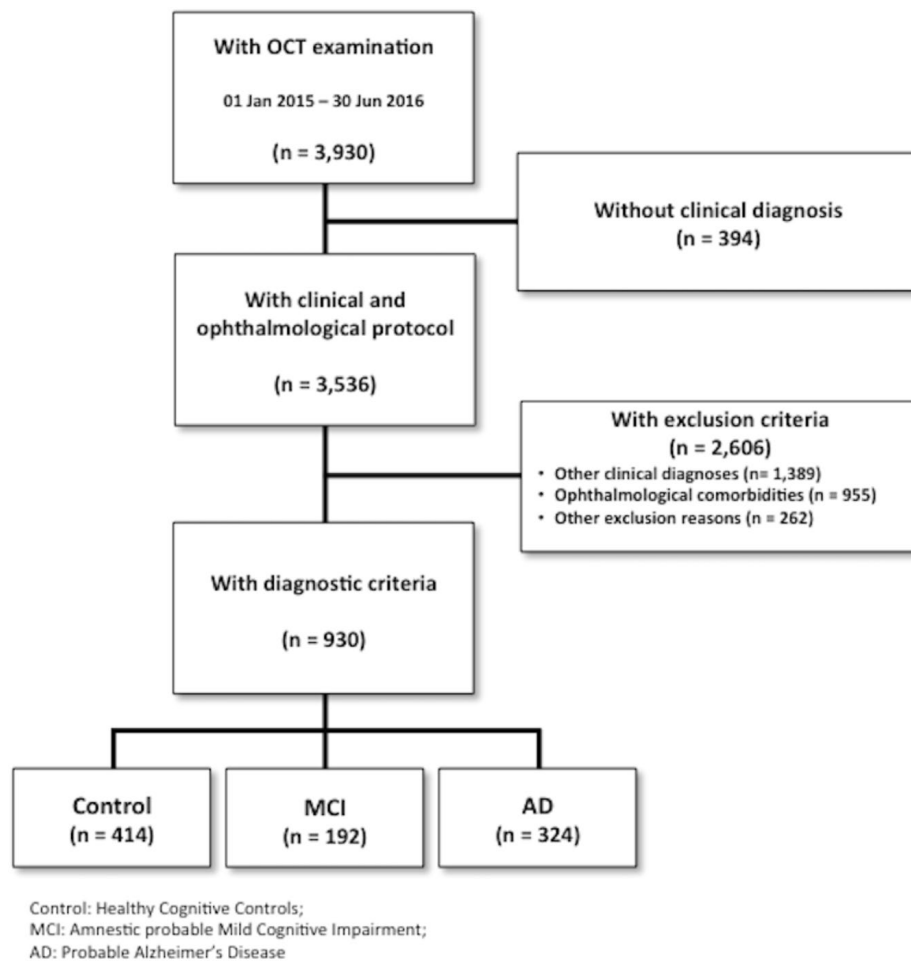


Figure 1. Patient selection and study cohort flowchart. Eligible population and selection of the study sample for this study through inclusion and exclusion criteria. Figure 1 was published previously in <https://www.nature.com/articles/s41598-018-34577-3.pdf>.

		Mean	SD	Intergroup Significance
Education (years)	Control	10.96	4.13	<0.001 ⁺
	MCI	7.00	4.32	
	AD	6.14	4.08	
	Total	8.46	4.72	
Age (years)	Control	65.93	9.01	<0.001 ⁺
	MCI	76.46	7.14	
	AD	78.99	7.87	
	Total	73.05	10.23	
MMSE (points)	Control	29.29	1.00	<0.001 ⁺
	MCI	25.14	2.97	
	AD	20.28	3.98	
OCT Image Quality (%)	Control	47.81	7.57	<0.001 ⁺
	MCI	44.59	8.23	
	AD	43.23	10.33	
	Total	45.41	9.09	
Gender (% women)	Control	67.7%		<0.001 [*]
	MCI	56.2%		
	AD	74.0%		
	Total	67.8%		

Table 1. Baseline demographics. Demographic features including age, gender, education, MMSE scores, and OCT quality image among groups are summarized. All the analyzed characteristics were significantly different among diagnostic groups. *Pearson's χ^2 test; ⁺1-factor ANOVA; Table 1 was published previously in [https:// www.nature.com/articles/s41598-018-34577-3.pdf](https://www.nature.com/articles/s41598-018-34577-3.pdf).

Covariate	Significance	D.f.	Partial Eta ²
Education	0.859	1	0.000
Gender	0.053	1	0.004
Age	0.0001	1	0.070
OCT image quality	0.639	1	0.000
Diagnosis	0.564	2	0.001

Table 2. Contribution of every covariate to variance of the macular thickness. Correlation between demographical and ophthalmic covariates with the dependent variable is shown. D.f.: degrees of freedom.

Group (N)	Mean	SD	Mean ^{aa}	SEM
Mean macular thickness p = 0.482				
Control (414)	275.28	13.95	271.52 ^{aa}	0.87
MCI (192)	270.66	15.24	272.51 ^{aa}	1.18
AD (324)	267.09	17.76	270.83 ^{aa}	0.94
Macular volume p = 0.380				
Control (414)	7.78	0.39	7.68 ^{aa}	0.02
MCI (192)	7.65	0.43	7.70 ^{aa}	0.03
AD (324)	7.54	0.51	7.65 ^{aa}	0.03

Table 3. Mean macular thickness and volume differences among diagnostic groups. Raw and adjusted mean overall total macular thickness (μm) and volume (μm^3), standard deviation (SD), and standard error of the mean (SEM). After a multivariate adjustment (^{aa}), no significant differences among diagnostic groups were detected. Dispersion data are shown as SEM. SD: standard deviation; ^{aa}after adjustment; SEM: standard error of the mean; p: significance; AD: Alzheimer's disease; MCI: mild cognitive impairment.

Variable	Mean	SD	Mean ^{aa}	SEM
Ganglion cell layer width p = 0.267				
Control (414)	64.11	5.38	62.59 ^{aa}	0.33
MCI (192)	62.68	6.27	63.51 ^{aa}	0.42
AD (324)	61.58	6.55	63.05 ^{aa}	0.36
Mean macular RNFL width p = 0.574				
Control (414)	37.91	4.56	37.22 ^{aa}	0.32
MCI (192)	36.30	6.01	36.67 ^{aa}	0.41
AD (324)	36.11	6.62	36.79 ^{aa}	0.35

Table 4. Mean macular layer differences among diagnostic groups. Raw and adjusted mean overall total macular thickness (μm), standard deviation (SD), and standard error of the mean (SEM). After a multivariate adjustment (^{aa}), no significant differences among diagnostic groups were detected. Dispersion data are shown as SEM. SD: standard deviation; ^{aa}after adjustment; SEM: standard error of the mean; p: significance; AD: Alzheimer's disease; MCI: mild cognitive impairment.

Group (N)	Mean	SD	Mean ^{aa}	SEM
ETDRS Center p = 0.735				
Control (414)	247.82	22.52	246.29 ^{aa}	1.48
MCI (192)	246.76	25.59	246.89 ^{aa}	1.91
AD (324)	243.19	30.03	245.08 ^{aa}	1.61
ETDRS Inner-Temporal p = 0.125				
Control (414)	299.92	16.03	296.04 ^{aa}	1.10
MCI (192)	293.86	19.97	295.30 ^{aa}	1.42
AD (324)	288.50	23.59	292.70 ^{aa}	1.20
ETDRS Inner-Superior p = 0.040				
Control (414)	312.45	16.22	307.81 ^{aa}	1.12
MCI (192)	306.04	20.08	308.21 ^{aa}	1.44
AD (324)	299.45	24.29	304.12 ^{aa}	1.22
ETDRS Inner-Nasal p = 0.040				
Control (414)	313.25	17.30	309.43 ^{aa}	1.14
MCI (192)	306.00	21.21	307.53 ^{aa}	1.47

AD (324)	300.75	23.35	304.74 ^{aa}	1.24
ETDRS Inner-Inferior p = 0.095				
Control (414)	309.88	16.22	305.44 ^{aa}	1.12
MCI (192)	303.72	20.36	305.70 ^{aa}	1.44
AD (324)	297.71	24.06	302.24 ^{aa}	1.22
ETDRS Outer-Temporal p = 0.683				
Control (414)	252.95	16.95	249.78 ^{aa}	1.05
MCI (192)	248.50	18.13	249.81 ^{aa}	1.35
AD (324)	245.24	20.85	248.54 ^{aa}	1.14
ETDRS Outer-Superior p = 0.306				
Control (414)	268.68	14.84	264.59 ^{aa}	0.94
MCI (192)	264.31	17.20	266.51 ^{aa}	1.24
AD (324)	260.31	20.01	264.25 ^{aa}	1.05
ETDRS Outer-Nasal p = 0.397				
Control (414)	285.41	17.711	281.18 ^{aa}	1.04
MCI (192)	281.28	18.226	283.61 ^{aa}	1.34
AD (324)	278.55	20.230	282.60 ^{aa}	1.13
ETDRS Outer-Inferior p = 0.819				
Control (414)	258.07	14.391	254.62 ^{aa}	0.95
MCI (192)	253.72	16.979	255.57 ^{aa}	1.23
AD (324)	251.43	19.813	254.78 ^{aa}	1.04

Table 5. Macular sectors' (ETDRS regions) thickness differences among diagnostic groups. Different raw and adjusted macular thickness (μm), standard deviation (SD), and standard error of the mean (SEM). After a multivariate adjustment, significant differences between diagnostic groups have appeared in the superior and nasal areas of the inner ring. After a correction for multiple comparisons, no significant differences among diagnostic groups were detected. Dispersion is shown as SEM.

Our data show that the differences on macular quantifications between controls and AD patients are so small that such changes are less than both the intraindividual reliability of the technique and the age effect. (For example, mean macular thickness has less than 1 μm difference after adjustment.) Therefore, the use of macular thickness as a biomarker in a memory unit might not be sufficiently reliable so far.

Most patients were able to collaborate during OCT performance. The study's sample size was one of the largest collected so far. Our study results contrasted with some previous works that found significant differences in macular thickness and volume between cognitive groups. Older literature on this matter had not provided solid conclusions so far. While some research suggested that macular thinning might correlate with cognitive diagnoses^{25,35}, recent studies did not evidence any significant macular thickness reduction^{37,38,43,44}, even using amyloid-proven status to confirm diagnoses³⁷. One study even noted an increase in foveal thickness and volume in AD³⁸. Our study showed a more prominent reduction in the macula's inner ring than in the outer ring and not vice versa as was noted in a recent meta-analysis³². Pertinent to our findings may be the fact that the inner ETDRS zones contained more neurons; thus, neurodegeneration was expected to be most prominent there. The reduction did not demonstrate statistical significance adjusted by multiple comparisons. Contrary to other investigations⁴⁵, our study did not identify any significant reduction in other macular layers such as RNFL or CGL.

The discrepancies observed in our data compared with previous literature could be related to several confounders. In the first instance, meta-analysis had evidenced heterogeneity in study design and in the clinical diagnosis of MCI and AD. Most previous studies were underpowered sample sizes and case-control designs where participants were prominently selected³²⁻³⁴.

Only one eye per patient was included in some studies, while others included both. In addition, several OCT techniques and brands were used. Participant inclusion in most of former literature was not consecutive, and researchers were not blinded to the clinical diagnosis before OCT was performed, risking bias and overestimation of test accuracy^{46,47}. Clinical criteria provided the basis for some studies, while others were supported by biomarkers. Furthermore, publication bias is identified, with an overrepresentation of smaller positive studies³², possibly leading to the true effect's overestimation.

To avoid bias, first, we consecutively included every patient between 50 and 95 years of age who attended the MU no matter their cognitive picture and formal education. We used a standardized protocol for diagnosis that included extended neuropsychological test battery and neuroimaging procedures. The neurologist and optometrist were blinded to all actions executed on the same participant by their counterpart.

Second, probably given the difficulties inherent in recruiting cases and controls with extreme ages (old cognitive controls and young people with dementia), the assessed age range in existing studies was significantly limited (between 70 and 80 years in average). Cognitive impairment taking place at extreme ages was therefore not considered, although it was well-established that rates of cognitive decline varied according to the age⁴⁸.

Third, AD and glaucoma were comorbid pathologies and shared mechanisms of pathophysiology with the same final result: retinal neurodegeneration⁴⁹. It was therefore not easy to differentiate retinal changes due to AD from those caused by glaucoma. A similar dynamic was observed between AD and macular degeneration, another disease associated with age.

Almost a quarter of eligible subjects in our cohort were not included because of ophthalmological comorbidities, primarily glaucoma and macular degeneration. Since these retinal pathologies also affected retinal thickness, the establishment of OCT as biomarker in a standard cognitive healthcare could be difficult or even unfeasible for a relatively large proportion of elderly subjects.

Factors that can significantly affect cognitive results, such as educational achievements or OCT image quality, were rarely considered in previous papers. Our study tested education, age, sex, and OCT image quality as covariates and demonstrated that age appeared to have the greatest influence in macular thickness variability. OCT signal strength was not an influential covariate in the macula, unlike in the optic disc⁴⁰.

A few limitations of our study should be acknowledged. On one hand, our model's covariates could not be enough to control intergroup variability due to potential eye confounders, such as axial length and optic disc area that have not been considered⁵⁰. On the other hand, the study elicits only cross-sectional results, so we are not able to draw any substantive conclusions about how macular thinning can evolve. We are considering a longitudinal study to clarify the dynamics of macular thickness.

Many other OCT findings, including alterations in vascular layer and network, have been highlighted and could be relevant biomarkers for AD classification and progression^{51–53}. In fact, successful retinal AD biomarkers might only be discovered after the integration of both neuroretinal and retinovascular in a composite biomarker. Advances in both OCT technology and inclusion of positron emission tomography (PET) and cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers to ameliorate diagnostic certainty^{54,55} and to confirm the sensitivity and specificity of OCT could provide a greater insight into the relationship between brain pathology and retinal features.

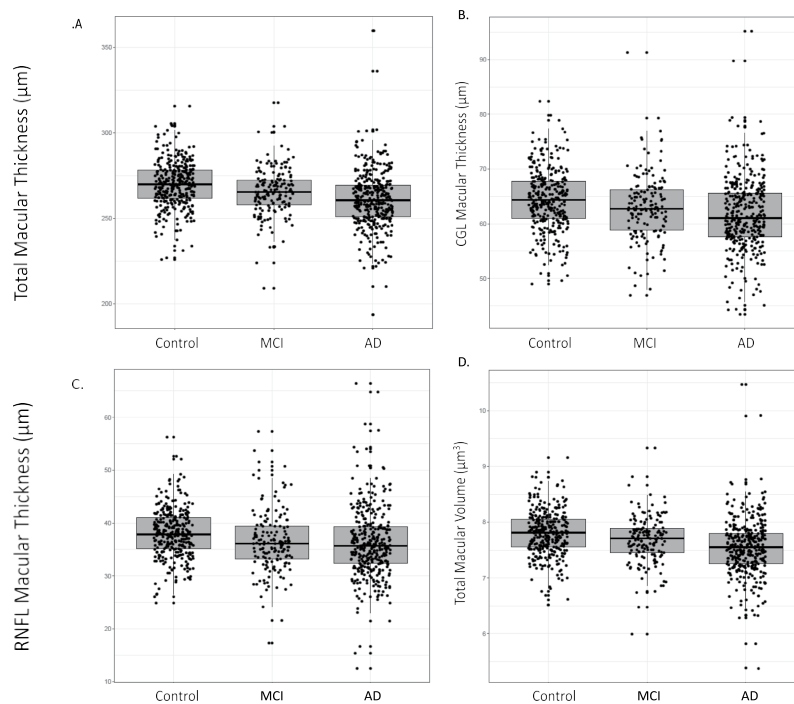


Figure 2. Macular parameters for each diagnostic group. This box plot represents the macular parameter for each diagnostic group (control, MCI, AD). No differences have been found among the three clinical categories. The bottom and top of the box are the first and third quartiles, and the band inside the box represents the median. AD: Alzheimer’s disease; MCI: mild cognitive impairment. **(A)** Macular Thickness (Total). **(B)** Macular Thickness (CGL). **(C)** Macular Thickness (RNFL). **(D)** Total Macular Volume.

Methods

Participant selection and characterization: the NORFACE cohort. The Neuro-Ophthalmology Research at Fundació ACE (NORFACE) cohort was established in 2014 to facilitate research in retinal biomarkers of AD and interrogate the thought-provoking relationships between retinal pathophysiology and AD. Recruitment of participants is prospective and consecutive from Fundació ACE-Institut Català de Neurociències Aplicades's Memory Clinic in Barcelona, Spain. Standardized neuropsychological and medical examinations^{56,57} are used in a multidisciplinary approach to diagnose and care for patients with neurodegenerative diseases⁵⁸.

As part of routine medical care and diagnostic workup, blood screening for syphilis, serum vitamin B12 and folate levels, and liver, renal, and thyroid functions are performed. Additionally, neuroimaging with structural brain MRI or head CT are employed to improve diagnostic certainty. These tests are followed by a clinical and neuropsychological examination and then reviewed by a multidisciplinary team to arrive at a consensus-based diagnosis⁵⁸.

As part of the NORFACE cohort, each patient undergoes a complete neuro-ophthalmological interview and examination done by an optometrist. The assessment includes review of the ophthalmological history, visual acuity assessment, intraocular pressure measurement, and spectral domain OCT examination. The optometrist and neurologist have been blinded to each other's evaluation data.

Optical coherence tomography. Macular measurements were assessed by imaging patients with a 3D-OCT Maestro, Fast Map software version 8.40 (Topcon Co., Tokyo, Japan). Importantly, the availability of high-resolution B-scan mode made pupil dilatation unnecessary. The OCT capture was merged with a real-color fundus picture captured by an internal camera.

The Topcon Advanced Boundary Segmentation (TABS) algorithm was employed to carry out automatic retina layer segmentation⁵⁹. TABS has proven efficacious in treating ophthalmological diseases by providing accurate and consistent measurements of retina images across blood vessel shadows. Automatic segmentation seems to be less precise but more repeatable than manual one and this is an important issue in massive screening studies⁶⁰. Macular thickness data were also shown in three concentric rings (ETDRS map) centered on the foveola. These were situated like this: a central macular ring, 1 mm from the fovea; an inner macular ring, 3 mm from the fovea; and an outer macular ring, 6 mm from the fovea. The inner and outer rings were each composed of four quadrants (superior, inferior, nasal, and temporal). Macular data were segmented in RNFL and CGL.

OCT data from only one eye (right) were analyzed for this study. The same optometrist screened all images for possible abnormalities after each OCT imaging session. Cases with abnormal findings were then reviewed by a consultant ophthalmologist who specialized in retinal pathology for a diagnostic report.

Eligibility criteria. All individuals between 50 and 95 years of age consecutively evaluated at Fundació ACE's Memory Clinic who fulfilled the control, MCI, or AD diagnostic criteria described below were considered eligible for inclusion in the study. The control group was selected

for (a) the absence of significant symptoms (CDR = 0) and (b) having a normal age, gender, and education-adjusted performance on the Neuropsychological Battery of Fundació ACE (NBACE)^{56,57}. The MCI group participants were required to (a) meet the Petersen criteria for amnesic MCI⁶¹ and (b) demonstrate an absence of significant signs of cerebro-vascular or psychiatric disease. The last criterion was imposed to heighten the probability of AD as the underlying etiology for MCI⁶². The AD group was exclusively composed of subjects who met the National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) criteria for probable AD⁶³. Importantly, these inclusion criteria ensured the absence of other diseases capable of producing similar symptoms, thereby yielding a study cohort with high probability of "pure" AD etiology.

Patients were excluded from the study if they were unable to understand or collaborate in the neuro-ophthalmological evaluation, if there was only data derived from the left eye, or if there was the presence of OCT artifacts or diseases that might affect OCT measurement such as retinal or ocular diseases.

Ethical considerations. The ethics committees of both the Hospital Clínic I Provincial and the Hospital Vall D'Hebron (Barcelona, Spain) approved this study and its observation of informed consent protocols in accordance with Spanish biomedical laws (Law 14/2007, July 3, about biomedical research; Royal Decree 1716/2011, November 18) and the guidelines set out in the Declaration of Helsinki. All participants signed the informed consent forms.

Statistical analysis. Statistical analyses were carried out using IBM SPSS 20 (SPSS Inc., Chicago, IL) and in conformity with APOSTEL guidelines⁶⁴. All data were tested for normality, skew, and restriction of range. All quantitative variables followed a normal distribution. The results of quantitative variables were presented as mean \pm SD, while categorical variables were displayed by range, number and percentage.

The demographic attributes, clinical diagnoses, and OCT measurements were compared using the chi-squared test and parametric Student t-test. The differences in macular parameters between subgroups adjusted by age, education, gender, and image quality were tested using ANCOVA, with the different variables of macular thickness and volume as dependent factors and clinical groups as independent factors (three categories). Age, gender, years of education, and OCT image quality were factored into the model as adjustment variables. All the predictors' explained variance was derived by calculating η^2 for each factor of the model. The threshold for a significant effect was set at $p < 0.05$.

Data availability

The data sets generated or analyzed during the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Published online: 31 January 2020

Received: 22 September 2019; Accepted: 10 January 2020

References

1. Beach, T. G., Monsell, S. E., Phillips, L. E. & Kukull, W. Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **71**, 266–273 (2012).
2. Morris, J. C. *et al.* Mild Cognitive Impairment Represents Early-Stage Alzheimer Disease. *Arch. Neurol.* **58**, 124–129 (2001).
3. Bondi, M. W. *et al.* Neuropsychological Criteria for Mild Cognitive Impairment Improves Diagnostic Precision, Biomarker Associations, and Progression Rates. *J. Alzheimers. Dis.* **42**, 275–289 (2014).
4. Petersen, R. C. *et al.* Mild cognitive impairment: A concept in evolution. *J. Intern. Med.* **275**, 214–228 (2014).
5. Espinosa, A. *et al.* A longitudinal follow-up of 550 mild cognitive impairment patients: evidence for large conversion to dementia rates and detection of major risk factors involved. *J. Alzheimers. Dis.* **34**, 769–780 (2013).
6. Gainotti, G., Quaranta, D., Vita, M. G. & Marra, C. Neuropsychological predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer’s disease. *J. Alzheimers. Dis.* **38**, 481–495 (2014).
7. Jack, C. R. & Holtzman, D. M. Biomarker modeling of Alzheimer’s disease. *Neuron* **80**, 1347–1358 (2013).
8. McKhann, G. *et al.* The diagnosis of Dementia due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease. *Alzheimers. Dement.* **7**, 263–269 (2011).
9. Dubois, B. *et al.* Revising the definition of Alzheimer’s disease: A new lexicon. *Lancet Neurol.* **9**, 1118–1127 (2010).
10. Engler, H. *et al.* Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer’s disease. *Brain* **129**, 2856–2866 (2006).
11. Diniz, B. S. O., Pinto, J. A. & Forlenza, O. V. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and β -amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer’s disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. *World J. Biol. Psychiatry* **9**, 172–182 (2008).
12. Puliafito, C. A. *et al.* Imaging of macular diseases with optical coherence tomography. *Ophthalmol.* **102**, 217–229 (1995).
13. Kromer, R., Serbecic, N., Hausner, L., Froelich, L. & Beutelspacher, S. C. Comparison of visual evoked potentials and retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer’s disease. *Front. Neurol.* **4**, 203 (2013).
14. Parisi, V. *et al.* Correlation between optical coherence tomography, pattern electroretinogram, and visual evoked potentials in openangle glaucoma patients. *Ophthalmol.* **108**, 905–912 (2001).

15. Polo, V. *et al.* Reliability and validity of Cirrus and Spectralis optical coherence tomography for detecting retinal atrophy in Alzheimer's disease. *Eye* **28**, 680–690 (2014).
16. Garcia-Martin, E. *et al.* Ability and reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomography to detect retinal nerve fiber layer atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmol.* **119**, 2161–2167 (2012).
17. Iseri, P. K., Altinas, Z., Tokay, T. & Yüksel, N. Relationship between Cognitive Impairment and Retinal Morphological and Visual Functional Abnormalities in Alzheimer Disease. *J. Neuro-Ophthalmol.* **26**, 18–24 (2006).
18. Katz, B. & Rimmer, S. Ophthalmologic manifestations of Alzheimer's disease. *Surv. Ophthalmol.* **34**, 31–43 (1989).
19. Cogan, D. G. Visual disturbances with focal progressive dementing disease. *Am. J. Ophthalmol.* **100**, 68–72 (1985).
20. Whitehouse, P. J., Price, D. L., Clark, A. W., Coyle, J. T. & DeLong, M. R. Alzheimer disease: evidence for selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann. Neurol.* **10**, 122–126 (1981).
21. Berisha, F., Feke, G. T., Trempe, C. L., McMeel, J. W. & Schepens, C. L. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **48**, 2285–2289 (2007).
22. MacGillivray, T. J. *et al.* Retinal imaging as a source of biomarkers for diagnosis, characterization and prognosis of chronic illness or long-term conditions. *Br. J. Radiol.* **87**(1040), 20130832 (2014).
23. Ikram, M. K., Cheung, C. Y., Wong, T. Y. & Chen, C. P. L. H. Retinal pathology as biomarker for cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **83**, 917–922 (2012).
24. Hinton, D. R., Sadun, A. A., Blanks, J. C. & Miller, C. A. Optic- nerve degeneration in Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **315**, 485–487 (1986).
25. Sadun, A. A. & Bassi, C. J. Optic nerve damage in Alzheimer's disease. *Ophthalmol.* **97**, 9–17 (1990).
26. Davies, D. C., McCoubrie, P., McDonald, B. & Jobst, K. A. Myelinated axon number in the optic nerve is unaffected by Alzheimer's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **79**, 596–600 (1995).
27. Ratchford, J. N. *et al.* Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies. *Neurol.* **73**, 302–308 (2009).
28. Martinez-Lapiscina, E. H. *et al.* Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: A cohort study. *Lancet Neurol.* **15**, 574–584 (2016).
29. Jentsch, S. *et al.* Retinal fluorescence lifetime imaging ophthalmoscopy measures depend on the severity of Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **93**, 241–247 (2015).
30. Dentchev, T., Milam, A. H., Lee, V. M., Trojanowski, J. Q. & Dunaief, J. L. Amyloid-beta is found in drusen from some age-related macular degeneration retinas, but not in drusen

- from normal retinas. *Mol. Vis.* **9**, 184–190 (2003).
31. Ascaso, F. J. *et al.* Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease: an optical coherence tomography study. *J. Neurol.* **8**, 1522–1530 (2014).
 32. Den Haan, J., Verbraak, F. D., Visser, P. J. & Bouwman, F. H. Retinal thickness in Alzheimer’s disease: A systematic review and meta- analysis. *Alzheimer’s Dement. Diagnosis.* **6**, 162–170 (2017).
 33. Coppola, G. *et al.* Optical Coherence Tomography in Alzheimer’s Disease: A Meta-Analysis. *PLoS One* **10**(8), e0134750, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134750> (2015).
 34. Thomson, K. L., Yeo, J. M., Waddell, B., Cameron, J. R. & Pal, S. A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimers. Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **1**, 136–143 (2015).
 35. Larrosa, J. M. *et al.* Potential new diagnostic tool for Alzheimer’s disease using a linear discriminant function for Fourier domain optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **5**, 3043–3051 (2014).
 36. Garcia-Martin, E. *et al.* Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients with Alzheimer’s disease. *Acta Ophthalmol.* **6**, 454–459 (2016).
 37. Den Haan, J. *et al.* Retinal Imaging Retinal thickness as a potential biomarker in patients with amyloid-proven early-and late-onset Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s Dement. Diagnosis* **11**, 463–471 (2019).
 38. Poroy, C. & Yücel, A. Â. Optical Coherence Tomography: Is Really a New Biomarker for Alzheimer’s Disease? *Ann. Indian. Acad. Neurol.* **2**, 119–125 (2018).
 39. Kromer, R. *et al.* Detection of Retinal Nerve Fiber Layer Defects in Alzheimer’s Disease Using SD-OCT. *Front. psychiatry* **5**, 22 (2014).
 40. Sánchez, D. *et al.* Usefulness of peripapillary nerve fiber layer thickness assessed by optical coherence tomography as a biomarker for Alzheimer’s disease. *Sci. Rep.* **8**, 16345 (2018).
 41. Marquié, M. *et al.* Visual impairment in aging and cognitive decline: experience in a Memory Clinic. *Sci. Rep.* **9**, 8698 (2019).
 42. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs—an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmol.* **98**, 786–806 (1991).
 43. Lad, E. M. *et al.* Evaluation of inner retinal layers as biomarkers in mild cognitive impairment to moderate Alzheimer’s disease. *PLoS One* **13**(2), e0192646 (2018).
 44. Knoll, B. *et al.* Retinal nerve fiber layer thickness in amnesic mild cognitive impairment: Case-control study and meta-analysis. *Alzheimers. Dement.* **4**, 85–93 (2016).
 45. Salobar-Garcia, E. *et al.* Analysis of Retinal Peripapillary Segmentation in Early Alzheimer’s Disease Patients. *Biomed. Res. Int.* **2015**, 636548 (2015).
 46. Lijmer, J. G. *et al.* Empirical evidence of design-related bias in studies of diagnostic tests. *J.A.M.A.* **282**, 1061–1066 (1999).
 47. Whiting, P. *et al.* Sources of variation and bias in studies of diagnostic accuracy: a systematic

- review. *Ann. Intern. Med.* **140**, 189–202 (2004).
48. Bernick, C., Cummings, J., Raman, R., Sun, X. & Aisen, P. Age and rate of cognitive decline in Alzheimer disease: implications for clinical trials. *Arch. Neurol.* **69**, 901–905 (2012).
 49. Ghiso, J., Doudevski, I., Ritch, R. & Rostagno, A. Alzheimer's disease and glaucoma: mechanistic similarities and differences. *J. Glaucoma* **22**, S36–S38 (2013).
 50. Budenz, D. L. *et al.* Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmol.* **114**, 1046–1052 (2007).
 51. Marziani, E. *et al.* Evaluation of retinal nerve fiber layer and ganglion cell layer thickness in Alzheimer's disease using spectral domain optical coherence tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **54**, 5953–5958 (2013).
 52. Cheung, C. Y. L. *et al.* Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **10**, 135–142 (2014).
 53. de Jong, F. J. *et al.* Retinal vascular caliber and risk of dementia: the Rotterdam study. *Neurol.* **76**, 816–821 (2011).
 54. Ossenkuppele, R. *et al.* Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. *J.A.M.A.* **313**, 1939–1349 (2015).
 55. Bouwman, F. H. *et al.* CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **30**, 1895–1901 (2009).
 56. Alegret, M. *et al.* Normative data of a brief neuropsychological battery for Spanish individuals older than 49. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **34**, 209–202 (2012).
 57. Alegret, M. *et al.* Cut-off scores of a Brief Neuropsychological Battery (NBACE) for Spanish Individual adults older than 44 years old. *PLoS One* **8**, 1–8 (2013).
 58. Boada, M. *et al.* Design of a comprehensive Alzheimer's disease clinic and research center in Spain to meet critical patient and family needs. *Alzheimers. Dement.* **10**, 409–415 (2014).
 59. Yang, Q. *et al.* Automated layer segmentation of macular OCT images using dual-scale gradient information. *Opt. Express* **18**, 21293–21307 (2010).
 60. Nagarkatti-Gude, N. *et al.* Optical Coherence Tomography Segmentation Errors of the Retinal Nerve Fiber Layer Persist Over Time. *J. Glaucoma.* **28**, 368–374 (2019).
 61. Petersen, R. C. *et al.* Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurol.* **56**, 1133–1142 (2001).
 62. Lopez, O. L. *et al.* Prevalence and Classification of Mild Cognitive Impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch. Neurol.* **60**, 1385 (2003).
 63. McKhann, G. *et al.* Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurol.* **34**, 939–944 (1984).
 64. Cruz-Herranz, A. *et al.* The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurol.* **86**, 2303–2309 (2016).

Acknowledgements

The authors thank the study participants and their families for their collaboration, and Topcon for its reliability as technological partnership. This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under the Marie Skłodowska-Curie grant agreement N° 796706 awarded to MM; from Fundació ACE Institut Català de Neurociències Aplicades in Barcelona, Spain and from a donation of “La nit de l'Alzheimer”, a charity dinner initiative that took place on August 8th 2016 as part of the “Festival Castell de Peralada”. The neuro-ophthalmology exam devices were acquired with a grant EFSD/Lilly Mental Health and Diabetes 2013 Programme of the European Foundation for the Study of Diabetes (EFSD) awarded to the project “Retinal neurodegeneration in type 2 diabetes as biomarker of Alzheimer's disease” under the leadership of CH. The present work was performed as part of Domingo Sánchez Ruiz' doctoral program with title “Clinical Utility of OCT in diagnosing and monitoring of cognitive impairment” in the Department of Surgery and Morphological Sciences at Universitat Autònoma Barcelona (Barcelona, Spain).

Author contributions

D.S.R is the main author of this work. This study was conceived by D.S.R. and A.R. Data were acquired, prepared, processed, or managed by J.M. and D.S.R. Ophthalmological screening was performed by M.C.M. Statistics were conceived and data were analyzed by S.V. The manuscript was written by D.S.R. Data was interpreted by D.S.R., A.R., M.M., S.V., M.C.M. and O.R.G. The manuscript was critically revised by M.M., A.P., G.M., S.M.G., I.D.R., I.H., C.A., M.R.R., L.V., A.M., S.G., M.A.S.S., M.A., G.O., A.E., A.P.C., A.S., N.R., A.C., R.S., C.H., L.T., M.B. and A.R.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to D.S.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020



6.3. OTROS RESULTADOS

6.3.1. CORRELACIÓN INTRACLASE (CIC)

Tabla 5. CIC de las variables retinianas estudiadas en el ojo derecho.

VARIABLE RETINIANA	CIC	INTERVALO CONFIANZA	
		Límite inferior	Límite superior
Grosor RNFL peripapilar	0,82	0,69	0,9
4_TEMPORAL	0,91	0,84	0,95
4_SUPERIOR	0,86	0,75	0,93
4_NASAL	0,69	0,48	0,83
4_INFERIOR	0,82	0,69	0,9
MÁCULA			
ETDRS_Centro	0,92	0,85	0,95
ETDRS_Int.Temporal	0,94	0,88	0,97
ETDRS_Int.Superior	0,94	0,89	0,97
ETDRS_Int.Nasal	0,93	0,88	0,96
ETDRS_Int.Inferior	0,94	0,9	0,97
ETDRS_Ext.Temporal	0,84	0,72	0,91
ETDRS_Ext_Superior	0,9	0,81	0,94
ETDRS_Ext_Nasal	0,9	0,81	0,94
ETDRS_Ext_Inferior	0,97	0,95	0,99
ETDRS promedio	0,95	0,91	0,97
Volumen macular	0,95	0,91	0,97
Retina total			
RNFL macula	0,9	0,82	0,95
GCL macula	0,98	0,97	0,99
Neurorretina macula	0,95	0,91	0,97

6.3.2 META-ANÁLISIS

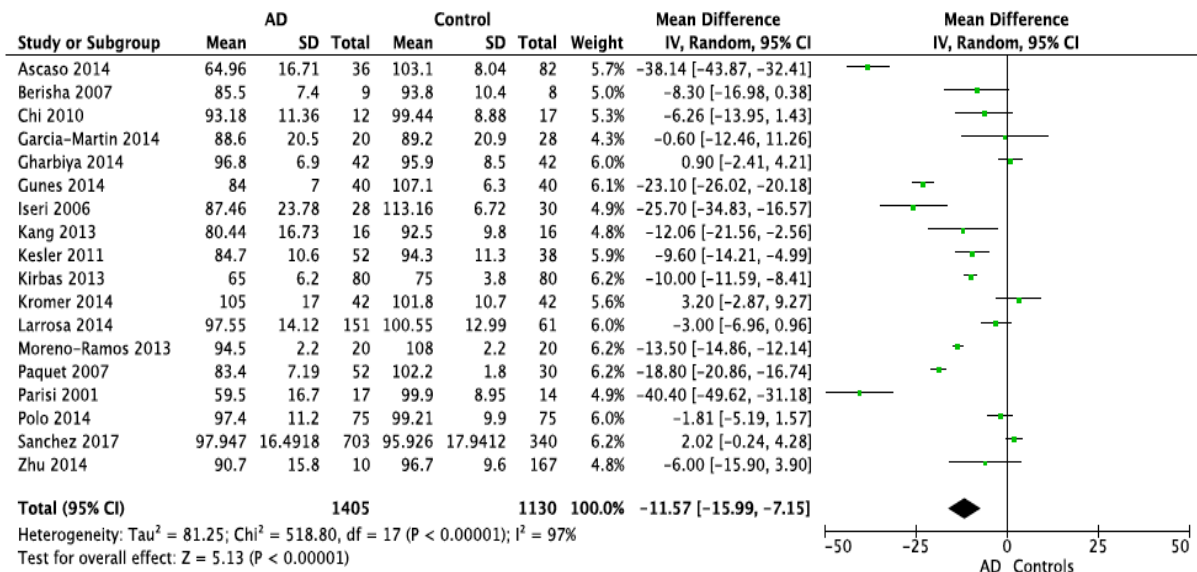


Figura 12. Meta-análisis que incluye los resultados del estudio NORFACE.

El meta-análisis incluyó un total de 2535 ojos evaluados, 1405 ojos de pacientes con demencia tipo EA y 930 ojos de controles cognitivos (figura 12). Los resultados del meta-análisis arrojaron una reducción de 11,57 micras (IC 95% -15,99 a -7,15 micras). La heterogeneidad fue muy elevada: tau²=81,25% chi²=518,80 df=17 (p=0,00001) , I²=97%. El test de efecto general : Z=5,13 (p<0,00001)

Este meta-análisis sólo rebajó en 1 micrómetro el tamaño del supuesto adelgazamiento reportado en el meta-análisis de partida (330) pero no puso en entredicho el papel discriminador entre fenotipos cognitivos que la mayoría de estudios otorgan al grosor de la RNFL peripapilar.

La heterogeneidad que mostraban los estudios componentes se debe a que se analizaron estudios que incluían distintas tecnologías de OCT (siete tenían TD-OCT y once, SD-OCT), distinta forma de seleccionar los ojos estudiados (seis incluían los dos ojos como sujetos independientes, ocho sólo uno y tres una mezcla o no lo reportaban). Esto obligó a calcular los resultados con el modelo de efectos aleatorios (*random effects*) en vez de fijos (*fixed effects*) lo cual penalizó severamente el peso de nuestro estudio. De hecho, tuvo un peso similar al de estudios con diseño más sesgado y con tamaño muestral mucho menor.

RESULTADOS

La evidencia científica de este meta-análisis es baja por los defectos metodológicos y la alta heterogeneidad en las series incluidas en este estudio. También se ejecutó un gráfico de embudo (*funnel-plot*). En el eje vertical está la precisión en base al error estándar y en el horizontal el tamaño de efecto medido como SMD (desviación media estándar). Se confirmó que existía un sesgo de publicación tal que no se estaban publicando los estudios que no mostraban efecto, esto es aquellos que no ven diferencia de grosor entre controles y pacientes con demencia (los estudios negativos). También se comprobó que los estudios más precisos (más cerca de 0 en el eje Y) eran los que habían dado resultados negativos. Concretamente, el nuestro fue el que mayor precisión mostraba (figura 13).

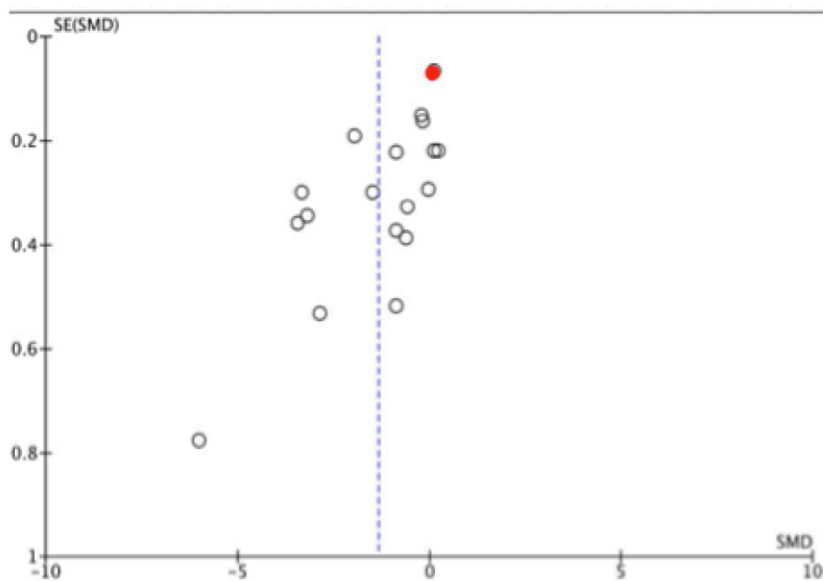


Figura 13. Gráfico de embudo de nuestro meta-análisis (en rojo nuestro estudio).

Podemos concluir que el grado de evidencia de este meta-análisis es bajo, toda vez que la heterogeneidad es muy alta (diseños diferentes, marcas muy diversas (Zeiss, Heidelberg, Topcon) y tecnologías (SD-OCT, TD-OCT). Muchos de los estudios no son comparables, y además podría existir un sesgo de publicación que beneficiaría a los estudios positivos, los iniciales, exploratorios, de menor tamaño muestral que no estaban adecuadamente enmascarados y tenían diseño caso-control.

RESULTADOS

6.3.3. SUBESTUDIO CON BIOMARCADORES DE PET DE AMILOIDE

Tabla 6. Edad de los grupos cognitivos según su estatus amiloide.

EDAD $p=0,31$

	CONTROL PET+	CONTROL PET-	DCL PET+	DCL PET-	EA LEVE PET +
N	16	83	14	7	9
MEDIA	74,19	76,3	76,5	76,43	78,56
DE	5,26	4,47	6,30	6,50	4,93

Tabla 7. Sexo de los grupos cognitivos en función de su estatus amiloide.

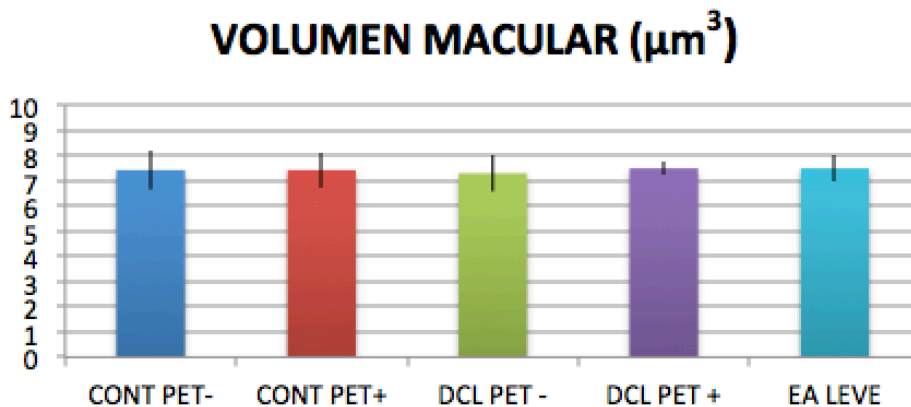
SEXO $p=0,25$

	CONTROL PET+	CONTROL PET-	DCL PET+	DCL PET-	EA LEVE PET +
N	16	83	14	7	9
% Mujeres	56%	40%	40%	71%	22%

Tabla 8. Volumen macular de los grupos cognitivos según su estatus amiloide.

VOLUMEN MACULAR	Media	DE
CONTROL PET-	7,42	0,77
CONTROL PET+	7,42	0,7
DCL PET -	7,29	0,71
DCL PET +	7,49	0,28
EA LEVE PET+	7,49	0,54

$p=0.90$



RESULTADOS

Volumen macular (μm^3)

Control PET (+) versus Control PET(-) $p=0,30$

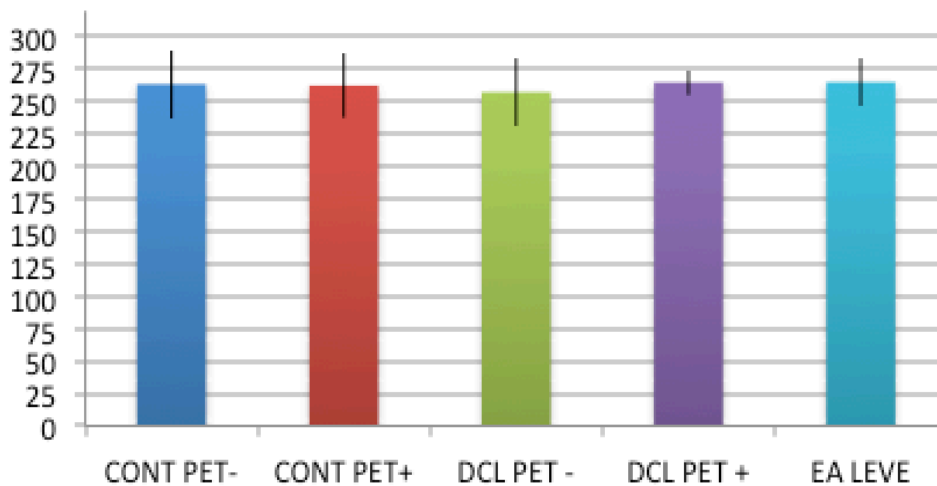
DCL PET (+) versus DCL PET (-) $p=0,23$

Tabla 9. Grosor macular total de los grupos cognitivos según su estatus amiloide.

GROSOR MACULAR TOTAL $p=0,99$

	Media	DE
CONTROL PET-	263,5	26,4
CONTROL PET+	262,4	24,8
DCL PET -	257,3	26,1
DCL PET +	264,9	9,85
EA LEVE PET+	265,1	18,9

GROSOR MACULAR TOTAL (μm)



Grosor macular total (μm)

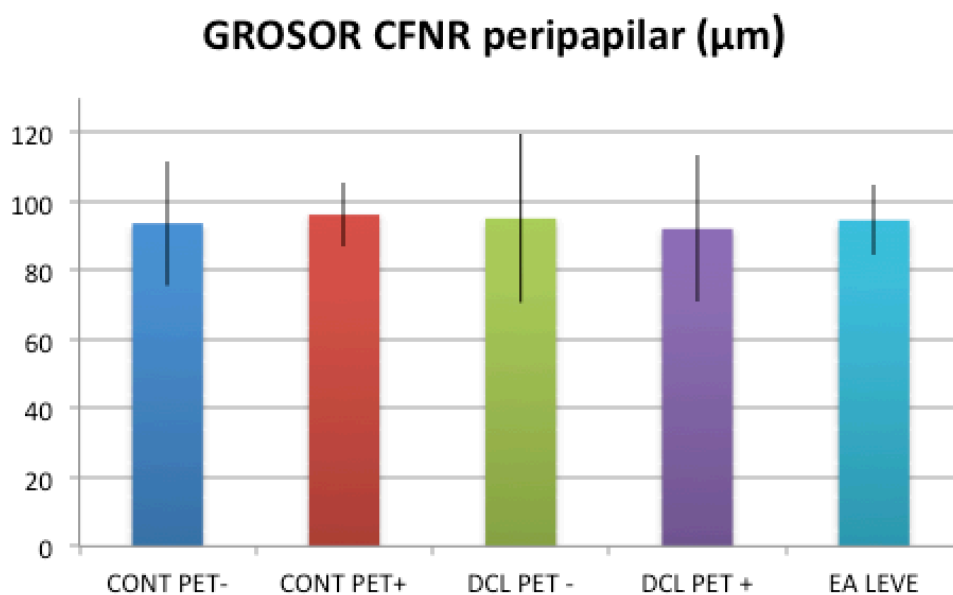
Control PET (+) versus Control PET(-) $p=0,40$

DCL PET (+) versus DCL PET (-) $p=0,38$

Tabla 10. Grosor de CFNR de los grupos cognitivos según su estatus amiloide.

GROSOR CFNR peripapilar $p=0,95$

	Media	DE
CONTROL PET-	93,7	18,1
CONTROL PET+	96,2	9,4
DCL PET -	95,1	24,43
DCL PET +	92,1	21,38
EA LEVE PET+	94,6	10,35



Grosor CFNR peripapilar total (μm)

Control PET (+) versus Control PET(-) $p=0,21$

DCL PET (+) versus DCL PET (-) $p=0,33$

6.3.4. PREVALENCIA DE OFTALMOPATÍAS EN LA UM

Tabla 11. Causas de exclusión oftalmológica en cohorte NORFACE.

CAUSAS OFTALMOLÓGICAS	Número (% sobre 955 excluidos)	Prevalencia en la UM (sobre 3930 sujetos)
Glaucoma	292 (30.6)	7,4%
DMAE	289 (30.3)	7,3%
Ambliopía	135 (14.1)	3.4%
Presión intraocular >24	62 (6.5)	1.6%
Cirugía retiniana	46 (4.8)	1.1%
Artefactos de OCT	39 (4.1)	1.0%
Miopía magna	36 (3.8)	0.9%
Neuropatías ópticas	18 (1.9)	0.5%
Daño ocular traumático	6 (0.6)	0.2%
Otras causas	61 (6.4)	1.6%
Desconocidas	72 (7.6)	1.8%

3930 sujetos participaron en la cohorte NORFACE. Tras aplicar todos los criterios de exclusión salvo el oftalmológico quedaron 1153 sujetos con los diagnósticos adecuados para los estudios B y C (507 controles, 243 DCL probables y 403 EA probables). Tras aplicar los criterios de exclusión por comorbilidad oftalmológica quedaron 930 sujetos (414 controles, 192 DCL probables y 324 EA probables) en los que se analizaron las variables de OCT.

RESULTADOS

Tabla 12. Demografía de edad en los grupos cognitivos. Las edades promedio de los grupos eran significativamente diferentes.

		MEDIA	DE	Significación inter-grupos
EDAD (años)	Control	65.93	9.01	
	DCL	76.46	7.14	
	EA	78.99	7.87	
	Total	73.05	10.23	<0.001

Tabla 13. Tratamientos oftalmológicos en NORFACE según grupo cognitivo.

N=1153	Cirugías oftalmológicas	Tratamientos tópicos oculares	Lentes correctoras
Control	96(23%)	121 (29%)	389 (94%)
DCL Probable	57 (30%)	55 (29%)	176 (92%)
EA Probable	99 (30%)	64 (20%)	280 (86%)

Tabla 14. Causas de exclusión oftalmológica según los grupos cognitivos

	Control (N=507)	DCL probable (N = 243)	EA probable (N=403)
Glaucoma	37 (7,3%)	22 (9%)	18 (4,5%)
DMAE	23 (4,5%)	16 (6,6%)	28 (6,9%)
Ambliopía	19 (3,7 %)	8 (3,3 %)	12 (3%)
Cirugías oculares en el pasado	4 (0,8%)	3 (1,2%)	4(1%)
Miopía magna	1 (0,2 %))	2 (0,8%)	4(1%)
Neuropatías ópticas	1 (0,2%)	1 (0,4%)	3 (0,74%)
Desprendimiento retina	3 (0,6%)	0 (0%)	2(0,5%)
Estrabismo	2 (0,4%)	0 (0%)	0 (0%)

Tabla 15. Porcentaje de individuos en estadios GDS y CDR en NORFACE

GDS (46)	% NORFACE
1	1,23%
2	16,3%
3	38%
4	29,8 %
5	13 %
6	1,24 %
7	0
CDR (47)	% NORFACE
0	17,53%
0,5	38%
1	29,8 %
2	13%
3	1,24%

6.3.5. ESTUDIO F

a) ANÁLISIS FACTORIAL

Se analizó si alguno(s) de los 5 componentes principales tenían capacidad para discernir entre los grupos clínicos conocidos con la población de partida (930 sujetos: 414 controles cognitivos, 192 DCL probable, 324 EA probable).

No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre sujetos cognitivamente sanos, con DCL probable y demencia tipo EA probable para ninguno de los 5 factores.

b) ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS

Tras agrupar los factores generados en el análisis factorial en conglomerados, ninguno de estos era capaz de agrupar diferencialmente un único fenotipo cognitivo (sanos, DCL y demencia EA) en el modelo de tres clústeres ni de caso-control (control versus demencia EA) en el modelo de dos. Esto es, en cada clúster se distribuyen aleatoria y no selectivamente individuos del grupo control, DCL y demencia tipo EA (modelo de 3 grupos) o casos y controles (modelo de 2 grupos).

El análisis de clústeres (con 2 y 3 conglomerados) se repitió considerando esta vez las 27 variables de OCT arriba descritas en vez de los factores hallados a partir de éstas. Este análisis tampoco mostró poder discriminante alguno ($p > 0,05$)

8. DISCUSIÓN

8.1. Tras la huella del Alzheimer en la retina: promesas y controversias

El estudio de biomarcadores de retina en enfermedades neurodegenerativas como la EA es un campo nuevo y con grandes perspectivas (111,129,188). El biomarcador más analizado y publicado ha sido el adelgazamiento neuroretiniano a nivel del disco óptico y la mácula. Este hallazgo ha resultado dispar y no concluyente entre grupos de investigación (238). La rapidez e inocuidad de la prueba de la OCT la hace, a priori, una herramienta idónea para su uso en una clínica de memoria pues los pacientes con EA pueden presentar dificultad para mantener la concentración y recordar consignas durante largas pruebas diagnósticas. Además los biomarcadores de EA más validados en la actualidad (78), ya sea de medicina nuclear (95,331) o de LCR (306,332) son o muy caros (PET amiloide o tau) o muy invasivos (análisis de LCR tras punción lumbar). El impulso por aclarar dichas discrepancias en la literatura e implementar esta técnica prometedora en las enfermedades neurodegenerativas llevó a la Fundació ACE (296) a crear NORFACE en 2015, la cohorte de estudio oftalmológico de mayor tamaño mundial insertada en una unidad de memoria (UM).

Algunas publicaciones habían mostrado un notable adelgazamiento del anillo neuroretiniano en pacientes con EA, que, además, parecía proporcional al grado de deterioro cognitivo (157,221,235,327,333) de manera que era mayor en DCL respecto a controles (156,221,235) pero menor que en la demencia tipo EA. Dicho adelgazamiento también se ha correlacionado con medidas funcionales de la vía visual (209,327,334). Sin embargo, nosotros no hemos encontrado diferencias significativas en el grosor peripapilar promedio y por cuadrantes de la RNFL (289). Nuestros resultados van en la línea de otros estudios que aparecieron posteriormente a la génesis de NORFACE y que no o apenas muestran una reducción del grosor de RNFL peripapilar (112,205,226,236).

Por otro lado, algunas investigaciones habían sugerido que el adelgazamiento también ocurriría a nivel macular en la EA e incluso de manera más precoz (158,221,237). Este grupo de trabajo estudió en la misma cohorte las principales áreas maculares como las 9 áreas ETDRS (366), el grosor de la

DISCUSIÓN

capa de células ganglionares, de la RNFL y el espesor retiniano total así como el volumen macular total (290). Nuestros resultados tampoco apoyaron la tesis de la neurodegeneración a nivel macular y se alinearon con otros estudios que han ido apareciendo en el último lustro (114,238,239), alguno incluso validado con biomarcadores de PET de amiloide (238), que niegan el decremento del volumen y grosor maculares en la EA (113).

Nuestro estudio mostró una leve reducción no significativa y más marcada en el anillo interno de la mácula y no en el externo, a diferencia de lo que se observó en un meta-análisis reciente (234). Una explicación puede ser que, dado que las zonas internas de ETDRS contienen mayor densidad neuronal es ahí donde se esperaría que la neurodegeneración, en caso de existir, fuera más prominente. En cualquier caso la reducción observada tampoco demostró significación estadística una vez ajustada por comparaciones múltiples.

8.2. La necesidad de un diagnóstico preciso compatible con la anatomopatología Alzhéimer

Los criterios de diagnóstico clínico para la EA a menudo no logran diferenciar de manera sólida y precisa entre los pacientes con EA y demencia no EA (336). De hecho, un 40% de estos últimos presentan rasgos de patología Alzheimer postmortem. En las revisiones sistemáticas sobre la materia (233) se especulaba:

- a) que en el grupo control podría haber sujetos “camuflados” con EA preclínica lo cual minimizaría las diferencias en el modelo dicotómico caso-control.
- b) sobre el porcentaje real de EA prodrómica en el grupo de DCL probable, pues eso podría condicionar a su vez las diferencias con el grupo control.

Para arrojar luz sobre estos temas, decidimos crear un subestudio en el que se añadiera al diagnóstico clínico, uno con biomarcadores de PET de amiloide. Se trataba de comprobar si los resultados se mantenían, y de esa manera, reforzar la certeza biológica del estudio. Con tal fin, diseñamos 5 grupos clínicos: 99 sujetos control con florbetabén (16 PET +, 83 PET -), 21 pacientes con DCL probable con flutemetamol (14 DCL PET +, 7 DCL PET-) y 9 demencias tipo EA probable con el trazador florbetapir (PET +).

DISCUSIÓN

En este subestudio no encontramos ninguna diferencia en las variables de disco óptico (grosor RNFL peripapilar promedio) ni mácula (volumen y grosor macular promedio) entre ninguno de esos 5 grupos. No hubo diferencias entre grupos clínicos ni, dentro de cada diagnóstico cognitivo, entre aquellos sujetos PET positivos respecto a los negativos. Los resultados del único estudio de OCT con biomarcadores de amiloidosis realizado hasta la fecha corroboran nuestros hallazgos negativos (238).

Como limitación a este estudio, no controlamos el efecto de la edad con el método ANCOVA sino verificando que la edad de los 5 grupos no difería significativamente entre sí. Los grupos fueron de conveniencia: se trataba de sujetos que como condición de inclusión para participar en ensayos clínicos o proyectos de investigación de la Fundación ACE, requerían realizarse un PET de amiloide. Este subestudio fue, pues, retrospectivo. Este control más laxo de los efectos confusores de la edad así como el enfoque retrospectivo es una práctica habitual en la mayoría de estudios de retina y Alzheimer, como explicaremos más adelante.

8.3. Posibilidad de biomarcadores compuestos de variables neuroretinianas

El siguiente paso fue explorar si estas variables que no habían mostrado ninguna capacidad discriminante ni en el estudio prospectivo doble ciego de elevado tamaño muestral ni en el subestudio con biomarcadores de PET amiloide, podrían tener utilidad diagnóstica combinándose entre ellas o con algunas otras variables de retina que no habíamos incluido en dichos análisis. Con tal fin elegimos 27 variables de OCT que, por la literatura previa, aparecían como prometedoras en EA y realizamos un análisis factorial para conocer mejor la estructura interna de dichas variables. Finalmente conseguimos reducir las 27 variables potenciales a sólo cinco componentes principales que lograban explicar buena parte de la variabilidad (el 84%) de aquellas. Sin embargo, ninguno de esos factores conseguía discriminar entre los fenotipos cognitivos estudiados.

Con un estudio de conglomerados se forzaron los 930 sujetos del estudio prospectivo en tres grupos o clústeres a semejanza del número de grupos

DISCUSIÓN

clínicos de nuestro estudio. La condición fundamental era que dentro de ellos hubiera la máxima homogeneidad posible y, entre ellos, la máxima diferencia. Los controles y pacientes con DCL y EA probables se distribuyeron homogéneamente en los 3 grupos. Posteriormente se hizo lo mismo pero con sólo dos clústeres imitando el modelo caso-control y los resultados fueron los mismos. Sanos y pacientes con deterioro cognitivo no se diferenciaban selectivamente en esos conglomerados estadísticos. Tal solapamiento refuerza la conclusión de que no hay variable neuroretiniana capaz de discriminar entre los fenotipos cognitivos estudiados.

8.4. ¿En qué se basan las divergencias observadas con la literatura?

Entendemos que las discrepancias entre los resultados de NORFACE y parte de la literatura previa pueden obedecer a varias causas. La primera es que la RNFL y la CGL apenas se vean afectadas en la EA y, por tanto, su reducción (por pequeña) tampoco sea detectable fácilmente. Sin embargo esta teoría tiene debilidades pues los mayores adelgazamientos registrados en la literatura se observaron con tecnologías más antiguas como la OCT de dominio temporal (TD-OCT). Sin embargo, cuando se utiliza la tecnología de dominio espectral (SD-OCT), más actual y precisa, no se evidencia el adelgazamiento o de hacerlo, es más modesto (234).

Sesgos en el diseño. los sesgos podrían explicar estos resultados como, por ejemplo, los de selección de pacientes, los de presentación de resultados o de no enmascaramiento. Debido a la dificultad de reclutar controles cognitivos de edad muy avanzada o personas muy jóvenes con demencia, el intervalo de edad examinado en la literatura anterior fue muy reducido y centrado en un intervalo de edad (entre 70 y 80 años), en el que tanto controles como demencias pueden aparecer frecuentemente. Sin embargo, es sabido que las tasas de deterioro cognitivo y sus hallazgos varían según la edad (337,338). Las edades extremas se descuidaron en la mayoría de artículos previos. La fuente de reclutamiento no se detallaba en algunos estudios. En otros, los sujetos de estudio eran voluntarios sanos a los que se ofrecían (339) con el subsecuente riesgo de sesgo (de autoselección o del voluntario sano).

DISCUSIÓN

A menudo, los pacientes solían ser remitidos por neurólogos, con el diagnóstico predefinido y puro de EA. Este tipo de pacientes con EA “de libro” no son representativos de la realidad clínica pues la EA aparece más frecuentemente camuflada en forma de demencia mixta (57) e incluso con síntomas atípicos. En otros trabajos se reclutaba a partir de una base de datos histórica de EA, con las limitaciones inherentes a los estudios de casos-controles retrospectivos (340). Todo esto generó que los probandos sanos y enfermos fueran prototípicos. Asimismo, era práctica habitual que el investigador principal y el explorador conocieran el diagnóstico neurológico tal que los estudios no estaban enmascarados. Esto aumentó el riesgo del sesgo del observador (341) y de confirmación (342).

Como nuestro objetivo era valorar la implementación en el “mundo real” de la técnica, buscamos un entorno ecológico con reclutamiento prospectivo, de todos los sujetos que venían a la unidad de memoria sin conocer su diagnóstico de manera tal que la muestra final fuera representativa de la de una UM. Para evitar el sesgo de la hiperselección o/y que nuestro estudio tuviera poca validez externa (343), se optó por una inclusión estrictamente consecutiva. Así, se garantizó que en la cohorte entraran todo tipo de patologías neurodegenerativas pero también vasculares y psiquiátricas.

Para esta tesis se analizó específicamente la etiología Alzheimer y no se excluyó por la medicación: en el grupo de demencia había sujetos tratados con anticolinesterásicos o/y memantina, y otros que no. También había pacientes con HTA, DM y dislipemia siempre y cuando estas patologías no generaran ni leucoencefalopatía vascular o isquemia cerebral ni retinopatía diabética o hipertensiva significativas. La edad se fijó entre 50 y 95 años, es decir, la práctica totalidad de los sujetos que acuden a una clínica de memoria eran incluibles bajo el criterio edad. Ello garantizó edades muy diversas en la muestra final. Y esto fue así porque consideramos que si la OCT pretende demostrar una utilidad sistemática en una UM debería ser capaz de analizar quejas cognitivas en amplias franjas etarias y con las comorbilidades diversas asociadas al envejecimiento.

Durante la primera visita clínica, a todos se les ofreció participar en el estudio, con enfoque enmascarado. Ni el neurólogo conocía su grosor retiniano ni el

DISCUSIÓN

optometrista la sospecha de patología cognitiva.

Los resultados de la OCT no se entregaron al paciente salvo cuando se detectó una patología oftalmológica desconocida tras el análisis de la OCT. Se abortó el estudio de la OCT si el deterioro estaba tan avanzado o la inquietud psicomotora era tal que le impedía proseguir la prueba. Para conocer las limitaciones de su uso masivo de la OCT, no se excluyó, de entrada, a ningún sujeto de la UM. Esto ha permitido testar la factibilidad de la técnica como una prueba de rutina en un entorno neurológico.

Hasta GDS=5, más del 95% de los pacientes concluyeron la tomografía con resultados legibles. Todas las OCTs se analizaron sólo tras finalizar del periodo de reclutamiento por una tercera persona (estadístico) que no conocía a los sujetos. Este enfoque ecológico pretendía evitar algunos sesgos más comunes de los estudios diagnósticos de selección y caso control (344–346) que tienden a sobreestimar la precisión de la prueba.

Factores confusores. Salvo la edad, la mayoría de estudios no controlaron los resultados por otras covariables que pudieran influir en la cognición, como el nivel educativo, o en la propia medición de la OCT (como la calidad de imagen) o bien no lo especificaron en los métodos. Todo esto puede afectar a la validez interna del estudio (343). Nuestro trabajo probó que la edad era la variable más influyente en mácula, con mucho, y la segunda más importante en el disco óptico. En esta área, era la calidad de imagen de OCT la covariable más influyente para explicar la variabilidad peripapilar de la RNFL.

La calidad se mide utilizando como indicador la intensidad de la señal OCT. Su valor varía de 0 (mínimo) a 1 (máximo) y la provee, automáticamente, el software, después de cada adquisición. Los controles obtuvieron una señal OCT más alta que los pacientes con EA. Pensamos que como el protocolo del disco (a diferencia del de mácula) requiere una fijación excéntrica y por ello mayor atención, para los pacientes con deterioro cognitivo puede ser más difícil de realizar. Por eso, generan peor calidad de señal. Como no exploramos el polo anterior ocular específicamente, no sería descartable que los pacientes con deterioro cognitivo pudieran padecer más opacidades subclínicas corneales o en el cristalino que los individuos sanos, incluso después de haber excluido a

DISCUSIÓN

todos los sujetos con etiologías oculares evidentes. De hecho, hay estudios que consideran que la fisiopatología de la EA podría desencadenar la aparición en el cristalino de cataratas supranucleares (173,178). Por lo tanto, consideramos que los valores de calidad de imagen deberían incluirse en futuras investigaciones al estudiar el disco óptico con OCT.

Por otra parte, se debe tener en cuenta que existe un adelgazamiento de la neurorretina con el envejecimiento fisiológico. Se estima en 1,5 micras por década para la RNFL peripapilar (347). El control de la edad en muchos trabajos previos no fue estricto en la medida en que se limitó a considerar edades equivalentes y por ende, comparables, la de los sujetos de dos grupos diagnósticos de N pequeña cuya edad no difería significativamente en las tablas demográficas.

El procedimiento de análisis de la covarianza (ANCOVA) que utilizamos anula cualquier efecto de la edad en los resultados de la OCT e incluye un modelo lineal general con una variable cuantitativa (las variables medidas con OCT) con varios factores confusores con los que se hace una regresión (348). De tal forma, se elimina la variabilidad causada en el parámetro retiniano de interés por la influencia de dichas covariables cuantitativas (edad, años de educación, calidad de imagen,...), aumentando la potencia estadística.

8.5. La utilidad de la OCT en una clínica de memoria

Si bien el hecho de que la mayoría de los pacientes de nuestra cohorte colaboraran y se desempeñaran bien durante la OCT respalda la viabilidad de la OCT en el entorno de una UM, hay escollos importantes para su implementación.

El más importante es si la OCT es siquiera útil para generar biomarcadores de EA. Es cierto que nuestros estudios en la neurorretina (289,290) no apoyan su uso en una UM pero la OCT también ha mostrado su potencialidad biomarcadora en otras áreas no exploradas en esta tesis. Por ejemplo, en la coroides (112,228,229) o en las alteraciones de la morfología o fisiología vascular medibles cada vez con más precisión mediante la OCT funcional (189,349).

DISCUSIÓN

La salud de la microvasculatura retiniana se correlaciona con la circulación sistémica y la cerebral y con el deterioro cognitivo (124,350). Mientras que el ensanchamiento de las vénulas retinianas se asocia con un mayor riesgo de demencia vascular (189), su estrechamiento y menor tortuosidad lo hace con EA (108,187). Es definitiva, aún existe la posibilidad de que de la combinación multimodal de otros parámetros de OCT surja un biomarcador en la EA en el futuro.

El segundo obstáculo es la comorbilidad oftálmica de la EA. Casi un cuarto (24.4%) de los sujetos elegibles fueron excluidos debido a comorbilidades oftalmológicas, principalmente glaucoma y degeneración macular. Ambas son enfermedades asociadas a la edad lo que podría explicar en parte la alta prevalencia observada en nuestra cohorte. Diferentes autores consideran que ambas enfermedades comparten algunos mecanismos fisiopatológicos subyacentes con la EA (109,252,265).

Dos estudios recientes (251,351) evidenciaron patrones similares de adelgazamiento en la RNFL de la cabeza del nervio óptico y alteración campimétrica en la EA y en el glaucoma de tensión normal, lo cual abunda en la dificultad para diferenciar los cambios retinianos de ambas patologías.

Lo mismo ocurre con la DMAE que, al afectar el grosor de RNFL, dificulta la interpretación de los resultados de la OCT o la atribución de un adelgazamiento a un supuesto efecto neurodegenerativo específico de la EA a nivel retiniano.

Incluso si éste existiera, para poder interpretarlo con seguridad en clave EA y en el seno de una UM, tendríamos que excluir un alto % de sujetos, especialmente en edades avanzadas cuando la incidencia de estas comorbilidades oftalmológicas se disparan. Este hecho limitaría mucho la indicación de una OCT diagnóstica en EA en una UM.

El tercer hándicap tiene que ver con aspectos técnicos de la OCT. La resolución axial en el caso de la SD-OCT utilizada en este estudio es en de 5 micras (211,234). Dado que, tras la corrección multivariable, la magnitud del tamaño de efecto entre los fenotipos más extremos (controles y demencia) en la más positiva de las variables (ETDRS interno nasal e interno-superior) es de menos de 5 micras, estaríamos ante una reducción “invisible” para esta generación de aparatos.

DISCUSIÓN

El escenario real es todavía menos optimista. La OCT tendrá sentido en una clínica de memoria en la medida en que facilite el diagnóstico de EA en estadios preclínicos o incipientes o prediga la conversión a demencia tipo EA desde el estadio DCL, al nivel que lo hacen otros biomarcadores validados (70). Por ende, la mínima reducción que tendría sentido considerar clínicamente es la que exista entre controles cognitivos y DCL debido a EA (EA prodrómica). En nuestra serie no hemos encontrado tal reducción y en otros estudios se mueve entre 0 y 10 micras, aproximadamente la mitad de la que muestran los pacientes con demencia.

Con el advenimiento de nuevos modelos de alta resolución (OCT-HR) se están consiguiendo resoluciones axiales de en torno a una micra. Sin embargo, las curvas normales de espesor retiniano de casos y controles están tan superpuestas en nuestra muestra (figura 14) que es imposible que, incluso con esa mayor precisión, se pueda interpretar un valor absoluto de grosor como inequívocamente de un control o de un paciente. No hay ningún valor absoluto que pueda utilizarse como punto de corte entre sanos y enfermos para obtener parámetros de sensibilidad y especificidad.

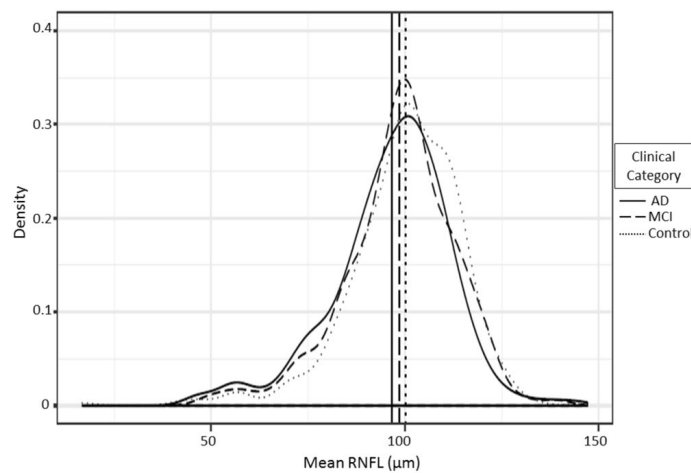


Figura 14. Grosor de RNFL. Se observa la superposición de las curvas de los grupos diagnósticos: EA (*AD: Alzheimer's Disease*) con DCL (*MCI: Mild Cognitive Impairment*) y con controles.

Ahora bien, si la hipótesis de que los adelgazamientos retinianos predicen la conversión a demencia fuera cierta, entonces sí que el desarrollo de los métodos de seguimiento ocular (*eye tracking*) en la OCT (352) unido al hito

DISCUSIÓN

del aumento de la resolución podrían ser claves en la medida en que los pondrían de manifiesto de manera precisa, longitudinalmente, en cada paciente. Se trataría pues de un modelo de riesgo distinto al que esta tesis y artículos previos han venido evaluando. En ese nuevo modelo lo realmente importante sería la evolución intraindividuo del espesor retiniano, al margen de su valor absoluto.

Nuestro estudio ha sido transversal aunque la cohorte NORFACE ha capturado datos prospectivamente y contamos con medidas de OCT en sucesivos seguimientos para cada paciente. No hemos comparado longitudinalmente los datos por 3 razones: porque ya en el enfoque transversal los resultados no apoyan la potencia como biomarcador, porque el aparato utilizado (la OCT Maestro-1000 de Topcon) no tiene tecnología *eye-tracker* y porque su resolución no es lo suficientemente fina como para recoger el sentido y el tamaño (muy pocas micras) de la variación de manera fiable.

8.6. Fortalezas y debilidades del estudio

Consideramos que nuestro estudio cuenta con algún otro punto fuerte. A diferencia de otros estudios previos donde los criterios de diagnóstico para la normalidad cognitiva y el deterioro no se detallan o solo se basan en pruebas de detección simples como el MMSE (61,297), aplicamos un protocolo de diagnóstico integral y estandarizado. Éste incluye pruebas neuropsicológicas extensas y biomarcadores de neuroimagen, como la medición del lóbulo temporal medial. Otra ventaja es nuestro tamaño muestral que aumenta la potencia del estudio. Hemos incluido a miles de sujetos lo que contrasta con los tamaños de muestra de la literatura que eran de pocas decenas de sujetos y con poca potencia, según concluyen las revisiones sistemáticas (231,232,234,330).

Los meta-análisis que aplican el modelo de efectos fijos (*fixed effects*) asumen que no existe heterogeneidad entre los estudios incluidos en la revisión, de modo que todos ellos estiman el mismo efecto y las diferencias observadas se deben únicamente al azar. Según este modelo, la elevada N de nuestro estudio sí que hubiera podido cambiar la tendencia como biomarcador que se sigue atribuyendo a la RNFL peripapilar.

DISCUSIÓN

Sin embargo, este modelo no es aplicable en este campo pues la literatura arroja resultados muy heterogéneos. Por citar sólo unos pocos ejemplos: algunos estudios incluyeron solo un ojo por paciente, el que estuviera disponible, mientras que otros incluyeron ambos, como sujetos diferentes, aun cuando sus valores lógicamente no fueran independientes; algunos utilizaron tecnología OCT-TD, más antigua y menos precisa frente a otros que utilizaban OCT-SD, con mejor resolución. Las marcas de los tomógrafos eran diversas y esto ocasionaba que los valores absolutos y normativos fuera diferentes para cada marca y modelo, lo que dificultaba comparar estudios.

Dicha heterogeneidad entre los estudios se puede medir a través de la prueba de Higgins I^2 (353). El I^2 calculado en estos estudios de compendio aporta valores superiores al 95%, lo que indica una extrema falta de homogeneidad. Estos resultados abigarrados hacen recomendable la aplicación de un modelo de meta-análisis de efectos aleatorios (*random effects*). Este modelo sobrerrepresenta a los estudios con menos varianza (234), y, que en este caso han sido los más pequeños y antiguos, con diseños más sesgados. Además estos eran los “más positivos”, lo que hace pensar que los meta-análisis están sobreestimando el efecto real como biomarcador. Baste decir, como botón de muestra que los hallazgos de un estudio con 20 controles y 20 pacientes con demencia EA y desviación estándar de <3 micras (161) pesan tanto en el meta-análisis (un 6,2%) como el nuestro que cuenta con 930 sujetos y desviaciones estándar de alrededor de 15 micras.

Asimismo, todos los meta-análisis incluido el nuestro identifican un sesgo de publicación considerable (354) visible en la gráfica de embudo (*funnel plot*) que denota que no se están publicando los trabajos con resultados negativos. Según ese mismo gráfico (figura 13), los estudios con resultados negativos publicados hasta la fecha eran los más precisos sobre la materia. Por tanto, la aparición de nuevos estudios sobre la materia podría cambiar la tendencia en futuros meta-análisis en el sentido de reducir el tamaño de efecto y por ende, su potencial utilidad.

DISCUSIÓN

También reconocemos varias limitaciones en nuestro abordaje. En primer lugar, los resultados son solo de corte transversal. Esto implica que no se pueden sacar conclusiones sobre la dinámica del adelgazamiento de RNFL.

En segundo lugar, la desviación estándar de las mediciones de RNFL mostró una importante variabilidad interindividual dentro de cada grupo, similar a la observada en algunos estudios poblacionales o normativos (212,213). Somos de la opinión de que esta mayor variabilidad emerge de manera normal por salir del “laboratorio”, por aspirar a lo ecológico, a medir grandes poblaciones imitando el mundo real. Con ese fin muy pocos sujetos eran excluidos en razón a su edad, medicación, patologías previas, etc.

Como ya se ha descrito, esta elevada desviación estándar ha penalizado mucho el peso relativo de nuestros resultados en el meta-análisis. Esta alta dispersión no se puede considerar anómala si la insertamos en su contexto: de los diecisiete estudios meta-analizados aparte del nuestro, once mostraban una DE superior a las 10 micras y 7 sobrepasaban las 15 micras.

En tercer lugar, dada la heterogeneidad de los síntomas clínicos y visuales en la EA, es teóricamente posible que existan ciertos subgrupos de pacientes con EA con lesiones significativas del sistema visual y otros que no. De esta forma, las discrepancias observadas se podrían deber a que unos estudios hayan capturado selectivamente unos sujetos u otros (208). Este argumento pierde mucha validez tras un estudio como el nuestro con miles de sujetos y enfoque ecológico en el cual la probabilidad de excluir o incluir selectivamente sujetos sólo de una u otra de esas hipotéticas fuentes es muy baja.

En cuarto lugar, las covariables consideradas en nuestro modelo podrían no ser suficientes para controlar la variabilidad entre grupos. En concreto, el presente estudio no consideró parámetros oculares importantes que podrían ser factores de confusión como la longitud axial y el área del disco óptico, entre otros (212).

En quinto lugar, el subestudio de biomarcadores de PET de amiloide se hizo retrospectivamente y la corrección por edad se hizo emparejando ésta en grupos diagnósticos y no por ANCOVA.

Por último, a pesar del esfuerzo puesto en tratar de reproducir las condiciones habituales de una clínica de memoria, aquellos pacientes con demencias

DISCUSIÓN

avanzadas (GDS=6 o más) no participaron. El hecho de que nuestro trabajo esté basado pues en una muestra de conveniencia impide calificarlo de estudio de observación / ecológico en una UM, en sentido estricto.

8.7. Implicaciones de la alta prevalencia de retinopatías en el estudio

Capítulo aparte merecen los hallazgos de prevalencia de oftalmopatías en una UM. Uno de cada cuatro individuos (24,4%) tenían hallazgos que dificultaban o impedían la correcta lectura de la OCT.

Como ya se ha comentado, el glaucoma seguido de la DMAE es la patología más prevalente. Casi uno de cada seis sujetos que acuden a una clínica de memoria han sido diagnosticados de una o de otra patología degenerativa de la retina. Estos porcentajes aumentan en la población mayor de 70 años. Además por cada 100 pacientes que acudían a la UM con un diagnóstico firme de glaucoma (esto es con tratamiento tópico o quirúrgico y seguimiento por un retinólogo por esa patología) había más de 20 que acudían con PIO>24 mm Hg y sin ningún diagnóstico ni estudio oftalmológico, una presión de riesgo de glaucoma de ángulo abierto. Este dato habla de la importancia que puede tener el cribaje y las revisiones oftalmológicas generales para un diagnóstico precoz en población general de edad avanzada.

A pesar de los factores de riesgo y los mecanismos etiopatogénicos comunes, nuestros datos no muestran que el diagnóstico de glaucoma sea más frecuente en pacientes con demencia tipo EA que en sujetos sanos de una unidad de memoria. Este hallazgo choca con la idea establecida de que la prevalencia de glaucoma aumenta en pacientes con EA (261,355) en comparación con la población general. La relación inversa está aún menos clara: hay estudios que afirman que la prevalencia de EA en los pacientes con glaucoma se multiplica (251,258) mientras otros lo niegan (259). Nuestro grupo de investigación en otro artículo (247), tras corregir por edad y otras covariables, no encontró diferencia ni en la prevalencia de glaucoma ni en la de DMAE comparando sujetos sanos y con demencia. La principal diferencia de aquel estudio con respecto al nuestro era que en su definición de demencia no sólo entraba EA sino también la causada por daño cerebrovascular y por otras patologías neurodegenerativas menos frecuentes.

DISCUSIÓN

Otro dato relevante de nuestro estudio es que el parámetro de OCT que mejor separaba sanos de enfermos no era el grosor retiniano sino la calidad de imagen, significativamente peor en la demencia EA que en los controles.

También fue llamativo que a pesar de que los pacientes con EA probable eran de promedio (79 años) 13 años mayores que los controles (66 años), porcentualmente usaban menos lentes de corrección y tratamientos tópicos oftalmológicos. Y todo ello a pesar de que la incidencia de muchas oftalmopatías no hace sino crecer en edades avanzadas. Este hecho es preocupante porque se sabe que los déficits sensoriales como los visuales impactan y potencian especialmente las alteraciones cognitivas de personas con demencia. Ello repercute en una mayor mortalidad, más aislamiento social y mayor ansiedad. En definitiva, en una peor calidad de vida (287,288).

Estos hallazgos concuerdan con los del ya citado estudio de la Fundació ACE (247) que continuó la cohorte NORFACE. Dicho trabajo fue realizado posteriormente al de esta tesis y usó un tomógrafo de mayor definición (DRI OCT Triton Topcon, *Swept Source*). Los nuevos resultados probaron que los pacientes que vivían con demencia presentaban peor agudeza visual y una menor atención de la salud visual (entendida ésta como menos indicación de cirugías oftalmológicas y de prescripción de gafas y colirios).

Entre las explicaciones que se pueden barajar está que el deterioro cognitivo genere anosognosia (281) o alteración del lenguaje de manera tal que los pacientes no sean conscientes de su déficit visual o no lo comuniquen satisfactoriamente.

Otra posibilidad es que los familiares con los que convivan o los cuidadores de las residencias (249) en las que se alojen, adopten actitudes cada vez menos invasivas cuando el sujeto pierda autonomía y lo sobreprotejan de entornos desconocidos o rupturas de su rutina como son todas aquellas visitas clínicas que no consideran estrictamente necesarias. Este mismo fenómeno está descrito incluso en los médicos de manera tal que la demencia “eclipsa” la realización de diagnósticos nuevos o/y complejos o enfoques terapéuticos más incisivos (248).

DISCUSIÓN

En resumen, los datos de prevalencia de patología oftálmica y tratamientos correctores, resultado de este trabajo de tesis apuntan a que es preciso realizar más frecuentemente pruebas de cribaje de salud visual a la población con EA y ser más intervencionista con las terapias de corrección u optimización visual.

Este hecho es de especial relevancia en la fase de demencia tipo EA porque se sabe que redundará en una mejora de su calidad de vida y en disminuir la sobrecarga de sus cuidadores.

La presente tesis doctoral aporta a los estudios anteriores sobre biomarcadores aislados de neurorretina en EA un carácter exhaustivo pues los estudia todos y con un método más riguroso (estudio prospectivo con inclusión consecutiva, doble ciego, enfoque de alta validez externa) en una muestra que multiplica el tamaño de las anteriores y con una caracterización neuropsicológica y clínica más detallada. También es novedoso porque para aumentar la certeza:

- Biológica: hemos reproducido los hallazgos usando diagnósticos con biomarcadores de PET de amiloide.
- Estadística: se han analizado los componentes principales de todas las variables neurorretinianas prometedoras con un análisis factorial y se ha hecho un análisis de conglomerados para comprobar si los sujetos de los grupos clínicos se podían segregar por algún parámetro retiniano. Ambos estudios demostraron la nula capacidad discriminante en la EA.

Por último, examina el estado del arte mediante una revisión sistemática y un meta-análisis.

8. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1. La OCT es una técnica que por su inocuidad, su rapidez de ejecución y la escasa colaboración que requiere se puede insertar con facilidad en la rutina de una unidad de memoria (UM) a nivel masivo hasta el estadio de demencia moderada.
2. Las áreas neuroretinianas estudiadas mediante OCT en disco (grosor promedio y de los cuadrantes superior, inferior, nasal y temporal de RNFL) y mácula (grosor promedio de RNFL, de GCL y de retina total y en las 9 áreas ETDRS y volumen macular total) no son biomarcadores con capacidad discriminante suficiente en el deterioro cognitivo tipo Alzheimer. El diagnóstico con biomarcadores de PET de amiloide confirmó los hallazgos.
3. No se hallaron diferencias en las variables neuroretinianas según su estatus amiloide: ni entre controles PET positivo (EA preclínica) versus PET negativo ni entre DCL PET positivo (EA prodrómica) versus DCL PET negativo.
4. Si bien los resultados crudos mostraban cierto adelgazamiento progresivo proporcional al grado de deterioro cognitivo, comparable al de los estudios seminales que aventuraron su papel como biomarcadores, cuando se corrige por covariables, principalmente la edad, desaparece cualquier efecto significativo.
5. La edad era el principal confusor de los estudios pues con el envejecimiento se adelgaza la retina y aumenta la neurodegeneración y la prevalencia de patologías oculares primarias que también aminoran el grosor retiniano. Cualquier nuevo estudio sobre biomarcadores de retina debería corregir por edad, estrictamente.
6. Las únicas dos áreas que probaron un efecto discriminador estadísticamente significativo y sólo en el modelo caso-control (sanos cognitivos versus demencia EA) fueron el área nasal y superior del anillo interno ETDRS. Su adelgazamiento en demencia era de 4,7 y 3,7 micras, respectivamente, esto es, por debajo del nivel de resolución de la OCT-SD. Este cálculo descarta ambas medidas como biomarcadores. Cuando ambas áreas se corrigieron por comparaciones múltiples, su efecto no sobrepasó el umbral estadístico de significación.
7. Cualquier combinación entre las 27 variables neuroretinianas más prometedoras en la literatura o de sus componentes obtenidos tras un análisis factorial de las mismas demostró una falta de poder discriminante para el deterioro cognitivo. Un análisis de conglomerados corroboró este hecho.

CONCLUSIONES

8. El glaucoma, seguido de la DMAE y la ambliopía eran las oftalmopatías más frecuentes en una UM (hasta un quinto de los usuarios las padecían).
9. El glaucoma no se demostró más prevalente en el grupo de demencia tipo EA que en los controles, a pesar de la supuesta comorbilidad existente.
10. Los pacientes con demencia tipo EA usaban menos tratamientos tópicos oculares y lentes correctoras, a pesar de tener una edad promedio superior. Esto podría indicar que reciben peor vigilancia y cuidados oftalmológicos insuficientes y la necesidad de revisiones periódicas de salud visual en este grupo.
11. El grosor peripapilar de RNFL debería corregirse por la calidad de imagen de OCT en futuros estudios de OCT y EA pues es la covariable que mas lo afecta.
12. La calidad de imagen (y no el grosor retiniano) era el único parámetro de la OCT capaz de discernir entre fenotipos cognitivos.
13. Cada nuevo meta-análisis sobre el grosor de RNFL peripapilar en el deterioro cognitivo reduce la magnitud del supuesto adelgazamiento reportado en los primeros estudios. El nuestro redujo la magnitud del adelgazamiento sólo en una micra pero no cambió el estado de la cuestión.
14. La alta heterogeneidad y el sesgo de publicación de los meta-análisis publicados hasta la fecha, dificultan la comparación y extracción de conclusiones válidas.

9. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

1. Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *Lancet*. 2006;368(9533):387-403.
2. World Alzheimer Report 2018 | Alzheimer's Disease International. Available from: <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018>
3. Prieto Jurczynska C, Eimil Ortiz M, López de Silanes de Miguel C, Llanero Luque M, Villarejo Galende A. Impacto Social De La Enfermedad De Alzheimer Y Otras Demencias. Actualización 2017. *Inf La Fund Del Cereb*. 2017;1-42.
4. WHO. Dementia: a public health priority. World Health Organization; 2016; Available: http://www.who.int/mental_health/publications/dementia_report_2012/en
5. Giulietti A, Vignini A, Nanetti L, Mazzanti L, Di Primio R, Salvolini E. Alzheimer's Disease Risk and Progression: The Role of Nutritional Supplements and their Effect on Drug Therapy Outcome. *Curr Neuropharmacol*. Bentham Science Publishers; 2016;14(2):177-90.
6. Gatz M, Reynolds CA, Fratiglioni L, Johansson B, Mortimer JA, Berg S, et al. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry*. American Medical Association; 2006 Feb 1;63(2):168-74.
7. Van der Flier WM, Pijnenburg YAL, Schoonenboom SNM, Dik MG, Blankenstein MA, Scheltens P. Distribution of APOE genotypes in a memory clinic cohort. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2008 Jan;25(5):433-8.
8. Van der Flier WM, Schoonenboom NSM, Pijnenburg Y AI, Fox NC, Scheltens P. The effect of APOE genotype on clinical phenotype in. *Neurology*. 2006;67:526-7.
9. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, et al. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science (80-)*. *Science*; 1993;261(5123):921-3.
10. Hardy J, Selkoe DJ. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and

- problems on the road to therapeutics. *Science*. Science; 2002. p. 353–6.
11. Reitz C. Alzheimer's disease and the amyloid cascade hypothesis: a critical review. *Int J Alzheimers Dis*. 2012 Jan;2012:369808.
 12. Iqbal K, Del C. Alonso A, Chen S, Chohan MO, El-Akkad E, Gong CX, et al. Tau pathology in Alzheimer disease and other tauopathies. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. *Biochim Biophys Acta*; 2005. p. 198–210.
 13. Cohen RM, Rezai-Zadeh K, Weitz TM, Rentsendorj A, Gate D, Spivak I, et al. A transgenic Alzheimer rat with plaques, tau pathology, behavioral impairment, oligomeric $\text{A}\beta$, and frank neuronal loss. *J Neurosci*. NIH Public Access; 2013 Apr 10;33(15):6245–56.
 14. Webber K, Casadesus G, Zhu X, Obrenovich M, Atwood C, Perry G, et al. The Cell Cycle and Hormonal Fluxes in Alzheimer Disease: A Novel Therapeutic Target. *Curr Pharm Des*. Bentham Science Publishers Ltd.; 2006 Jan 30;12(6):691–7.
 15. Aisen PS. The potential of anti-inflammatory drugs for the treatment of Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*. 2002;1(5):279-284. doi:10.1016/s1474-4422(02)00133-3
 16. Gibson GE, Huang HM. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. *Neurobiol Aging*. 2005;26(5):575-578.
 17. Reddy PH, Beal MF. Are mitochondria critical in the pathogenesis of Alzheimer's disease? *Brain Res Brain Res Rev*. 2005;49(3):618-632.
 18. Berchtold NC, Cotman CW. Evolution in the conceptualization of dementia and Alzheimer's disease: Greco-Roman period to the 1960s. *Neurobiol Aging*. Elsevier Inc.; 1998;19(3):173–89.
 19. Bature F, Guinn B, Pang D, Pappas Y. Signs and symptoms preceding the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic scoping review of literature from 1937 to 2016. *BMJ Open*. British Medical Journal Publishing Group; 2017 Aug 1;7(8):e015746.

20. Jessen F, Amariglio RE, Van Boxtel M, Breteler M, Ceccaldi M, El G, et al. A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease Subjective Cognitive Decline Initiative (SCD-I) Working Group. *Alzheimers Dement*. 2014;10(6):844-852.
21. Mitchell a J, Beaumont H, Ferguson D, Yadegarfar M, Stubbs B. Risk of dementia and mild cognitive impairment in older people with subjective memory complaints: meta-analysis. *Acta Psychiatr Scand*. 2014 Sep;1-13.
22. Mol MEM, van Boxtel MPJ, Willems D, Jolles J. Do subjective memory complaints predict cognitive dysfunction over time? A six-year follow-up of the Maastricht Aging Study. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2006 May;21(5):432-41.
23. Buckley RF, Maruff P, Ames D, Bourgeat P, Martins RN, Masters CL, et al. Subjective memory decline predicts greater rates of clinical progression in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. Elsevier Inc.; 2016;(February):1-9.
24. Gorno-Tempini ML, Hillis a E, Weintraub S, Kertesz A, Mendez M, Cappa SF, et al. Classification of primary progressive aphasia and its variants. *Neurology*. 2011 Mar 15;76(11):1006-14.
25. Petersen RC, Stevens JC, Ganguli M, Tangalos EG, Cummings JL, DeKosky ST. Practice parameter: early detection of dementia: mild cognitive impairment (an evidence-based review). Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*. 2001 May 8;56(9):1133-42.
26. Gainotti G, Quaranta D, Vita MG, Marra C. Neuropsychological predictors of conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2014;38(3):481-95.
27. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, Dubois B, Feldman HH, Fox NC, et al. The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. Elsevier Inc.; 2011;7(3):270-9.

28. Starkstein SE, Jorge R, Mizrahi R, Robinson RG. A prospective longitudinal study of apathy in Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2006 Jan;77(1):8–11.
29. Diniz BS, Butters MA, Albert SM, Dew MA, Reynolds CF. Late-life depression and risk of vascular dementia and Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis of community-based cohort studies. *Br J Psychiatry*. 2013;202(5):329–35.
30. Khalsa DS. Stress, Meditation, and Alzheimer's Disease Prevention: Where The Evidence Stands. *J Alzheimers Dis*. IOS Press; 2015;48(1):1–12.
31. Winblad B, Palmer K, Kivipelto M, Jelic V, Fratiglioni L, Wahlund L-O, et al. Mild cognitive impairment - beyond controversies, towards a consensus: report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J Intern Med*. 2004 Sep;256(3):240–6.
32. Vernooij-Dassen MJFJ, Moniz-Cook ED, Woods RT, De Lepeleire J, Leuschner A, Zanetti O, et al. Factors affecting timely recognition and diagnosis of dementia across Europe: From awareness to stigma. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2005;20(4):377–86.
33. Jessen F, Wiese B, Bickel H, Eiffländer-Gorfer S, Fuchs A, Kaduszkiewicz H, et al. Prediction of dementia in primary care patients. *PLoS One*. 2011;6(2):e16852.
34. Sikkes S, de Lange-de Klerk E, Pijnenburg Y, Scheltens P, Uitdehaag BMJ. A systematic review of Instrumental Activities of Daily Living scales in dementia: room for improvement. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009;80:7–12.
35. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: A review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;66(2):137-147.
36. Yiannopoulou KG, Papageorgiou SG. Current and future treatments for

- Alzheimer's disease. *Ther Adv Neurol Disord*. 2013 Jan;6(1):19–33.
37. Morris JC, Storandt M, Miller JP, McKeel DW, Price JL, Rubin EH, et al. Mild Cognitive Impairment Represents Early-Stage Alzheimer Disease. *Arch Neurol*. American Medical Association; 2001 Mar 1;58(3):124–9.
 38. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Cummings JL, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol*. 2010 Nov;9(11):1118–27.
 39. Bondi MW, Edmonds EC, Jak AJ, Clark LR, Delano-Wood L, McDonald CR, et al. Neuropsychological Criteria for Mild Cognitive Impairment Improves Diagnostic Precision, Biomarker Associations, and Progression Rates. *J Alzheimer's Dis*. 2014;42(1):275–89.
 40. Petersen RC, Caracciolo B, Brayne C, Gauthier S, Jelic V, Fratiglioni L. Mild cognitive impairment: A concept in evolution. *J Intern Med*. 2014;275(3).
 41. Espinosa A, Alegret M. A longitudinal follow-up of 550 mild cognitive impairment patients: evidence for large conversion to dementia rates and detection of major risk factors involved. *J Alzheimers Dis*. 2013;34(2013):769–80.
 42. Grundman M, Petersen RC, Ferris SH, Thomas RG, Aisen PS, Bennett DA, et al. Mild Cognitive Impairment Can Be Distinguished from Alzheimer Disease and Normal Aging for Clinical Trials. *Arch Neurol*. *Arch Neurol*; 2004 Jan;61(1):59–66.
 43. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild cognitive impairment: Clinical characterization and outcome. *Arch Neurol*. American Medical Association; 1999;56(3):303–8.
 44. Moulin CJA, James N, Freeman JE, Jones RW. Deficient Acquisition and Consolidation: Intertrial Free Recall Performance in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *J Clin Exp Neuropsychol*. *J Clin Exp Neuropsychol*; 2004 Feb;26(1):1–10.

BIBLIOGRAFÍA

45. Harada CN, Natelson Love MC, Triebel KL. Normal cognitive aging. *Clin Geriatr Med.* 2013;29(4):737-752.
46. Reisberg B, Ferris SH, De Leon MJ, Crook T. The global deterioration scale for assessment of primary degenerative dementia. *Am J Psychiatry.* *Am J Psychiatry;* 1982;139(9):1136–9.
47. Morris JC. The clinical dementia rating (cdr): Current version and scoring rules. *Neurology.* *Neurology;* 1993;43(11):2412–4.
48. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J J Intern Med.* 2004;256(3):183-194. doi:10.1111/j.1365-2796.2004.01388.x
49. Nordlund A, Rolstad S, Göthlin M, Edman K, Hansen S, Wallin A. Cognitive profiles of incipient dementia in the goteborg MCI study. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010;30(5):403-410.
50. Fischer P, Jungwirth S, Zehetmayer S, Weissgram S, Hoenigschnabl S, Gelpi E, et al. Conversion from subtypes of mild cognitive impairment to Alzheimer dementia. *Neurology.* *Neurology;* 2007 Jan;68(4):288–91.
51. Jungwirth S, Zehetmayer S, Hinterberger M, Tragl KH, Fischer P. The validity of amnesic MCI and non-amnesic MCI at age 75 in the prediction of Alzheimer's dementia and vascular dementia. *Int Psychogeriatrics.* *Int Psychogeriatr;* 2012 Jun;24(6):959–66.
52. Alexopoulos P, Grimmer T, Pernecky R, Domes G, Kurz A. Progression to dementia in clinical subtypes of mild cognitive impairment. *Dement Geriatr Cogn Disord.* *Dement Geriatr Cogn Disord;* 2006 Jun;22(1):27–34.
53. Schmidtke K, Hermeneit S. High rate of conversion to Alzheimer's disease in a cohort of amnesic MCI patients. *Int Psychogeriatrics.* *Int Psychogeriatr;* 2008 May;20(1):96–108.
54. Maioli F, Coveri M, Pagni P, Chiandetti C, Marchetti C, Ciarrocchi R, et al. Conversion of mild cognitive impairment to dementia in elderly subjects: A

BIBLIOGRAFÍA

- preliminary study in a memory and cognitive disorder unit. *Arch Gerontol Geriatr*. 2007;44(SUPPL.):233–41.
55. Lopez OL, Jagust WJ, DeKosky ST, Becker JT, Fitzpatrick A, Dulberg C, et al. Prevalence and Classification of Mild Cognitive Impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol*. 2003 Oct 1;60(10):1385.
56. Lopez OL, Kuller LH, Becker JT, Dulberg C, Sweet RA, Gach HM, et al. Incidence of Dementia in Mild Cognitive Impairment in the Cardiovascular Health Study Cognition Study. *Arch Neurol*. 2007 Mar 1;64(3):416.
57. Zekry D, Hauw JJ, Gold G. Mixed dementia: Epidemiology, diagnosis, and treatment. *J Am Geriatr Soc*. 2002;50(8):1431-1438.
58. Sánchez-Benavides G, Peña-Casanova J, Casals-Coll M, Gramunt N, Molinuevo JL, Gómez-Ansón B, et al. Cognitive and neuroimaging profiles in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: data from the Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project). *J Alzheimers Dis*. 2014;41(3):887–901.
59. Pena-Casanova J, Blesa R, Aguilar M, Gramunt-Fombuena N, Gomez-Anson B, Oliva R, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): Methods and Sample Characteristics. *Arch Clin Neuropsychol*. 2009;24(4):307–19.
60. Del Ser Quijano T, Sánchez-Sánchez F, García De Yébenes MJ, Otero A, Muñoz DG. Validation of the seven-minute screen neurocognitive battery for the diagnosis of dementia in a Spanish population-based sample. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2006 Nov;22(5-6):454–64.
61. Blesa R, Pujol M, Aguilar M, Santacruz P, Bertran-Serra I, Hernández G, et al. Clinical validity of the “mini-mental state” for Spanish speaking communities. *Neuropsychologia*. 2001 Jan;39(11):1150–7.
62. Böhm P, Peña-Casanova J, Gramunt N, Manero RM, Terrón C, Quiñones Úbeda S. Versión Española del Memory Impairment Screen (MIS): Datos normativos y de validez discriminativa. *Neurologia*. 2005 Oct;20(8):402–11.

63. Rami L, Bosch B, Valls-Pedret C, Caprile C, Sánchez-Valle Díaz R, Molinuevo JL. Discriminatory validity and association of the mini-mental test (MMSE) and the memory alteration test (M@T) with a neuropsychological battery in patients with amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Rev Neurol. Revista de Neurologia*; 2009;49(4):169–74.
64. Alegret M, Espinosa A, Valero S, Vinyes-Junqué G, Ruiz A, Hernández I, et al. Cut-off Scores of a Brief Neuropsychological Battery (NBACE) for Spanish Individual Adults Older than 44 Years Old. *PLoS One*. 2013;8(10):1–8.
65. Alegret M, Espinosa A, Vinyes-Junqué G, Valero S, Hernández I, Tárraga L, et al. Normative data of a brief neuropsychological battery for Spanish individuals older than 49. *J Clin Exp Neuropsychol*. 2012 Jan;34(2):209–19.
66. McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. Lippincott Williams & Wilkins; 1984 Jul;34(7):939–44.
67. Pichot P, López-Ibor Aliño JJ, Valdés Miyar M. *DSM-IV Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales*. 1995.
68. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Dunn B, Haeberlein SB, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2018;14(4):535-562.
69. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, Hyman BT, Jack CR, Kawas CH, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. NIH Public Access; 2011 May;7(3):263–9.
70. Lim A, Tsuang D, Kukull W, Nochlin D, Leverenz J, McCormick W, et al. Clinico-neuropathological correlation of Alzheimer's disease in a community-based case series. *J Am Geriatr Soc*. Lippincott Williams and Wilkins; 1999;47(5):564–9.

71. Rachakonda V, Pan TH, Le WD. Biomarkers of neurodegenerative disorders: How good are they?. *Cell Res.* 2004;14(5):347-358. doi:10.1038/sj.cr.7290235
72. Jack CR, Holtzman DM. Biomarker modeling of alzheimer's disease. *Neuron.* Elsevier Inc.; 2013;80(6):1347–58.
73. Diniz BSO, Pinto JA, Forlenza OV. Do CSF total tau, phosphorylated tau, and β -amyloid 42 help to predict progression of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease? A systematic review and meta-analysis of the literature. *World J Biol Psychiatry.* Taylor & Francis; 2008 Jan 12;9(3):172–82.
74. Galasko D. Expanding the Repertoire of Biomarkers for Alzheimer's Disease: Targeted and Non-targeted Approaches. *Front Neurol.* 2015;6:256. Published 2015 Dec 16. doi:10.3389/fneur.2015.00256
75. Alexopoulos P, Kriett L, Haller B, Klupp E, Gray K, Grimmer T, et al. Limited agreement between biomarkers of neuronal injury at different stages of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* 2014;10(6):684–9.
76. Mattsson N, Andreasson U, Persson S, Carrillo MC, Collins S, Chalbot S, et al. CSF biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program. *Alzheimer's Dement.* 2013;9(3):251–61.
77. Richard E, Schmand B a., Eikelenboom P, Van Gool W a. MRI and cerebrospinal fluid biomarkers for predicting progression to Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a diagnostic accuracy study. *BMJ Open.* 2013 Jun 4;3(6):e002541–e002541.
78. Cedazo-Minguez A, Winblad B. Biomarkers for Alzheimer's disease and other forms of dementia: Clinical needs, limitations and future aspects. *Exp Gerontol.* *Exp Gerontol*; 2010 Jan;45(1):5–14.
79. Rodríguez-Gómez O, Abdelnour C, Jessen F, Valero S, Boada M. Influence of Sampling and Recruitment Methods in Studies of Subjective Cognitive Decline. *J Alzheimers Dis.* 2015 Jul 1;48:99–107.

80. Pires C, Silva D, Maroco J, Ginó S, Mendes T, Schmand B a, et al. Memory complaints associated with seeking clinical care. *Int J Alzheimers Dis.* 2012 Jan;2012:725329.
81. Archer HA, Newson MA, Coulthard EJ. Subjective Memory Complaints: Symptoms and Outcome in Different Research Settings. *J Alzheimers Dis.* 2015 Sep 24;48 Suppl 1:S109–14.
82. Snitz BE, Weissfeld LA, Cohen AD, Lopez OL, Nebes RD, Aizenstein HJ, et al. Subjective cognitive complaints, personality and brain amyloid-beta in cognitively normal older adults. *Am J Geriatr Psychiatry.* Elsevier Inc; 2015;23(9):985–93.
83. Risacher SL, Kim S, Nho K, Foroud T, Shen L, Petersen RC, et al. APOE effect on Alzheimer's disease biomarkers in older adults with significant memory concern. *Alzheimer's Dement.* Elsevier Inc.; 2015;11(12):1417–29.
84. Tsuang D, Kukull W, Sheppard L, Barnhart RL, Peskind E, Edland SD, et al. Impact of sample selection on APOE epsilon 4 allele frequency: a comparison of two Alzheimer's disease samples. *J Am Geriatr Soc.* 1996;44(6):704–7.
85. Verlinden VJA, Van Der Geest JN, De Bruijn RFAG, Hofman A, Koudstaal PJ, Ikram MA. Trajectories of decline in cognition and daily functioning in preclinical dementia. *Alzheimer's Dement.* 2016;12(2):144–53.
86. van der Vlies a E, Koedam ELGE, Pijnenburg Y a L, Twisk JWR, Scheltens P, van der Flier WM. Most rapid cognitive decline in APOE epsilon4 negative Alzheimer's disease with early onset. *Psychol Med.* 2009 Nov;39(11):1907–11.
87. Blacker D, Lee H. Neuropsychological measures in normal individuals that predict subsequent cognitive decline. *Arch Neurol.* 2007;64(6):862-871.
88. Rabin L, Wang C, Katz M. Predicting Alzheimer's Disease: Neuropsychological Tests, Self-Reports, and Informant Reports of Cognitive Difficulties. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60(6):1128–34.

BIBLIOGRAFÍA

89. Sá F, Pinto P, Cunha C, Lemos R, Letra L, Simões M, et al. Differences between Early and Late-Onset Alzheimer's Disease in Neuropsychological Tests. *Front Neurol.* 2012;3:81. Published 2012 May 14. doi:10.3389/fneur.2012.00081
90. Reed BR, Mungas DM, Kramer JH, Ellis W, Vinters H V, Zarow C, et al. Profiles of neuropsychological impairment in autopsy-defined Alzheimer's disease and cerebrovascular disease. *Brain.* 2007 Mar;130(Pt 3):731–9.
91. Kaiser NC, Melrose RJ, Liu C, Sultzer DL, Jimenez E, Su M, et al. Neuropsychological and neuroimaging markers in early versus late-onset Alzheimer's disease. *Am J Alzheimers Dis Other Demen.* 2012 Nov;27(7):520–9.
92. Whitwell JL, Wiste HJ, Weigand SD, Rocca WA, Knopman DS, Roberts RO, et al. Comparison of imaging biomarkers in the Alzheimer Disease Neuroimaging Initiative and the Mayo Clinic Study of Aging. *Arch Neurol.* 2012 May;69(5):614–22.
93. W.T. Longstreth, Jr, MD M, Teri A, Manolio, MD M, Alice Arnold P, Gregory L. Burke, MD M, Nick Bryan, MD, Charles A. Jungreis M, Paul L. Enright, MD; Daniel O'Leary M, et al. Clinical Correlates of White Matter Findings on Cranial Magnetic Resonance Imaging of 3301 Elderly People. *Stroke.* 1996;27:1274–82.
94. Gold BT, Zhu Z, Brown CA, Andersen AH, LaDu MJ, Tai L, et al. White matter integrity is associated with cerebrospinal fluid markers of Alzheimer's disease in normal adults. *Neurobiol Aging.* Elsevier Ltd; 2014;35(10):2263–71.
95. Weiner M, Veitch D, Aisen P. The Alzheimer's disease neuroimaging initiative: a review of papers published since its inception. *Alzheimer's Dement.* 2011;8:1–115.
96. Blennow HK, Zetterberg), Blennow K, Blennow K, Hampel H, Weiner M, et al. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat Publ Gr. Nature Publishing Group;* 2010;6(16104):131–44.
97. Fagan AM, Xiong C, Jasielec MS, Bateman RJ, Goate AM, Benzinger TLS, et al. Longitudinal change in CSF biomarkers in autosomal-dominant Alzheimer's disease. *Sci Transl Med.* 2014;6(226):226ra30.

98. Hall S. Accuracy of a Panel of 5 Cerebrospinal Fluid Biomarkers in the Differential Diagnosis of Patients With Dementia and/or Parkinsonian Disorders. Accuracy of CSF Biomarkers in Diagnosis. *Arch Neurol*. 2012;1.
99. Ritchie C, Smailagic N, Noel-Storr AH, Takwoingi Y, Flicker L, Mason SE, et al. Plasma and cerebrospinal fluid amyloid beta for the diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;6:CD008782.
100. Richards D, Sabbagh MN. Florbetaben for PET Imaging of Beta-Amyloid Plaques in the Brain. *Neurol Ther*. 2014 Nov 27;3(2):79–88.
101. Small G, Kepe V, Ercoli L. PET of brain amyloid and tau in mild cognitive impairment. *N Engl J Med*. 2006;335(25):2652–63.
102. Ossenkoppele R, Jansen WJ, Rabinovici GD, Knol DL, van der Flier WM, van Berckel BNM, et al. Prevalence of amyloid PET positivity in dementia syndromes: a meta-analysis. *Jama*. 2015 May 19;313(19):1939–49.
103. Syed YY, Deeks E. Florbetaben: A Review in β -Amyloid PET Imaging in Cognitive Impairment. *CNS Drugs*. Springer International Publishing; 2015;29(7):605–13.
104. Jack CR, Wiste HJ, Weigand SD, Knopman DS, Lowe V, Vemuri P, et al. Amyloid-first and neurodegeneration-first profiles characterize incident amyloid PET positivity. *Neurology*. 2013;81(20):1732–40.
105. Chiotis K, Carter SF, Farid K, Savitcheva I, Nordberg A. Amyloid PET in European and North American cohorts; and exploring age as a limit to clinical use of amyloid imaging. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2015;42(10):1492–506.
106. Cabeza R, Nyberg L. Imaging cognition II: An empirical review of 275 PET and fMRI studies. *J Cogn Neurosci*. 2000;12(1):1–47.
107. Palmqvist S, Zetterberg H, Mattsson N, Johansson P, Minthon L, Blennow K, et al.

BIBLIOGRAFÍA

- Detailed comparison of amyloid PET and CSF biomarkers for identifying early Alzheimer disease. *Neurology*. 2015;85(14):1240–9.
108. Frost S, Kanagasingam Y, Sohrabi H, Vignarajan J, Bourgeat P, Salvado O, et al. Retinal vascular biomarkers for early detection and monitoring of Alzheimer's disease. *Transl Psychiatry*. Nature Publishing Group; 2013;3(2):e233.
109. Sivak JM. The aging eye: Common degenerative mechanisms between the Alzheimer's brain and retinal disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*; 2013. p. 871–80.
110. Valenti DA. Alzheimer's disease and glaucoma: imaging the biomarkers of neurodegenerative disease. *Int J Alzheimers Dis*. 2011;2010:793931.
111. Guo L, Duggan J, Cordeiro M. Alzheimer's disease and retinal neurodegeneration. *Curr Alzheimer Res*. 2010;7:3–14.
112. Gharbiya M, Trebbastoni A, Parisi F, Manganiello S, Cruciani F, D'Antonio F, et al. Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer's disease: evidence from enhanced depth imaging spectral domain optical coherence tomography. *J Alzheimers Dis*. 2014 Jan;40(4):907–17.
113. Poroy C, Yücel AA. Optical Coherence Tomography: Is Really a New Biomarker for Alzheimer's Disease? *Ann Indian Acad Neurol*. Wolters Kluwer -- Medknow Publications; 2018;21(2):119–25.
114. Lad EM, Mukherjee D, Stinnett SS, Cousins SW, Potter GG, Burke JR, et al. Evaluation of inner retinal layers as biomarkers in mild cognitive impairment to moderate Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2018;13(2).
115. Shi Z, Wu Y, Wang M, Cao J, Feng W, Cheng Y, et al. Greater attenuation of retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer's disease patients. *J Alzheimers Dis*. 2014 Jan;40(2):277–83.
116. O'Bryhim B, RS A, Kung N, Coble D, GP VS. Association of preclinical alzheimer disease with optical coherence tomographic angiography findings. *JAMA*

- Ophthalmol. 2018;136(11):1242-1248.
117. Jansen WJ, Ossenkoppele R, Knol DL, Tijms BM, Scheltens P, Verhey FRJ, et al. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: A meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc. American Medical Association*; 2015 May 19;313(19):1924–38.
118. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, Hampel H, Molinuevo JL, Blennow K, et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer’s disease: The IWG-2 criteria. *The Lancet Neurology*. 2014;13(6):614-629.
119. Visser PJ, Vos S, Van Rossum I, Scheltens P. Comparison of international working group criteria and national institute on aging-alzheimer’s association criteria for alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2012;8(6):560-563.
120. Vos SJB, Verhey F, Frislich L, Kornhuber J, Wiltfang J, Maier W, et al. Prevalence and prognosis of Alzheimer’s disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain*. 2015;138(5):1327–38.
121. Smailagic N, Vacante M, Hyde C, Martin S, Ukoumunne O, Sachpekidis C. ¹⁸F-FDG PET for the early diagnosis of Alzheimer’s disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;1(1):CD010632. Published 2015 Jan 28. doi:10.1002/14651858.CD010632.pub2
122. Zhang S, Smailagic N, Hyde C, Noel-Storr AH, Takwoingi Y, McShane R, et al. (11)C-PIB-PET for the early diagnosis of Alzheimer’s disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;2014(7):CD010386. Published 2014 Jul 23. doi:10.1002/14651858.CD010386.pub2
123. Engler H, Forsberg A, Almkvist O, Blomquist G, Larsson E, Savitcheva I, et al. Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer’s disease. *Brain*. 2006 Sep 29;129(11):2856–66.
124. MacGillivray TJ, Trucco E, Cameron JR, Dhillon B, Houston JG, van Beek EJR.

- Retinal imaging as a source of biomarkers for diagnosis, characterization and prognosis of chronic illness or long-term conditions. *Br J Radiol. British Institute of Radiology*; 2014 Aug;87(1040):20130832.
125. Prasad S, Galetta SL. Anatomy and physiology of the afferent visual system. *Handbook of Clinical Neurology. Handb Clin Neurol.* 2011;102:3-19. doi:10.1016/B978-0-444-52903-9.00007-8
126. Hoon M, Okawa H, Della Santina L, Wong ROL. Functional architecture of the retina: Development and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2014;42:44-84. doi:10.1016/j.preteyeres.2014.06.003
127. Mahajan D, Votruba M. Can the retina be used to diagnose and plot the progression of Alzheimer's disease? *Acta Ophthalmologica.* 2017;95(8):768-777.
128. Livingstone M, Hubel D. Segregation of form, color, movement, and depth: Anatomy, physiology, and perception. *Science (80-)*. *Science*; 1988 ;240(4853):740–9.
129. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain-from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol. Nature Publishing Group*; 2013;9(1):44–53.
130. Caine D. Posterior cortical atrophy: A review of the literature. *Neurocase.* 2004;10(5):382–5.
131. McKeith IG, Boeve BF, Dickson DW, Halliday G, Taylor JP, Weintraub D, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies. *Neurology.* 2017;89(1):88-100. doi:10.1212/WNL.0000000000004058
132. Boller F, Birnbaum DS, Caputi N. Charles Bonnet Syndrome and Other Hallucinatory Phenomena. *Front Neurol Neurosci.* 2018;41:117-124. doi:10.1159/000475702
133. Jurišić D, Sesar I, Cavar I, Sesar A, Zivkovic M, Curkovic M. Hallucinatory experiences in visually impaired individuals: Charles bonnet syndrome –

BIBLIOGRAFÍA

- Implications for research and clinical practice. *Psychiatr Danub*. 2018;30(2):122-128. doi:10.24869/psyd.2018.122
134. Sadun AA, Borchert M, DeVita E, Hinton DR, Bassi CJ. Assessment of visual impairment in patients with Alzheimer's disease. *Am J Ophthalmol*. 1987 Aug 15;104(2):113–20.
135. Katz B, Rimmer S. Ophthalmologic manifestations of Alzheimer's disease. *Surv Ophthalmol*;34(1):31–43.
136. Cronin-Golomb A, Corkin S, Rizzo JF, Cohen J, Growdon JH, Banks KS. Visual dysfunction in Alzheimer's disease: Relation to normal aging. *Ann Neurol*. 1991 Jan;29(1):41–52.
137. Cogan DG. Visual disturbances with focal progressive dementing disease. *Am J Ophthalmol*. 1985 Jul 15;100(1):68–72.
138. Mendez MF, Cherrier MM, Meadows RS. Depth Perception in Alzheimer's Disease. *Percept Mot Skills*. SAGE PublicationsSage CA: Los Angeles, CA; 1996 Dec;83(3):987–95.
139. Gilmore GC, Wenk HE, Naylor LA, Koss E. Motion perception and Alzheimer's disease. *J Gerontol*. 1994 Mar;49(2):P52–7.
140. Cronin-Golomb A. Vision in Alzheimer's disease. *Gerontologist*. Gerontological Society of America; 1995;35(3):370–6.
141. Trick GL, Trick LR, Morris P, Wolf M. Visual field loss in senile dementia of the alzheimer's type. *Neurology*; 1995;45(1):68–74.
142. Gilmore GC, Whitehouse PJ. Contrast sensitivity in alzheimer's disease: A 1-year longitudinal analysis. *Optom Vis Sci*. *Optom Vis Sci*; 1995;72(2):83–91.
143. Hutton JT, Morris JL, Elias JW, Poston JN. Contrast sensitivity dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurology*. 1993 Nov;43(11):2328–30.

BIBLIOGRAFÍA

144. Zaccara G, Gangemi PF, Muscas GC, Paganini M, Pallanti S, Parigi A, et al. Smooth-pursuit eye movements: alterations in Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*; 1992;112(1-2):81–9.
145. Fletcher WA, Sharpe JA. Smooth pursuit dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurology*; 1988;38(2):272–7.
146. Chiu PY, Hsu MH, Wang CW, Tsai CT, Pai MC. Visual hallucinations in Alzheimer's disease is significantly associated with clinical diagnostic features of dementia with Lewy bodies. *PLoS One*; 2017 Oct 1;12(10).
147. Hof PR, Morrison JH. Quantitative analysis of a vulnerable subset of pyramidal neurons in Alzheimer's disease: II. Primary and secondary visual cortex. *J Comp Neurol. J Comp Neurol*; 1990;301(1):55–64.
148. Rizzo JF, Cronin Golomb A, Growdon JH, Corkin S, Rosen TJ, Sandberg MA, et al. Retinocalcarine Function in Alzheimer's Disease: A Clinical and Electrophysiological Study. *Arch Neurol. Arch Neurol*; 1992;49(1):93–101.
149. Morrison JH, Hof PR, Bouras C. An anatomic substrate for visual disconnection in Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1991;640:36-43.
150. Armstrong RA. Visual field defects in Alzheimer's disease patients may reflect differential pathology in the primary visual cortex. *Optom Vis Sci. Williams & Wilkins Co*; 1996;73(11):677–82.
151. McKee AC, Au R, Cabral HJ, Kowall NW, Seshadri S, Kubilus CA, et al. Visual association pathology in preclinical Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*; 2006 Jun;65(6):621–30.
152. Frisoni G, Fox N, Jack C, Scheltens P, Thompson PM. The clinical use of structural MRI in Alzheimer disease. *Nat Rev Neurol*. 2010;6(2):67–77.
153. Pearson RCA, Esiri MM, Hiorns RW, Wilcock GK, Powell TP. Anatomical correlates of the distribution of the pathological changes in the neocortex in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 1985;82(13):4531–4.

BIBLIOGRAFÍA

154. Mendez MF, Mendez MA, Martin R, Smyth KA, Whitehouse PJ. Complex visual disturbances in alzheimer's disease. *Neurology*. Neurology; 1990;40(3):439–43.
155. Nishioka C, Poh C, Sun SW. Diffusion tensor imaging reveals visual pathway damage in patients with mild cognitive impairment and alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*. IOS Press; 2015;45(1):97–107.
156. Paquet C, Boissonnot M, Roger F, Dighiero P, Gil R, Hugon J. Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*. 2007;420(2):97-99.
157. Iseri PK, Altina?? ??zg??l, Tokay T, Y??ksel N. Relationship between Cognitive Impairment and Retinal Morphological and Visual Functional Abnormalities in Alzheimer Disease. *J Neuro-Ophthalmology*. 2006 Mar;26(1):18–24.
158. Sadun AA, Bassi CJ. Optic nerve damage in Alzheimer's disease. *Ophthalmology*. 1990 Jan;97(1):9–17.
159. Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-Nerve Degeneration in Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. Massachusetts Medical Society ; 1986 Aug 21;315(8):485–7.
160. Ratchford JN, Quigg ME, Conger BA, Frohman BT, Frohman BE, Balcer LJ, et al. Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies. *Neurology*. 2009;73(4):302-308.
161. Moreno-Ramos T, Benito-León J, Villarejo A, Bermejo-Pareja F. Retinal nerve fiber layer thinning in dementia associated with Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2013 Jan;34(3):659–64.
162. Martinez-Lapiscina EH, Arnow S, Wilson JA, Saidha S, Preiningerova JL, Oberwahrenbrock T, et al. Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening in multiple sclerosis: a cohort study. *Lancet Neurol*. 2016 May;15(6):574–84.

BIBLIOGRAFÍA

163. Danesh-Meyer H V., Birch H, Ku JYF, Carroll S, Gamble G. Reduction of optic nerve fibers in patients with Alzheimer disease identified by laser imaging. *Neurology*. *Neurology*; 2006 Nov;67(10):1852–4.
164. Tsai CS, Ritch R, Schwartz B, Lee SS, Miller NR, Chi T, et al. Optic nerve head and nerve fiber layer in Alzheimer's disease. *Arch Ophthalmol (Chicago, Ill 1960)*. 1991 Feb;109(2):199–204.
165. Scinto LFM, Daffner KR, Dressler D, Ransil BI, Rentz D, Weintraub S, et al. A potential noninvasive neurobiological test for Alzheimer's disease. *Science (80-)*. *Science*; 1994;266(5187):1051–4.
166. Iijima A, Haida M, Ishikawa N, Ueno A, Minamitani H, Shinohara Y. Re-evaluation of tropicamide in the pupillary response test for Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. Elsevier Inc.; 2003;24(6):789–96.
167. Gómez-Tortosa E, Del Barrio A, Jiménez-Alfaro I. Pupil response to tropicamide in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Acta Neurol Scand*. Blackwell Publishing Ltd; 1996;94(2):104–9.
168. Scinto LFM. ApoE allelic variability influences pupil response to cholinergic challenge and cognitive impairment. *Genes, Brain Behav*. *Genes Brain Behav*; 2007 Apr;6(3):209–15.
169. Scinto LFM. Pupillary cholinergic hypersensitivity predicts cognitive decline in community dwelling elders. *Neurobiol Aging*. *Neurobiol Aging*; 2008 Feb;29(2):222–30.
170. Löffler KU, Edward DP, Tso MO. Immunoreactivity against tau, amyloid precursor protein, and beta-amyloid in the human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995 Jan;36(1):24–31.
171. Perez SE, Lumayag S, Kovacs B, Mufson EJ, Xu S. β -Amyloid Deposition and Functional Impairment in the Retina of the APP^{swe}/PS1 Δ E9 Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Investig Ophthalmology Vis Sci*. 2009 Feb 1;50(2):793.

172. Ning A, Cui J, To E, Ashe KH, Matsubara J. Amyloid-beta deposits lead to retinal degeneration in a mouse model of Alzheimer disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. PMC Canada manuscript submission; 2008 Nov;49(11):5136–43.
173. Goldstein LE, Muffat JA, Cherny RA, Moir RD, Ericsson MH, Huang X, et al. Cytosolic β -amyloid deposition and supranuclear cataracts in lenses from people with Alzheimer's disease. *Lancet*. 2003 Apr 12;361(9365):1258–65.
174. Da Cunha RP, Moreira JBDC. Ocular findings in Down's syndrome. *Am J Ophthalmol*. 1996;122(2):236–44.
175. Snyder PJ, Johnson LN, Lim YY, Santos CY, Alber J, Maruff P, et al. Nonvascular retinal imaging markers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit*. 2016;4:169–78.
176. Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubeda OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS, et al. Curcumin inhibits formation of amyloid β oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J Biol Chem*; 2005 Feb 18;280(7):5892–901.
177. Ryu EK, Choe YS, Lee KH, Choi Y, Kim BT. Curcumin and dehydrozingerone derivatives: Synthesis, radiolabeling, and evaluation for β -amyloid plaque imaging. *J Med Chem*. 2006;49(20):6111-6119. doi:10.1021/jm0607193
178. Kerbage C, Sadowsky CH, Jennings D, Cagle GD, Hartung PD. Alzheimer's disease diagnosis by detecting exogenous fluorescent signal of ligand bound to beta amyloid in the lens of human eye: An exploratory study. *Front Neurol*. 2013;4:62
179. Johnson L V., Leitner WP, Rivest AJ, Staples MK, Radeke MJ, Anderson DH. The Alzheimer's A β -peptide is deposited at sites of complement activation in pathologic deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2002 Sep 3;99(18):11830–5.
180. Dentchev T, Milam AH, Lee VM-Y, Trojanowski JQ, Dunaief JL. Amyloid-beta is found in drusen from some age-related macular degeneration retinas, but not in drusen from normal retinas. *Mol Vis*. 2003;9(April):184–90.

181. Ukalovic K, Cao S, Lee S, Tang Q, Beg MF, Sarunic M V, et al. Drusen in the Peripheral Retina of the Alzheimer's Eye. *Curr Alzheimer Res. Bentham Science Publishers Ltd.*; 2018 Jan 23;15(8):743–50.
182. De La Torre JC. Pathophysiology of neuronal energy crisis in Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis.* 2008;5(3-4):126-132. doi:10.1159/000113681
183. Ruitenbergh A, Den Heijer T, Bakker SLM, Van Swieten JC, Koudstaal PJ, Hofman A, et al. Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: The Rotterdam Study. *Ann Neurol.* Ann Neurol; 2005 Jun;57(6):789–94.
184. Ellis RJ, Olichney JM, Thal LJ, Mirra SS, Morris JC, Beekly D, et al. Cerebral amyloid angiopathy in the brains of patients with Alzheimer's disease: The CERAD experience, part XV. *Neurology.* Lippincott Williams and Wilkins; 1996;46(6):1592–6.
185. Berisha F, Fekete GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(5):2285–9.
186. Al-Fiadh AH, Farouque O, Kawasaki R, Nguyen TT, Uddin N, Freeman M, et al. Retinal microvascular structure and function in patients with risk factors of atherosclerosis and coronary artery disease. *Atherosclerosis.* Elsevier Ireland Ltd; 2014;233(2):478–84.
187. Cheung CY, Ong YT, Ikram MK, Ong SY, Li X, Hilal S, et al. Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* Elsevier; 2014 Mar;10(2):135–42.
188. Heaton GR, Davis BM, Turner LA, Cordeiro MF. Ocular biomarkers of Alzheimer's disease. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* Cent Nerv Syst Agents Med Chem; 2015;15(2).
189. de Jong FJ, Schrijvers EMC, Ikram MK, Koudstaal PJ, de Jong PTVM, Hofman A, et al. Retinal vascular caliber and risk of dementia: the Rotterdam study. *Neurology.*; 2011 Mar 1;76(9):816–21.

190. Feke GT, Hyman BT, Stern R a., Pasquale LR. Retinal blood flow in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit*; 2015 Jun;1(2):144–51.
191. Stefánsson E, Olafsdottir OB, Eliasdottir TS, Vehmeijer W, Einarsdottir AB, Bek T, et al. Retinal oximetry: Metabolic imaging for diseases of the retina and brain. *Prog Retin Eye Res*. 2019;70:1-22. doi:10.1016/j.preteyeres.2019.04.001
192. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Pinilla J, Perez-Olivan S, Larrosa JM, et al. Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: A potential new biomarker. *Clin Neurol Neurosurg*. 2015;132.
193. Dehabadi MH, Davis BM, Wong TK, Cordeiro MF. Retinal manifestations of Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis Manag*. 2014;4(3):241-252. doi:10.2217/nmt.14.19
194. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991 Nov 22;254(5035):1178–81.
195. Zysk AM, Nguyen FT, Oldenburg AL, Marks DL, Boppart SA. Optical coherence tomography: a review of clinical development from bench to bedside. *J Biomed Opt*; 2007;12(5):051403.
196. Stern-Diaz H. Optical coherence tomography on ophthalmology. *An RANM. Royal Spanish Academy of Medicine*; 2020 Mar 5;136(03):268–74.
197. Puliafito CA, Hee MR, Lin CP, Reichel E, Schuman JS, Duker JS, et al. Imaging of Macular Diseases with Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*. 2017 Apr 20;102(2):217–29.
198. Schuman JS, Hee MR, Puliafito CA, et al. Quantification of nerve fiber layer thickness in normal and glaucomatous eyes using optical coherence tomography. *Arch Ophthalmol*. 1995;113(5):586-596.
199. Bizheva K, Pflug R, Hermann B, Považay B, Sattmann H, Qiu P, et al.

- Optophysiology: Depth-resolved probing of retinal physiology with functional ultrahigh-resolution optical tomography. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2006 Mar 28;103(13):5066–71.
200. Wang Y, Bower BA, Izatt JA, Tan O, Huang D. In vivo total retinal blood flow measurement by Fourier domain Doppler optical coherence tomography. *J Biomed Opt*; 2007;12(4):041215.
201. Lu C-W, Lee C-K, Tsai M-T, Wang Y-M, Yang CC. Measurement of the hemoglobin oxygen saturation level with spectroscopic spectral-domain optical coherence tomography. *Opt Lett. The Optical Society*; 2008 Mar 1;33(5):416.
202. Kagemann L, Wollstein G, Wojtkowski M, Ishikawa H, Townsend KA, Gabriele ML, et al. Spectral oximetry assessed with high-speed ultra-high-resolution optical coherence tomography. *J Biomed Opt*. 2007;12(4):041212.
203. Kardon RH. Role of the macular optical coherence tomography scan in neuro-ophthalmology. *J Neuroophthalmol. NIH Public Access*; 2011 Dec;31(4):353–61.
204. Rebolleda G, Diez-Alvarez L, Casado A, Sánchez-Sánchez C, de Dompablo E, González-López JJ, et al. OCT: New perspectives in neuro-ophthalmology. *Saudi J Ophthalmol*. 2015;29(1):9–25.
205. Polo V, Garcia-Martin E, Bambo MP, Pinilla J, Larrosa JM, Satue M, et al. Reliability and validity of Cirrus and Spectralis optical coherence tomography for detecting retinal atrophy in Alzheimer's disease. *Eye (Lond). Nature Publishing Group*; 2014;28(6):680–90.
206. Garcia-Martin E, Satue M, Fuertes I, Otin S, Alarcia R, Herrero R, et al. Ability and reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomography to detect retinal nerve fiber layer atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmology*. 2012;119(10):2161–7.
207. Garcia-Martin E, Pueyo V, Pinilla I, Ara JR, Martin J, Fernandez J. Fourier-Domain OCT in multiple sclerosis patients: Reproducibility and ability to detect retinal nerve fiber layer atrophy. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(7):4124–31.

208. Kromer R, Serbecic N, Hausner L, Froelich L, Beutelspacher SC. Comparison of visual evoked potentials and retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer's disease. *Front Neurol.* 2013;4 (December):1–6.
209. Parisi V, Oculistica D, Fatebenefratelli O, Tiberina I. Correlation between morphological and functional retinal impairment in patients affected by ocular hypertension, glaucoma, demyelinating optic neuritis and Alzheimer's disease. *2003;18(2):50–7.*
210. Parisi V, Manni G, Centofanti M, Gandolfi SA, Olzi D, Bucci MG. Correlation between optical coherence tomography, pattern electroretinogram, and visual evoked potentials in open-angle glaucoma patients. *Ophthalmology.* 2001 May;108(5):905–12.
211. Chaglasian M, Fingeret M, gunvant Davey P, huang W-C, leung D, ng edmund, et al. The development of a reference database with the Topcon 3D OCT-1 Maestro. *Clin Ophthalmol.* 2018;12–849.
212. Budenz DL, Anderson DR, Varma R, Schuman J, Cantor L, Savell J, et al. Determinants of normal retinal nerve fiber layer thickness measured by Stratus OCT. *Ophthalmology. NIH Public Access;* 2007 Jun;114(6):1046–52.
213. Rougier M-B, Korobelnik J-F, Malet F, Schweitzer C, Delyfer M-N, Dartigues J-F, et al. Retinal nerve fibre layer thickness measured with SD-OCT in a population-based study of French elderly subjects: the Alienor study. *Acta Ophthalmol.* 2015 Sep;93(6):539–45.
214. Blanks JC, Hinton DR, Sadun AA, Miller CA. Retinal ganglion cell degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Res. Brain Res;* 1989 Nov 6;501(2):364–72.
215. Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, Porrello K V, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging.* 1996;17(3):385–95.
216. Blanks JC, Torigoe Y, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's

- disease. I. Ganglion cell loss in foveal/parafoveal retina. *Neurobiol Aging*. 1996;17(3):377–84.
217. Davies DC, McCoubrie P, McDonald B, Jobst KA. Myelinated axon number in the optic nerve is unaffected by Alzheimer's disease. *Br J Ophthalmol*. 1995;79(6):596–600.
218. Curcio CA, Drucker DN. Retinal ganglion cells in Alzheimer's disease and aging. *Ann Neurol*. 1993;33(3):248–57.
219. Galetta KM, Calabresi PA, Frohman EM, Balcer LJ. Optical Coherence Tomography (OCT): Imaging the Visual Pathway as a Model for Neurodegeneration. *Neurotherapeutics*. 2011;8(1):117-132.
220. Parisi V, Restuccia R, Fattapposta F, Mina C, Bucci MG, Pierelli F, et al. Morphological and functional retinal impairment in Alzheimer's disease patients. *Clin Neurophysiol*. 2001;112(10):1860-1867.
221. Ascaso FJ, Cruz N, Modrego PJ, Lopez-Anton R, Santabárbara J, Pascual LF, et al. Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an optical coherence tomography study. *J Neurol*. 2014 Aug 21;261(8):1522–30.
222. Garcia-Martin E, Bambo MP, Marques ML, Satue M, Otin S, Larrosa JM, et al. Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients with Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol*. 2016 Sep;94(6):e454–9.
223. Giménez-Castejón D, Gómez-Gallego M, Martínez-Martínez ML, Dudekova M, Lajara-Blesa J. ¿Hasta dónde llega la precocidad de la tomografía de coherencia óptica en el deterioro cognitivo? *Rev Neurol*. 2016;63(1):5–10.
224. Marquí M, Valero S, Castilla-Martí M, Martínez J, Rodríguez-Gómez O, Sanabria Á, et al. Association between retinal thickness and β -amyloid brain accumulation in individuals with subjective cognitive decline: Fundació ACE Healthy Brain Initiative. *Alzheimer's Res Ther*. 2020 Mar 31;12(1).
225. Mavilio A, Scrimieri F, Errico D. Can variability of pattern ERG signal help to

- detect retinal ganglion cells dysfunction in glaucomatous eyes? *Biomed Res Int.* 2015;2015:571314
226. Garcia-Martin ES, Rojas B, Ramirez AI, de Hoz R, Salazar JJ, Yubero R, et al. Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer's disease. *Ophthalmology.* 2014 May;121(5):1149–51.e3.
227. Parnell M, Guo L, Abdi M, Cordeiro MF. Ocular manifestations of Alzheimer's disease in animal models. *Int J Alzheimers Dis.* 2012;2012:786494.
228. Margolis R, Spaide RF. A Pilot Study of Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography of the Choroid in Normal Eyes. *Am J Ophthalmol.* 2009 May;147(5):811–5.
229. Manjunath V, Taha M, Fujimoto JG, Duker JS. Choroidal thickness in normal eyes measured using cirrus HD optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol.* 2010;150(3).
230. Jentsch S, Schweitzer D, Schmidtke KU, Peters S, Dawczynski J, Bär KJ, et al. Retinal fluorescence lifetime imaging ophthalmoscopy measures depend on the severity of Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* 2015;93(4).
231. He X-F, Liu Y-T, Peng C, Zhang F, Zhuang S, Zhang J-S. Optical coherence tomography assessed retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Int J Ophthalmol.* 2012;5(3):401–5.
232. Coppola G, Di Renzo A, Ziccardi L, Martelli F, Fadda A, Manni G, et al. Optical coherence tomography in Alzheimer's disease: A meta-analysis. *PLoS One.* 2015;10(8).
233. Thomson KL, Yeo JM, Waddell B, Cameron JR, Pal S. A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit.* 2015;1(2):136–43.
234. den Haan J, Verbraak FD, Visser PJ, Bouwman FH. Retinal thickness in

- Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's Dement Diagnosis, Assess Dis Monit.* 2017;6:162–70.
235. Kesler A, Vakhapova V, Korczyn AD, Naftaliev E, Neudorfer M. Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg.* 2011 Sep;113(7):523–6.
236. Kromer R, Serbecic N, Hausner L, Froelich L, Aboul-Enein F, Beutelspacher SC. Detection of Retinal Nerve Fiber Layer Defects in Alzheimer's Disease Using SD-OCT. *Front psychiatry* 2014;5:22.
237. Larrosa JM, Garcia-Martin E, Bambo MP, Pinilla J, Polo V, Otin S, et al. Potential new diagnostic tool for Alzheimer's disease using a linear discriminant function for Fourier domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014 May;55(5):3043–51.
238. Den Haan J, Van De Kreeke JA, Konijnenberg E, Ten Kate M, Den Braber A, Barkhof F, et al. Retinal Imaging Retinal thickness as a potential biomarker in patients with amyloid-proven early-and late-onset Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement Diagnosis.* 2019;11:463–71.
239. Knoll B, Simonett J, Volpe NJ, Farsiu S, Ward M, Rademaker A, et al. Retinal nerve fiber layer thickness in amnesic mild cognitive impairment: Case-control study and meta-analysis. *Alzheimer's Dement Diagnosis,* 2016;4:85–93.
240. Lehmann M, Koedam EL, Barnes J, Bartlett JW, Barkhof F, Wattjes MP, et al. Visual ratings of atrophy in MCI: Prediction of conversion and relationship with CSF biomarkers. *Neurobiol Aging* 2013 Jan;34(1):73–82.
241. Clerx L, Visser PJ, Verhey F, Aalten P. New MRI markers for alzheimer's disease: A meta-analysis of diffusion tensor imaging and a comparison with medial temporal lobe measurements. *J Alzheimer's Dis.* 2012;29(2):405–29.
242. Van De Pol LA, Hensel A, Van Der Flier WM, Visser PJ, Pijnenburg YAL, Barkhof F, et al. Hippocampal atrophy on MRI in frontotemporal lobar degeneration and Alzheimer's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* *J Neurol*

- Neurosurg Psychiatry; 2006 Apr;77(4):439–42.
243. Bowen M, Edgar DF, Hancock B, Haque S, Shah R, Buchanan S, et al. The Prevalence of Visual Impairment in People with Dementia (the PrOVIDe study): a cross-sectional study of people aged 60–89 years with dementia and qualitative exploration of individual, carer and professional perspectives. *Heal Serv Deliv Res*. 2016 Jul;4(21):1–200.
244. Congdon N. Causes and Prevalence of Visual Impairment among Adults in the United States. *Arch Ophthalmol*. 2004 Apr;122(4):477–85.
245. Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. Forecasting the global burden of Alzheimer’s disease. *Alzheimers Dement*; 2007 Jul;3(3):186–91.
246. McGilton KS, Höbler F, Campos J, Dupuis K, Labreche T, Guthrie DM, et al. Hearing and vision screening tools for long-term care residents with dementia: Protocol for a scoping review. *BMJ Open*. 2016;6(7):e011945.
247. Marquí M, Castilla-Martí M, Valero sergi, Martínez J, sánchez D, Hernández I, et al. Visual impairment in aging and cognitive decline: experience in a Memory Clinic. *Sci Rep*. 2019;9(1):8698.
248. Jones S, Howard L, Thornicroft G. “Diagnostic overshadowing”: Worse physical health care for people with mental illness. *Acta Psychiatr Scand*. 2008;118(3):169-171.
249. Cooper C, Lodwick R, Walters K, Raine R, Manthorpe J, Iliffe S, et al. Inequalities in receipt of mental and physical healthcare in people with dementia in the UK. *Age Ageing*. 2017 May 1;46(3):393–400.
250. Ghiso JA. Alzheimer’s disease and glaucoma: Mechanistic similarities and differences. *J Glaucoma*. 2013 Sep;22(7):597-8.
251. Cesareo M, Martucci A, Ciuffoletti E, Mancino R, Cerulli A, Sorge RP, et al. Association between alzheimer’s disease and glaucoma: A study based on heidelberg retinal tomography and frequency doubling technology perimetry. *Front*

- Neurosci. 2015;9(DEC):479.
252. Kaarniranta K, Salminen A, Haapasalo A, Soininen H, Hiltunen M. Age-related macular degeneration (AMD): Alzheimer's disease in the eye? *J Alzheimers Dis.* 2011;24(4):615-631. doi:10.3233/JAD-2011-101908
253. Cordeiro MF, Guo L, Luong V, Harding G, Wang W, Jones HE, et al. Real-time imaging of single nerve cell apoptosis in retinal neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Sep 7;101(36):13352-6.
254. Guo L, Moss SE, Alexander RA, Ali RR, Fitzke FW, Cordeiro MF. Retinal ganglion cell apoptosis in glaucoma is related to intraocular pressure and IOP-induced effects on extracellular matrix. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Jan;46(1):175-82.
255. Maass A, Von Leithner PL, Luong V, Guo L, Salt TE, Fitzke FW, et al. Assessment of rat and mouse RGC apoptosis imaging in vivo with different scanning laser ophthalmoscopes. *Curr Eye Res. Curr Eye Res;* 2007 Oct;32(10):851-61.
256. Oliver JE, Hattenhauer MG, Herman D, Hodge DO, Kennedy R, Fang-Yen M, et al. Blindness and glaucoma: a comparison of patients progressing to blindness from glaucoma with patients maintaining vision. *Am J Ophthalmol;* 2002;133(6):764-72.
257. Anderson DR, Drance SM, Schulzer M. Comparison of glaucomatous progression between untreated patients with normal-tension glaucoma and patients with therapeutically reduced intraocular pressures. *Am J Ophthalmol.* 1998 Oct;126(4):487-97.
258. Tamura H, Kawakami H, Kanamoto T, Kato T, Yokoyama T, Sasaki K, et al. High frequency of open-angle glaucoma in Japanese patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci.* 2006 Jul 15;246(1-2):79-83.
259. Kessing L V., Lopez AG, Andersen PK, Kessing S V. No increased risk of developing Alzheimer disease in patients with glaucoma. *J Glaucoma* 2007 Jan;16(1):47-51.

260. Bayer AU, Ferrari F. Severe progression of glaucomatous optic neuropathy in patients with Alzheimer's disease. *Eye* 2002 Mar;16(2):209–12.
261. Bayer AU, Ferrari F, Erb C. High occurrence rate of glaucoma among patients with Alzheimer's disease. *Eur Neurol*. 2002;47(3):165–8.
262. Sugiyama T, Utsunomiya K, Ota H, Ogura Y, Narabayashi I, Ikeda T. Comparative study of cerebral blood flow in patients with normal-tension glaucoma and control subjects. *Am J Ophthalmol*; 2006;141(2):394–6.
263. Yücel YH, Zhang Q, Weinreb RN, Kaufman PL, Gupta N. Effects of retinal ganglion cell loss on magno-, parvo-, koniocellular pathways in the lateral geniculate nucleus and visual cortex in glaucoma. *Prog Retin Eye Res*. 2003;22(4):465-481. doi:10.1016/s1350-9462(03)00026-0
264. Yücel YH, Zhang Q, Gupta N, Kaufman PL, Weinreb RN. Loss of neurons in magnocellular and parvocellular layers of the lateral geniculate nucleus in glaucoma. *Arch Ophthalmol*. American Medical Association; 2000;118(3):378–84.
265. Gupta N, Yücel YH. Glaucoma as a neurodegenerative disease. *Curr Opin Ophthalmol*. 2007;18(2):110-114.
266. Gupta N, Fong J, Ang LC, Yücel YH. Retinal tau pathology in human glaucomas. *Can J Ophthalmol*. Elsevier B.V.; 2008;43(1):53–60.
267. Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, Barbour R, Johnson-Wood K, Galasko D, et al. Reduction of β -amyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1995;38(4):643–8.
268. Yoneda S, Hara H, Hirata A, Fukushima M, Inomata Y, Tanihara H. Vitreous fluid levels of β -amyloid(1-42) and tau in patients with retinal diseases. *Jpn J Ophthalmol*. 2005 Mar;49(2):106–8.
269. Guo L, Salt TE, Luong V, Wood N, Cheung W, Maass A, et al. Targeting amyloid- β in glaucoma treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2007 Aug;104(33):13444–9.

BIBLIOGRAFÍA

270. Gervais FG, Xu D, Robertson GS, Vaillancourt JP, Zhu Y, Huang JQ, et al. Involvement of caspases in proteolytic cleavage of Alzheimer's amyloid- β precursor protein and amyloidogenic A β peptide formation. *Cell* 1999 Apr 30;97(3):395–406.
271. Wang Y, Zhou YF, Zhao BY, Gu ZY, Li SL. Apolipoprotein E gene $\epsilon 4\epsilon 4$ is associated with elevated risk of primary open angle glaucoma in Asians: A meta-analysis. *BMC Med Genet*. 2014 May 19;15(1).
272. Lam CY, Fan BJ, Wang DY, Tam POS, Yung Tham CC, Leung DY, et al. Association of apolipoprotein E polymorphisms with normal tension glaucoma in a Chinese population. *J Glaucoma*. 2006 Jun;15(3):218–22.
273. Ressiniotis T, Griffiths PG, Birch M, Keers S, Chinnery PF. The Role of Apolipoprotein E Gene Polymorphisms in Primary Open-angle Glaucoma. *Arch Ophthalmol*; 2004 Feb;122(2):258–61.
274. Anderson DH, Talaga KC, Rivest AJ, Barron E, Hageman GS, Johnson L V. Characterization of β amyloid assemblies in drusen: The deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Exp Eye Res*. 2004;78(2):243–56.
275. Rogers J, Cooper NR, Webster S, Schultz J, McGeer PL, Styren SD, et al. Complement activation by β -amyloid in Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*.1992;89(21):10016–20.
276. Souied EH, Benlian P, Amouyel P, Feingold J, Lagarde JP, Munnich A, et al. The $\epsilon 4$ allele of the Apolipoprotein E gene as a potential protective factor for exudative age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*.1998;125(3):353–9.
277. Klaver CCW, Kliffen M, Van Duijn CM, Hofman A, Cruts M, Grobbee DE, et al. Genetic association of apolipoprotein E with age-related macular degeneration. *Am J Hum Genet*. 1998;63(1):200–6.
278. Baird PN, Guida E, Chu DT, Vu HTV, Guymer RH. The $\epsilon 2$ and $\epsilon 4$ alleles of the apolipoprotein gene are associated with age-related macular degeneration. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2004 May;45(5):1311–5.

279. Lobello K, Ryan JM, Liu E, Rippon G, Black R. Targeting Beta amyloid: a clinical review of immunotherapeutic approaches in Alzheimer's disease. *Int J Alzheimers Dis.* 2012 Jan;2012:628070.
280. Ding JD, Lin J, Mace BE, Herrmann R, Sullivan P, Bowes Rickman C. Targeting age-related macular degeneration with Alzheimer's disease based immunotherapies: Anti-amyloid- β antibody attenuates pathologies in an age-related macular degeneration mouse model. *Vision Res.* 2008 Feb;48(3):339–45.
281. Starkstein SE. Anosognosia in Alzheimer's disease: Diagnosis, frequency, mechanism and clinical correlates. *Cortex.* 2014;61:64–73.
282. Koch JM, Datta G, Makhdoom S, Grossberg GT. Unmet visual needs of Alzheimer's disease patients in long-term care facilities. *J Am Med Dir Assoc.* 2005;6(4):233–7.
283. Anstey KJ, Hofer SM, Luszcz MA. A Latent Growth Curve Analysis of Late-Life Sensory and Cognitive Function over 8 Years: Evidence for Specific and Common Factors Underlying Change. *Psychol Aging.* 2003;18(4):714-726.
284. Zheng DD, Swenor BK, Christ SL, West SK, Lam BL, Lee DJ. Longitudinal associations between visual impairment and cognitive functioning the salisbury eye evaluation study. *JAMA Ophthalmol.* 2018 Sep 1;136(9):989–95.
285. Ghisletta P, Lindenberger U. Exploring structural dynamics within and between sensory and intellectual functioning in old and very old age: Longitudinal evidence from the Berlin Aging Study. *Intelligence.* 2005;33(6):555–87.
286. Elliott AF, McGwin G, Owsley C. Vision-enhancing interventions in nursing home residents and their short-term effect on physical and cognitive function. *J Am Geriatr Soc.* 2009 Feb;57(2):202–8.
287. Valentijn SAM, Van Boxtel MPJ, Van Hooren SAH, Bosma H, Beckers HJM, Ponds RWHM, et al. Change in sensory functioning predicts change in cognitive functioning: Results from a 6-year follow-up in the Maastricht Aging Study. *J Am*

- Geriatr Soc. 2005 Mar;53(3):374–80.
288. Mitoku K, Masaki N, Ogata Y, Okamoto K. Vision and hearing impairments, cognitive impairment and mortality among long-term care recipients: A population-based cohort study. *BMC Geriatr*. 2016 May 27;16(1):112.
289. Sánchez D, Castilla-Martí M, Rodríguez-Gómez O, Valero S, Piferrer A, Martínez G, et al. Usefulness of peripapillary nerve fiber layer thickness assessed by optical coherence tomography as a biomarker for Alzheimer's disease. *Sci Rep*. 2018;8(1):16345.
290. Sánchez D, Castilla-Martí M, Marquié M, Valero S, Moreno-Grau S, Rodríguez-Gómez O, et al. Evaluation of macular thickness and volume tested by optical coherence tomography as biomarkers for Alzheimer's disease in a memory clinic. *Sci Rep*. 2020 Dec 1;10(1).
291. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*. 2016 Jun 1;15(2):155–63.
292. Jessen F. Subjective and objective cognitive decline at the pre-dementia stage of Alzheimer's disease. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*. 2014 Nov;264 Suppl :S3–7.
293. Rodríguez-Gómez O, Sanabria A, Pérez-Cordon A, Sanchez-Ruiz D, Abdelnour C, Valero S, et al. FACEHBI: A Prospective Study of Risk Factors, Biomarkers and Cognition in a Cohort of Individuals with Subjective Cognitive Decline. Study Rationale and Research Protocols. *J Prev Alzheimer's Dis*. 2017;4(2):100–8.
294. De Rojas I, Romero J, Rodríguez-Gómez O, Pesini P, Sanabria A, Pérez-Cordon A, et al. Correlations between plasma and PET beta-amyloid levels in individuals with subjective cognitive decline: The Fundació ACE Healthy Brain Initiative (FACEHBI). *Alzheimers Res Ther*. 2018;10(1):119.
295. Muñoz N, Gomà-I-Freixanet M, Valero S, Rodríguez-Gómez O, Sanabria A, Pérez-Cordón A, et al. Personality Factors and Subjective Cognitive Decline: The FACEHBI Cohort. *Behav Neurol*. 2020;2020:5232184. Published 2020 Feb 19.

296. Boada M, Tárraga L, Hernández I, Valero S, Alegret M, Ruiz A, et al. Design of a comprehensive Alzheimer's disease clinic and research center in Spain to meet critical patient and family needs. *Alzheimers Dement*. 2014 May;10(3):409–15.
297. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975 Nov;12(3):189–98.
298. Solomon PR, Pendlebury WW. Recognition of Alzheimer's disease: The 7 minute screen(TM). *Fam Med*. 1998 Apr;30(4):265–71.
299. Kaufer DI, Cummings JL, Ketchel P, Smith V, MacMillan A, Shelley T, et al. Validation of the NPI-Q, a brief clinical form of the Neuropsychiatric Inventory. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*. 2000;12(2):233–9.
300. Blessed G, Tomlinson BE, Roth M. The association between quantitative measures of dementia and of senile change in the cerebral grey matter of elderly subjects. *Br J Psychiatry*. 1968;114(512):797–811.
301. Zigmond AS, Snaith RP. The hospital anxiety and depression scale. *Acta Psychiatr Scand*. 1983 Jun; 67(6):361–70.
302. Hachinski V, Oveisgharan S, Romney AK, Shankle WR. Optimizing the hachinski ischemic scale. *Arch Neurol*. 2012 Feb;69(2):169–75.
303. Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, Breteler MM, Nyenhuis DL, Black SE, et al. National Institute of Neurological Disorders and Stroke-Canadian Stroke Network vascular cognitive impairment harmonization standards. *Stroke*. 2006 Sep;37(9):2220–41.
304. Reiman E, Jagust W. Brain imaging in the study of Alzheimer's disease. *Neuroimage*. 2012;61(2):505–16.
305. Bouwman FH, Schoonenboom NSM, Verwey N a, van Elk EJ, Kok A, Blankenstein M a, et al. CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's

- disease. *Neurobiol Aging*. 2009 Dec;30(12):1895–901.
306. Herukka S-K, Simonsen AH, Andreasen N, Baldeiras I, Bjerke M, Blennow K, et al. Recommendations for CSF AD biomarkers in the diagnostic evaluation of MCI. *Alzheimer's Dement*. 2016;0(0):387–403.
307. Bokinni Y, Shah N, Maguire O, Laidlaw DAH. Performance of a computerised visual acuity measurement device in subjects with age-related macular degeneration: Comparison with gold standard ETDRS chart measurements. *Eye*. 2015 Aug 14;29(8):1085–91.
308. Chew EY, Lindblad AS, Clemons T. Summary results and recommendations from the age-related eye disease study. *Arch Ophthalmol*. 2009 Dec;127(12):1678–9.
309. Pakrou N, Gray T, Mills R, Landers J, Craig J. Clinical comparison of the Icare tonometer and goldmann applanation tonometry. *J Glaucoma*. 2008 Jan;17(1):43–7.
310. Kampougeris G, Spyropoulos D, Mitropoulou A, Zografou A, Kosmidis P. Peripapillary retinal nerve fibre layer thickness measurement with SD-OCT in normal and glaucomatous eyes: distribution and correlation with age. *Int J Ophthalmol* 2013;6(5):662–5.
311. Hood DC, Raza AS. Method for comparing visual field defects to local RNFL and RGC damage seen on frequency domain OCT in patients with glaucoma. *Biomed Opt Express*. 2011 Apr 5;2(5):1097–105.
312. Keane PA, Grossi CM, Foster PJ, Yang Q, Reisman CA, Chan K, et al. Optical Coherence Tomography in the UK Biobank Study – Rapid Automated Analysis of Retinal Thickness for Large Population-Based Studies. *PLoS One*. 2016 Oct 7;11(10):e0164095.
313. Patel PJ, Foster PJ, Grossi CM, Keane PA, Ko F, Lotery A, et al. Spectral-Domain Optical Coherence Tomography Imaging in 67 321 Adults. *Ophthalmology*. 2016 Apr;123(4):829–40.
314. Nagarkatti-Gude N, Gardiner SK, Fortune B, Demirel S, Mansberger SL. Optical

- coherence tomography segmentation errors of the retinal nerve fiber layer persist over time. *J Glaucoma*. 2019 May 1;28(5):368–74.
315. Yang Q, Reisman CA, Wang Z, Fukuma Y, Hangai M, Yoshimura N, et al. Automated layer segmentation of macular OCT images using dual-scale gradient information. *Opt Express*. 2010;18(20):21293–307.
316. Balasubramanian M, Bowd C, Vizzeri G, Weinreb RN, Zangwill LM. Effect of image quality on tissue thickness measurements obtained with spectral domain-optical coherence tomography. *Opt Express*. 2009 Mar 2;17(5):4019.
317. Hwang YH, Kim MK, Kim DW. Segmentation Errors in Macular Ganglion Cell Analysis as Determined by Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*. 2016 May 1;123(5):950–8.
318. Huang J, Liu X, Wu Z, Sadda S. Image quality affects macular and retinal nerve fiber layer thickness measurements on Fourier-domain optical coherence tomography. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging*. 2011 May;42(3):216–21.
319. Cruz-Herranz A, Balk LJ, Oberwahrenbrock T, Saidha S, Martinez-Lapiscina EH, Lagreze WA, et al. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology*. 2016;86(24):2303-2309.
320. Hung SY, Fu WM. Drug candidates in clinical trials for Alzheimer’s disease. *Journal of Biomedical Science*. *J Biomed Sci*. 2017;24(1):47.
321. Schneider LS, Mangialasche F, Andreasen N, Feldman H, Giacobini E, Jones R, et al. Clinical trials and late-stage drug development for Alzheimer’s disease: an appraisal from 1984 to 2014. *J Intern Med*. 2014 Mar;275(3):251–83.
322. Panza F, Lozupone M, Solfrizzi V, Sardone R, Piccininni C, Dibello V, et al. BACE inhibitors in clinical development for the treatment of Alzheimer’s disease. *Expert Rev Neurother*. 2018;18(11):847-857.
323. Van Dyck CH. Anti-Amyloid- β Monoclonal Antibodies for Alzheimer’s Disease: Pitfalls and Promise. *Biol Psychiatry*. 2018;83(4):311-319.

324. Chan VTT, Sun Z, Tang S, Chen LJ, Wong A, Tham CC, et al. Spectral-Domain OCT Measurements in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology*. 2019;126(4):497-510.
325. Whiting P, Rutjes AWS, Reitsma JB, Bossuyt PMM, Kleijnen J. The development of QUADAS: A tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol*. 2003;3:25.
326. Iseri PK, Altınış O, Tokay T, Yüksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *J Neuroophthalmol*. 2006 Mar;26(1):18–24.
327. Kirbas S, Turkyilmaz K, Anlar O, Tufekci A, Durmus M. Retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer disease. *J Neuro-Ophthalmology*. 2013;33(1):58–61.
328. Gaskin CJ, Happell B. On exploratory factor analysis: A review of recent evidence, an assessment of current practice, and recommendations for future use. *Int J Nurs Stud*. 2014;51(3):511-521.
329. Alonso-Betanzos A, Bolón-Canedo V. Big-data analysis, cluster analysis, and machine-learning approaches. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1065:607-626.
330. Thomson KL, Yeo JM, Waddell B, Cameron JR, Pal S. A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimer's Dement Diagnosis*. 2015 Jun;1(2):136–43.
331. Dani M, Brooks DJ, Edison P. Tau imaging in neurodegenerative diseases. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2016;43(6):1139-1150. doi:10.1007/s00259-015-3231-2
332. Blennow K, Zetterberg H. The past and the future of Alzheimer's disease CSF biomarkers-a journey toward validated biochemical tests covering the whole spectrum of molecular events. *Front Neurosci*. 2015;9(Sep):1–8.
333. Kim J Il, Kang BH. Decreased retinal thickness in patients with Alzheimer's disease

- is correlated with disease severity. *PLoS One*. 2019;14(11).
334. Parisi V, Manni G, Gandolfi SA, Centofanti M, Colacino G, Bucci MG. Visual function correlates with nerve fiber layer thickness in eyes affected by ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999 Jul;40(8):1828–33.
335. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology*. 1991 May 1;98(5 Suppl):741–56.
336. Beach TG, Monsell SE, Phillips LE, Kukull W. Accuracy of the Clinical Diagnosis of Alzheimer Disease at National Institute on Aging Alzheimer Disease Centers, 2005–2010. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012 Apr 1;71(4):266–73.
337. Bernick C, Cummings J, Raman R, Sun X, Aisen P. Age and rate of cognitive decline in Alzheimer disease: implications for clinical trials. *Arch Neurol* 2012 Jul;69(7):901–5.
338. Savva G, Wharton S. Age, neuropathology, and dementia. *N Engl J Med*. 2009;360:2302–9.
339. Leening MJG, Heeringa J, Deckers JW, Franco OH, Hofman A, Witteman JCM, et al. Healthy volunteer effect and cardiovascular risk. *Epidemiology*. 2014;25(3):470–471.
340. Kopec JA, Esdaile JM. Bias in case-control studies. A review. *J Epidemiol Community Health*. 1990;44(3):179–186.
341. Mahtani K, Spencer EA, Brassey J, Heneghan C. Catalogue of bias: observer bias. *BMJ evidence-based Med*. 2018 Feb 1;23(1):23–4.
342. Glick M. Believing is seeing: Confirmation bias. *J Am Dent Assoc*. 2017;148(3):131–132.
343. Patino CM, Ferreira JC. Internal and external validity: Can you apply research study results to your patients?. *J Bras Pneumol*. 2018;44(3):183. doi:10.1590/S1806-

37562018000000164

344. Whiting P, Rutjes AWS, Reitsma JB, Glas AS, Bossuyt PMM, Kleijnen J. Sources of variation and bias in studies of diagnostic accuracy: a systematic review. *Ann Intern Med.* 2004 Feb 3;140(3):189–202.
345. Rutjes AWS, Reitsma JB, Vandenbroucke JP, Glas AS, Bossuyt PMM. Case-Control and Two-Gate Designs in Diagnostic Accuracy Studies. *Clin Chem.* 2005 Aug 1;51(8):1335–41.
346. Lijmer JG, Mol BW, Heisterkamp S, Bossel GJ, Prins MH, Van der Meulen JHP, et al. Empirical Evidence of Design-Related Bias in Studies of Diagnostic Tests. *Jama.* 1999;282(11):1061–6.
347. Alasil T, Wang K, Keane PA, Lee H, Baniyadi N, De Boer JF, et al. Analysis of normal retinal nerve fiber layer thickness by age, sex, and race using spectral domain optical coherence tomography. *J Glaucoma.* 2013 Sep;22(7):532–41.
348. Miller GM, Chapman JP. Misunderstanding analysis of covariance. *J Abnorm Psychol.* 2001;110(1):40–8.
349. Williams MA, McGowan AJ, Cardwell CR, Cheung CY, Craig D, Passmore P, et al. Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst).* 2015;1(2):229-235.
350. Patton N, Aslam T, MacGillivray T, Pattie A, Deary IJ, Dhillon B. Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: a rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. *J Anat.* 2005 Apr;206(4):319–48.
351. Eraslan M, Çerman E, Çekici O, Balci S, Dericioğlu V, Şahin Ö, et al. Neurodegeneration in ocular and central nervous systems: Optical coherence tomography study in normal-tension glaucoma and Alzheimer disease. *Turkish J Med Sci.* 2015;45(5):1106–14.
352. Lauermaun JL, Treder M, Heiduschka P, Clemens CR, Eter N, Alten F. Impact of

BIBLIOGRAFÍA

- eye-tracking technology on OCT-angiography imaging quality in age-related macular degeneration. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2017 Aug 1;255(8):1535–42.
353. Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ*. 2003 Sep 6;327(7414):557–60.
354. Lin L, Chu H. Quantifying publication bias in meta-analysis. *Biometrics*. 2018 Sep 1;74(3):785–94.
355. De Voogd S, Ikram MK, Wolfs RCW, Jansonius NM, Hofman A, De Jong PTVM. Incidence of open-angle glaucoma in a general elderly population: The Rotterdam Study. *Ophthalmology*. 2005 Sep;112(9):1487–93.

