

TESIS DOCTORAL

UTILIDAD DE LA TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA
ÓPTICA COMO BIOMARCADOR DIAGNÓSTICO
EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

AUTORA

ALICIA LÓPEZ DE EGULETA RODRÍGUEZ

DIRECTORES

PASCUAL SÁNCHEZ JUAN

ALFONSO CASADO

TUTOR

ELOY RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

Escuela de **Doctorado** de la Universidad de Cantabria

Santander **2022**

Dr. Pascual Sánchez Juan, Director Científico de la Fundación CIEN, y antiguo
Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Cantabria,
departamento de Medicina y Psiquiatría

CERTIFICA:

Que el presente trabajo titulado “Utilidad de la tomografía de coherencia óptica
como biomarcador diagnóstico en la enfermedad de Alzheimer”, presentado
por Alicia López de Eguileta Rodríguez para optar al grado de Doctora en
Medicina y Ciencias de la Salud, ha sido realizado bajo su dirección.

Y para que conste y surta los efectos oportunos, expide el presente certificado
en Santander, Mayo 2022.

Dr. Pascual Sánchez Juan

*Para M & N,
por nuestro presente.*

“Quedarse. Pelear. Los héroes (dicen) lo son porque siguen de pie, pese a todo. Seguir cuando no ves rastro de las razones, cuando ya no las hay (¿volverán?). Defender —Luis García Montero— “las noches en mi casa, los barcos sin bandera y los inviernos con sol”. Poner en duda una vez más esa certeza que nos negamos y que no podemos acatar: que estamos solos.

No tirar la toalla, hasta el fin, hasta el agotamiento; de cada músculo, fin. Seguir, cuando no hay motivos. Que duela —y a pesar de todo, quedarse.”

Jesús Terrés

El presente trabajo deriva del Proyecto de Investigación “Análisis de la medidas de la capa de células ganglionares en pacientes con enfermedades neurodegenerativas”, que fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria en Santander, el 12 de julio de 2017 (Código Interno 2017.146) y del Proyecto de Investigación “Cohorte Valdecilla para el estudio de la memoria y el envejecimiento cerebral” aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria en Santander, el 15 de junio de 2018 (Código Interno: 2018.111).

Todos los participantes en el estudio dieron su consentimiento informado por escrito. En el caso de aquellos pacientes en los que su grado de deterioro cognitivo no permitiera asegurar la completa comprensión del consentimiento informado, éste se obtuvo de su familiar acompañante.

Índice general

Abreviaciones	1
Introducción	3
I. La enfermedad de Alzheimer	5
1.1. Epidemiología e impacto social de la enfermedad de Alzheimer	6
1.2. Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer	7
1.3. Biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer	9
1.4. Continuo de Alzheimer y dinámica de biomarcadores	15
II. La retina y el nervio óptico: extensión del SNC	21
2.1. Anatomía y fisiología del nervio óptico	21
2.2. Anatomía y fisiología de la retina	23
2.3. Características de las células ganglionares de la retina	25
2.4. Características de la capa de fibras nerviosas de la retina	28
2.5. Anatomía y fisiología de la coroides	31
III. Fisiopatología ocular en la enfermedad de Alzheimer	33
3.1. La retina: ventana al sistema nerviosa central y a la enfermedad de Alzheimer	33
3.2. Características histológicas de la retina en la enfermedad de Alzheimer	34
3.3. Placas A β retinianas en modelos animales y pacientes humanos con enfermedad de Alzheimer	35
3.4. Depósitos Tau en la retina de modelos animales y pacientes humanos con enfermedad de Alzheimer	37
3.5. Patología vascular en la enfermedad de Alzheimer	40
3.6. Síntomas oculares en la enfermedad de Alzheimer	41

IV. Tomografía de coherencia óptica en la enfermedad de Alzheimer	43
4.1. Historia de la tomografía de coherencia óptica	44
4.2. Principios físicos de la tomografía de coherencia óptica	45
4.3. Aplicación de la tomografía de coherencia óptica en la enfermedad de Alzheimer	48
4.4. Asociación de la tomografía de coherencia óptica con los cambios cognitivos de la enfermedad de Alzheimer	70
4.5. Asociación de la tomografía de coherencia óptica con otros biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer	71
4.6. Otras modalidades de imagen retiniana	73
Planteamiento	75
Primer estudio:	81
Cambios en la retina y en el nervio óptico medidos por tomografía de coherencia óptica en sujetos con deterioro cognitivo leve y demencia por enfermedad de Alzheimer	
1. Hipótesis	83
2. Objetivos	83
3. Material y métodos	83
4. Resultados	96
5. Discusión	106
Segundo estudio:	117

Cambios en el grosor coroideo medido por tomografía de coherencia óptica en sujetos con deterioro cognitivo leve y demencia por enfermedad de Alzheimer

1. Hipótesis	119
2. Objetivos	119
3. Material y métodos	119
4. Resultados	124
5. Discusión	134

Tercer estudio:

Cambios oculares medidos por tomografía de coherencia óptica en la enfermedad de alzheimer en etapa pre-clínica

1. Hipótesis	143
2. Objetivos	143
3. Material y métodos	144
4. Resultados	153
5. Discusión	161

Conclusiones

Bibliografía

Listado de figuras

Listado de tablas

Publicaciones surgidas del presente trabajo

Agradecimientos

Abreviaciones

°	Grado
AAC	angiopatía amiloide cerebral
Aβ	β-amiloide
ABC	área bajo la curva
APP	proteína precursora de amiloide
AV	agudeza visual
CFNR	capa de fibras nerviosas de la retina
CGR	células ganglionares de la retina
CCGR	capa de células ganglionares de la retina
cCGR	complejo de células ganglionares de la retina
CNE	capa nuclear externa
CNI	capa nuclear interna
CPE	capa plexiforme externa
CPI	capa plexiforme interna
CS	controles sanos
DCL	deterioro cognitivo leve
DE	desviación estándar
EA	enfermedad de Alzheimer
EPR	epitelio pigmentario de la retina
FCSRT	<i>Free and Cued Selective Reminding Test</i>
FDR	<i>False Discovery rate</i>
GDS	<i>Global Deterioration Scale</i>
LA	longitud axial

LC	lámina cribosa
LCR	líquido cefalorraquídeo
MMSE	<i>Mini-Mental State Examination</i>
NIA-AA	<i>National Institute on Aging and Alzheimer's Association</i>
NO	nervio óptico
OCT	tomografía de coherencia óptica
PET	tomografía por emisión de positrones
¹⁸F-FDG	[¹⁸ F] fluorodesoxiglucosa
¹¹C-PiB	compuesto B de Pittsburgh [¹¹ C]
RMN	resonancia magnética nuclear
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
TC	tomografía axial computarizada
VBM	<i>voxel-based morphometry</i>
μm	micra métrica

Introducción

I. La enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo crónico, de progresión lenta e irreversible que se caracteriza clínicamente por pérdida de memoria, cambios psicológicos y de comportamiento y declive cognitivo generalizado que termina afectando a las actividades de la vida cotidiana de los pacientes ¹.

A nivel anatomopatológico se caracteriza por placas seniles y ovillos neurofibrilares, formados por dos proteinopatías diferentes. Las placas seniles son unos depósitos extracelulares compuestos mayoritariamente por fibrillas insolubles de péptidos beta-amiloide ($A\beta$)² y los ovillos neurofibrilares intracelulares se cree que están compuestos mayoritariamente por agregados de una forma hiperfosforilada de la proteína asociada a microtúbulos Tau ³. De forma paralela, se producen cambios neurodegenerativos no específicos que favorecen el proceso inflamatorio (estrés oxidativo, atrofia, astrocitos reactivos y gliosis). La EA suele acompañarse de patología vascular cerebral, llamada angiopatía amiloide cerebral (AAC) que se caracteriza por la acumulación de $A\beta$ en las paredes de los vasos sanguíneos ⁴⁻⁸.

Existen dos variantes de la EA, la forma genética y la esporádica. Un pequeño porcentaje (<1 %) tiene una causa genética (EA de origen familiar) debido a mutaciones autosómicas dominantes en el gen que codifica la proteína precursora del amiloide (*APP*) (cromosoma 21) o en los genes *PSEN1* (cromosoma 14) y *PSEN2* (cromosoma 1) que codifican las presenilinas 1 (*PS1*) y 2 (*PS2*), proteínas que forman parte del complejo enzimático de la γ -secretasa.

Esta variante de la enfermedad se caracteriza por presentar un inicio más temprano ⁹. La mayoría de los casos de la EA pertenecen a la forma esporádica de la enfermedad y se presenta en personas mayores de 65 años. Su origen es multifactorial, pero la edad y la presencia del alelo $\epsilon 4$ del gen *APOE*, que codifica la apolipoproteína E, suponen los dos factores de riesgo conocidos más importantes ¹⁰⁻¹².

Actualmente no existe un tratamiento disponible dirigido específicamente contra los mecanismos patogénicos de la EA y capaz de detener su progresión ¹. Las únicas terapias farmacológicas disponibles en el mercado se basan en el tratamiento de los síntomas característicos de la enfermedad. El conjunto de cambios neuropatológicos comienza a desarrollarse entre 15 y 20 años antes del inicio de los síntomas clínicos de la demencia ¹³⁻¹⁶ lo que implica que existe una amplia ventana para el diagnóstico y tratamiento precoz cuando el daño neuronal es mínimo.

1.1. Epidemiología e impacto social de la enfermedad de Alzheimer

La EA es el trastorno neurodegenerativo crónico más frecuente y está implicado en el 60-80% de los casos de demencia ¹⁷.

La prevalencia mundial de la EA es de más de 45 millones de personas y se estima que se duplicará cada 20 años, llegando a 130 millones en 2050 ¹⁸⁻²⁰ (Fig. 1).

Es una enfermedad con un alto impacto a nivel funcional. En la actualidad, es la causa principal de morbilidad y mortalidad en mayores de 65 años en España ²¹.

Causa también un importante daño socioeconómico tanto en las familias afectadas como en los sistemas de salud ²².

Dadas las abrumantes cifras estimadas para 2050 de enfermos con demencia por EA, es necesario y urgente el desarrollo de técnicas diagnósticas fiables, no invasivas y asequibles, adecuadas para un uso clínico generalizado.

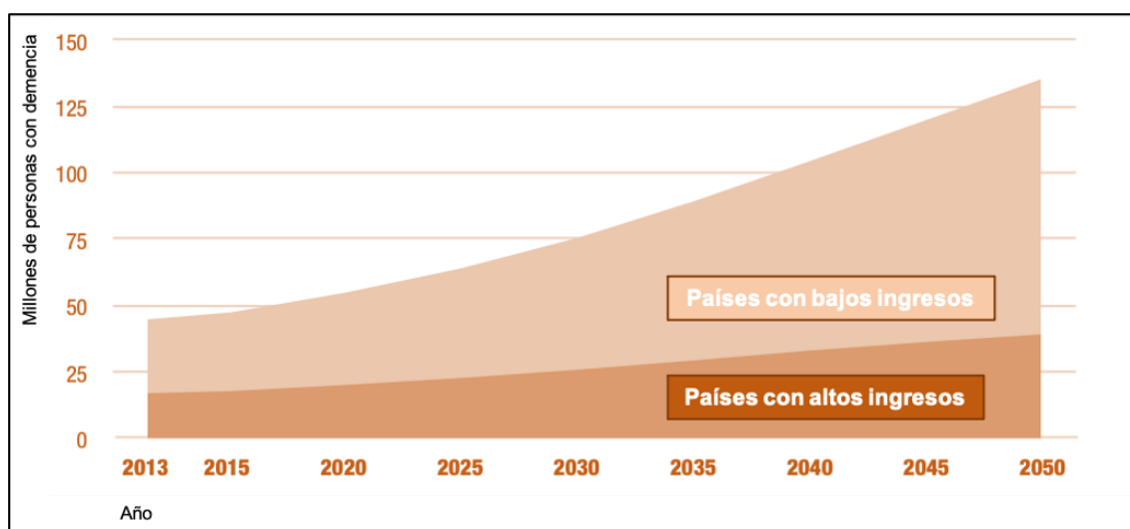


Figura 1. Estimación del número de personas con demencia en países con bajos ingresos y en países con ingresos altos hasta el año 2050. (Imagen modificada, fuente: <https://www.alz.co.uk/research/GlobalImpactDementia2013.pdf>).

1.2. Diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer

En el año 2011, el Instituto Nacional sobre el Envejecimiento y la Asociación de Alzheimer (NIA-AA, del inglés “*National Institute on Aging and Alzheimer’s Association*”) revisaron las guías de 1984 y actualizaron los criterios allí descritos con el objetivo de mejorar el diagnóstico de la EA ^{23,24}. Las guías revisadas de 2011 dividieron la EA en tres fases clínicas (preclínica, deterioro cognitivo leve (DCL) y demencia) con criterios diagnósticos diferentes para cada una ^{13,24,25} e incorporaron biomarcadores fiables al proceso diagnóstico de la EA ^{13,24,25}. Sin

embargo, el uso en la práctica clínica de estos biomarcadores no está generalizado, limitándose muchas veces al campo de la investigación ^{13,24,25}.

Desde el punto de vista clínico, se puede considerar que la EA atraviesa dos fases antes de alcanzar el estadio de demencia: un periodo preclínico, en el que la neurodegeneración avanza de forma silenciosa ¹³, seguido de las primeras manifestaciones o deterioro cognitivo leve (DCL), denominado en este caso EA prodrómica.

La etapa preclínica de la EA, que precede varios años al DCL o a la demencia por EA, se ha convertido en un objetivo para las intervenciones terapéuticas. En esta etapa, en la que la patología molecular de la EA ya está presente en el cerebro, pero aún no se expresa clínicamente, los individuos son, por definición, asintomáticos y cognitivamente normales ^{13,16,26}.

El DCL constituye un síndrome clínico caracterizado por déficits cognitivos objetivables, que afectan principalmente a la memoria, sin deterioro funcional significativo en las actividades de la vida diaria ^{25,27,28}. Los sujetos con DCL tienen aproximadamente tres veces más probabilidades de desarrollar demencia en los siguientes dos-cinco años ²⁹, siendo las tasas anuales de progresión de DCL a la demencia entre el 5 y el 16% ^{30,31}. Un porcentaje de estos casos permanece estable a lo largo del tiempo, e incluso mejoran especialmente si se identifica una causa tratable ^{27,30,32}. El DCL tiene múltiples posibles etiopatogenias y su evolución en el tiempo dependerá de la causa subyacente, ya sean procesos degenerativos o no degenerativos. A pesar de que la EA constituye la causa neurodegenerativa más frecuente de DCL, la designación específica de DCL debido a EA se utiliza cuando están presentes biomarcadores asociados con la EA.

Hoy en día, un diagnóstico definitivo de EA requiere un examen histopatológico post mortem ³³. En la práctica clínica, el diagnóstico de la EA se basa en una caracterización sindrómica, junto con la exclusión de otros procesos causantes de deterioro cognitivo secundario mediante pruebas complementarias. Los avances sobre biomarcadores han permitido una mayor disponibilidad de los mismos en la práctica clínica permitiendo medir el daño neuropatológico *in vivo* ³⁴, mejorando así el nivel de certeza diagnóstica y permitiendo identificar la EA como causa del cuadro, lo que resulta útil para predecir un deterioro cognitivo a largo plazo y una progresión a demencia ³⁵.

1.3. Biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer

Un biomarcador es un parámetro fisiológico, bioquímico o anatómico que puede ser medido objetivamente y que se utiliza como un indicador de un proceso biológico normal, un proceso patológico o una respuesta a una intervención terapéutica ³⁶. Los biomarcadores core de la EA demuestran la presencia de las proteinopatías que definen la enfermedad, A β y Tau, ya sea a través de la determinación de sus niveles en líquido cefalorraquídeo (LCR) ³⁴ o mediante técnicas de neuroimagen ^{37,38}, y se pueden dividir en tres categorías:

1. Los biomarcadores de depósito de A β : ^{39–41}:

- Niveles bajos de A β_{42} o ratio A β_{42} / A β_{40} en LCR.
- Imágenes de tomografía por emisión de positrones / tomografía computarizada (PET/TC) positivas usando radiotrazadores que se unen a los depósitos de A β , como el PiB-PET

2. Los biomarcadores de patología de Tau asociada a EA ^{41,42}:

- Niveles altos de proteína Tau fosforilada (pTau) en LCR.

- Imágenes de PET-Tau ⁴³.

3. Los biomarcadores de neurodegeneración o lesión neuronal ⁴⁴:

- Niveles altos de total Tau (tTau) en LCR.
- Atrofia cortical, reducción del volumen del hipocampo o la atrofia del lóbulo temporal medial en la resonancia magnética nuclear (RMN) ⁴⁵.
- Las imágenes cerebrales funcionales de PET/TC con ¹⁸F fluorodesoxiglucosa (¹⁸F-FDG) revelan distintas regiones de hipometabolismo cerebral ⁴⁵.

Descripción de los biomarcadores de líquido cefalorraquídeo

Los tres biomarcadores core de LCR para la EA son A β ₄₂, la proteína pTau y tTau. Por separado tienen capacidad diagnóstica, pero en conjunto han presentado una elevada sensibilidad y especificidad para discriminar a los pacientes con EA de los controles sanos (CS) ^{34,46}, así como capacidad pronóstica para distinguir a los individuos con DCL que van a progresar a fases más avanzadas de la EA ^{41,46}.

A β ₄₂ en LCR

Se ha demostrado que los niveles de A β ₄₂ en el LCR disminuyen conforme aumenta el depósito de A β en las placas seniles del cerebro ⁴⁷⁻⁵⁰. Además, se ha observado que los niveles de A β ₄₂ en el LCR de pacientes con EA son más bajos que en los CS ⁵¹. Se ha demostrado que existe una alta concordancia entre niveles anormalmente bajos de A β ₄₂ en LCR y ¹¹C-PiB PET positivos en pacientes con EA ⁵².

tTau y pTau en LCR

Los niveles en el LCR de tTau y pTau en los enfermos de Alzheimer son más altos que en los CS ^{41,42,48}.

El aumento de los niveles de tTau en el LCR se asocia con un proceso intrínseco de neurodegeneración⁴⁶ y, por tanto, también aumenta durante el envejecimiento normal ¹⁵, después de un traumatismo ⁵³ o después de un ictus ⁵⁴. No obstante, este biomarcador se correlaciona con la severidad de la EA, y concentraciones altas se han asociado con un mayor declive cognitivo ⁵⁵.

El aumento de pTau en el LCR refleja la formación de ovillos neurofibrilares en el cerebro. En los pacientes con DCL niveles altos de pTau en el LCR se han asociado con la progresión del declive cognitivo ⁵⁶.

Descripción de los biomarcadores de neuroimagen

Los cambios morfológicos y funcionales que suceden en el sistema nervioso central (SNC) pueden ser cuantificados por varios tipos de técnicas de neuroimagen.

Tomografía por emisión de positrones (PET)

La técnica de imagen PET cuantifica *in vivo* radiofármacos o ligandos radiactivos y posibilita la evaluación de un proceso molecular en su lugar de acción permitiendo la detección de enfermedades en estadios asintomáticos cuando todavía no hay evidencias de cambios anatómicos.

→ PET-A β

El desarrollo de marcadores PET para detectar los depósitos de A β ha permitido estudiar la patología *in vivo* y comprender mejor la topografía y la

propagación de A β en el cerebro ^{1,57}. Esta técnica mide la carga de amiloide fibrilar en el cerebro y los resultados se determinan como positivos o negativos. Los trazadores de amiloide aprobados por la FDA (Food and Drug Administration in USA) y EMA (European Medicines Agency) para su uso clínico son ¹⁸F-florbetapir, ¹⁸F-flutemetamol y ¹⁸F-florbetaben. El compuesto B ¹¹C-Pittsburgh (¹¹C-PiB, del inglés “*¹¹C-labeled Pittsburgh Compound-B*”) que fue el primero en desarrollarse está restringido al ámbito de la investigación ^{58,59}. ¹¹C-PiB es un agente radiactivo análogo de la tioflavina de bajo peso molecular capaz de medir depósitos de A β mediante PET *in vivo*. Es el ligando más estudiado y validado ⁶⁰ y es muy útil para predecir la conversión de DLC a demencia por EA, siendo sus rangos de sensibilidad y especificidad entre 83,3%-100% y entre 41.1%-100% respectivamente ⁶¹. Se ha encontrado una excelente correspondencia entre la unión de ¹¹C-PiB y la deposición cerebral de A β en los estudios anatomopatológicos ⁶². Los estudios de imagen con ¹¹C-PiB son apropiados para realizar un diagnóstico de la EA en los casos sintomáticos, así como en los estadios iniciales de la enfermedad ⁶³. Este factor es importante, ya que las técnicas de imagen de tipo estructural únicamente permiten realizar un diagnóstico lo suficientemente sensible y específico de la EA en un estadio avanzado de la enfermedad ⁶⁴.

→¹⁸F-Fluorodesoxiglucosa

La glucosa marcada radiactivamente se utiliza para medir el metabolismo cerebral, el cual es un indicador indirecto de su actividad sináptica. Los estudios con FDG-PET han mostrado que en los enfermos de Alzheimer existe un hipometabolismo cortical simétrico distintivo que se extiende desde las regiones

parietales y el giro cingulado posterior al córtex temporal y prefrontal por lo que representa un biomarcador útil para evaluar los procesos de neurodegeneración

36.

→PET-Tau

Se han desarrollado varios radiofármacos para detectar *in vivo* los ovillos neurofibrilares de Tau característicos de la EA. Mediante estudios PET-Tau *in vivo* se ha objetivado el patrón de progresión de patología Tau por el córtex cerebral ⁶⁵⁻⁶⁷, que comienza en la región temporal medial, se extiende posteriormente por el sistema límbico y finalmente implica a todo el isocórtex ⁶⁸. Esta distribución característica de la patología Tau ⁶⁷ es responsable de los síntomas clínicos más frecuentes de estadios iniciales de la EA, la pérdida de memoria reciente, con deterioro progresivo de otras áreas cognitivas, como la función ejecutiva, el lenguaje y la función visoespacial ⁶⁹. Además, este patrón de progresión a nivel topográfico ^{67,70} explica la afectación de predominio cortical temporal y parietal posterior observada en los estudios de neuroimagen estructural o funcional en los estadios iniciales de la EA ⁷¹.

Imagen por resonancia magnética estructural (RMN)

La RMN es un biomarcador topográfico, útil para evaluar los cambios cerebrales relacionados con el patrón regional de daño neurológico de la EA ⁴⁴. Los individuos con EA presentan una degeneración sináptica y neuronal progresiva que afecta a múltiples regiones del cerebro, principalmente al hipocampo y a las áreas cortical y subcortical ⁷². Los hallazgos de la RMN en la EA incluyen tanto la atrofia generalizada como la atrofia focal, así como las lesiones de la sustancia

blanca. En general, estos hallazgos son inespecíficos, sin embargo, la atrofia del hipocampo y del lóbulo temporal medial constituyen los hallazgos más característicos de la EA con una sensibilidad del 78-94% y una especificidad del 60-100% ⁷³⁻⁷⁵. Se ha descrito que el volumen del hipocampo puede predecir la tasa de progresión de DCL a demencia por EA, sin embargo, su uso en la práctica clínica es limitado ⁷⁶.

Limitaciones de los biomarcadores

La mayoría de estas técnicas no son adecuadas para el cribado poblacional repetido en etapas preclínicas. Su empleo está restringido por el uso de isótopos ionizantes (radiactividad), altos costos, baja disponibilidad y/o resolución o especificidad limitadas ⁷⁷⁻⁸¹. En cuanto a los trazadores y las modalidades disponibles para PET, no permiten la detección de formas tempranas pequeñas o solubles de acumulación de A β ^{81,82}. Los marcadores de LCR (A β ₄₂, tTau, pTau) si bien han demostrado alta sensibilidad y especificidad, tampoco son útiles para el cribado masivo debido a que la extracción de LCR sigue siendo un procedimiento invasivo. Los recientes avances en el desarrollo de marcadores de plasma (A β ₄₂, pTau, etc...) suponen una de las líneas de investigación más prometedoras, aunque aún están en proceso de ser validados para su uso clínico y quedan en el aire muchas incógnitas que se deberán resolver antes de poder plantear su uso en cribados poblacionales, como por ejemplo la potencial interferencia de otros órganos corporales y procesos metabólicos periféricos ⁸¹.

Dado que los cambios neuropatológicos preceden años o incluso décadas a los síntomas clínicos, y se consideraría óptimo tratar la enfermedad tan pronto como

sea posible. Por este motivo, el interés actual se centra en la búsqueda de biomarcadores de la EA en fase preclínica. Un biomarcador debe identificar correctamente a los pacientes en riesgo, predecir la posible la progresión clínica y ayudar a la correcta selección y categorización de individuos en ensayos clínicos de intervención terapéutica preclínica.

1.4. Continuo de Alzheimer y dinámica de biomarcadores

La forma de definir la EA ha experimentado cambios significativos en los últimos años conforme avanzaba el conocimiento biológico de la enfermedad. Desde la publicación de las directrices de 2011^{13,83,84}, el progreso científico condujo al NIA-AA a actualizar estas guías y a unificar criterios clínicos y marcadores biológicos. Esta actualización se denomina "marco de investigación", porque su uso previsto es para la investigación no para la atención clínica de rutina⁸⁵, y ha redefinido la EA según los procesos patológicos subyacentes de la enfermedad. Considera la EA como un proceso continuo, dado que el deterioro cognitivo en la EA se produce durante un período prolongado⁸⁶⁻⁸⁸, y la afectación progresiva de los biomarcadores también es un proceso continuo que comienza antes de los síntomas⁸⁹⁻⁹⁴.

A propósito de estas investigaciones, se desarrolló un nuevo sistema denominado AT(N) para categorizar los biomarcadores *in vivo*, independientemente del estado cognitivo de los sujetos, basado en el proceso biológico que comprende cada biomarcador: "A" se refiere al biomarcador A β (PET-A β o LCR), "T" se refiere a Tau patológico (pTau en LCR o PET-Tau), y "N" se refiere a la neurodegeneración (LCR tTau, FDG-PET o RMN) (tabla 1). Basándose en el razonamiento de que la EA es un continuo, esta clasificación

define los cambios patológicos secuenciales comenzando con la deposición de A β seguida de patología Tau y, finalmente, neurodegeneración ⁹⁵. De hecho, este modelo, apoyado por estudios genéticos, por estudios longitudinales de neuroimagen cerebral y por estudios fisiopatológicos, enfatiza que es necesario la presencia de A β y Tau para definir la EA ⁹⁵. El sistema AT(N) es flexible para incorporar nuevos biomarcadores según la disponibilidad futura, actualmente en estudio, incluidos los biomarcadores que miden cambios vasculares, cambios inflamatorios y daño sináptico ^{79,96}.

Tabla 1. Sistema de clasificación AT(N). Este esquema reconoce tres grupos generales de biomarcadores basados en la naturaleza del proceso patológico de cada uno ^{85,95}.

Clasificación biomarcadores AT (N)
<i>A: depósito de Aβ</i> Aβ₄₂ o ratio Aβ₄₂/Aβ₄₀ en LCR PET amiloide <i>T: depósito de Tau (ovillos neurofibrilares)</i> pTau en LCR PET-Tau <i>(N): Neurodegeneración o daño neuronal</i> RMN PET FDG tTau en LCR

Abreviaciones: A, amiloide; A β , beta amiloide; FDG, fluoroacetilglucosa; LCR, líquido cefalorraquídeo; RMN, resonancia magnética nuclear; N, neurodegeneración; T, Tau.

Este marco de trabajo, ideado en principio para su uso en investigación, ha desplazado el concepto de la enfermedad de un constructo clínico hacia una entidad definida biológicamente, centrándose en el diagnóstico de EA con biomarcadores en personas vivas ⁸⁵ y establece que cualquier sujeto en el que

se haya demostrado de forma objetiva la presencia de niveles alterados de A β , de forma aislada o en combinación con marcadores de patología Tau, se considera dentro del continuo Alzheimer, independientemente de su estado cognitivo. Se propuso la denominación *cambios patológicos de Alzheimer* para los casos en los que únicamente se encuentren alteraciones de A β , reservando el término *enfermedad de Alzheimer* para aquellos que demuestren además marcadores de Tau positivos. Los biomarcadores de lesión neuronal y los síntomas cognitivos no son específicos de la EA, y se utilizan solo para estadificar la gravedad, no para definir la presencia del continuo de Alzheimer (tabla 2).

Tabla 2. Perfil y categorización de enfermedad de Alzheimer según los biomarcadores ⁸⁵.

Perfil AT (N)	Categoría según biomarcador	
A-T- (N)-	Biomarcadores normales	
A+T- (N)-	Cambios patológicos de Alzheimer	Continuo de Alzheimer
A+T+ (N>>	EA	
A+T+ (N)+	EA	
A+T- (N)+	EA y sospecha de enfermedad concomitante	
A-T+ (N)-	No cambios patológicos de EA	
A-T- (N)+		
A-T+ (N)		

Abreviaciones: A, depósito de A β ; EA, enfermedad de Alzheimer; (N), neurodegeneración o daño neuronal; T, depósito de Tau (ovillos neurofibrilares).

De acuerdo con la hipótesis de la cascada amiloide ⁹⁷, el continuo Alzheimer comenzaría con los *cambios patológicos de Alzheimer* consistentes en el depósito aislado de A β cortical, a lo que se sumaría con el paso del tiempo la patología Tau, constituyendo entonces una enfermedad de Alzheimer definida

biológicamente y dando lugar a un proceso de neurodegeneración progresivo que finalmente desembocaría en el inicio de la clínica cognitiva y el deterioro funcional que caracteriza a la demencia (Fig. 2).

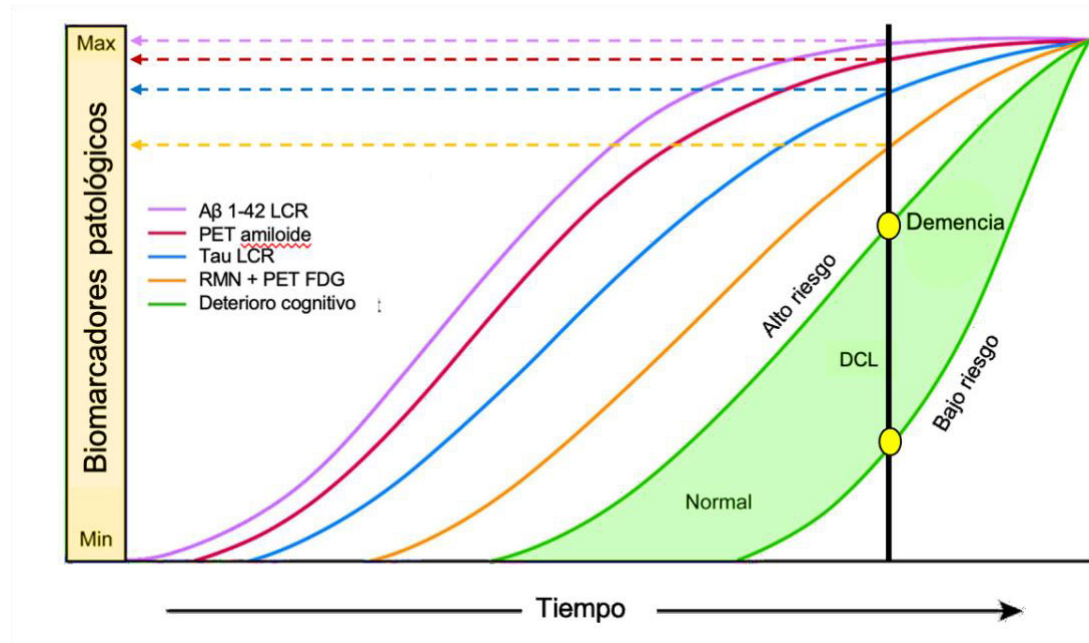


Figura 2. Modelo dinámico de aparición de biomarcadores y progresión de la EA propuesto por Jack et al. Imagen modificada de Jack et al. 2013 ⁹⁷. La figura muestra la relación entre el grado de anomalía de los biomarcadores (eje y) y el tiempo (eje x). La patología Aβ se identifica mediante Aβ₄₂ en LCR (línea morada) o mediante PET amiloide (línea roja) y son los primeros biomarcadores que se ven alterados. A continuación, se alteran Tau en LCR (línea azul) y por último los biomarcadores de neurodegeneración, tales como la atrofia cerebral en la resonancia magnética y el hipometabolismo cerebral (FDG-PET) (se representan conjuntamente con una línea naranja). Todas las curvas convergen en la esquina superior derecha del gráfico, el punto de máxima anomalía. La respuesta cognitiva se ilustra como una zona (área verde) con puntos de mayor o menor riesgo. La línea negra vertical marca un tiempo concreto, y la proyección de la intersección de este tiempo con las curvas de biomarcadores hacia el eje vertical izquierdo (flechas horizontales discontinuas) da valores de cada biomarcador en ese momento. Aβ₄₂ en LCR es el más patológico en cualquier momento dado de la progresión de la enfermedad. La intersección del tiempo T con la zona de deterioro cognitivo da un deterioro cognitivo para ese punto fijo en el tiempo. Los sujetos que tienen un alto riesgo de deterioro cognitivo debido a la

fisiopatología de la EA se muestran con una curva de respuesta cognitiva que se desplaza hacia la izquierda. Por el contrario, la curva de respuesta cognitiva se desplaza hacia la derecha en sujetos con un perfil genético protector, alta reserva cognitiva y ausencia de patologías cerebrales asociadas. Esta gráfica muestra que dos sujetos con el mismo perfil de biomarcadores (en el mismo momento) pueden tener diferentes resultados cognitivos (indicado por círculos amarillos en la intersección del tiempo y los perfiles cognitivos de riesgo bajo versus alto).

Abreviaciones: A β , beta-amiloide; DCL, deterioro cognitivo leve; FDG, fluorodesoxiglucosa; LCR, líquido cefalorraquídeo; PET, tomografía por emisión de positrones; RMN, resonancia magnética nuclear.

Existen otras teorías biológicas acerca del inicio del continuo de la EA. A diferencia de la hipótesis amiloide que asume sucesos causales en serie ⁹⁸, otra hipótesis sugiere que ambos procesos fisiopatológicos pueden ser procesos independientes que comparten una etiología común ⁹⁹. Incluso, dado los hallazgos anatomopatológicos de patología Tau encontrados en individuos jóvenes, se ha propuesto que el depósito subcortical de Tau sea el punto de partida de la cascada fisiopatológica de la EA, que comienza ya en la primera década de la vida ^{100,101}. Esta última hipótesis es aún controvertida, dado que la Taupatía ocurre en una proporción tan alta de individuos jóvenes clínicamente asintomáticos, que podría ser una variante del envejecimiento o podría conducir a un deterioro cognitivo sutil pero no a una demencia por EA ¹⁰⁰.

Hoy en día, la investigación se centra en el diagnóstico de EA en las etapas prodrómica y preclínica en un esfuerzo por definirlas adecuadamente, para diseñar ensayos clínicos de intervención temprana con el fin de aplicar tratamientos potenciales antes de que se establezca el daño ¹⁰².

Los biomarcadores core de LCR y las imágenes PET son técnicas reconocidas para el diagnóstico biológico de la EA, la predicción de resultados clínicos ⁸⁵ y

una diferenciación precisa de la EA de las demencias de otras etiologías ^{103,104}. Sin embargo, todavía existen restricciones en la práctica clínica, como problemas de estandarización y carácter invasivo en el caso de los marcadores de LCR, y altos costos y disponibilidad limitada en el caso de la PET amiloide, que limitan su uso en la práctica clínica y como herramienta de screening poblacional ^{45,105}. Estas limitaciones hacen que sea prioritario explorar otros métodos de diagnóstico aplicables a la población general, quizás a través de otro tejido del SNC: la retina.

II. La retina y el nervio óptico: extensión del SNC

Existe una necesidad importante de identificar una modalidad de diagnóstico no invasiva y coste-efectiva que sea ampliamente accesible para los pacientes. Esto ha conducido al estudio de la retina y el nervio óptico (NO) como potenciales biomarcadores para la EA. Embriológicamente, estas estructuras derivan del diencéfalo y se consideran una extensión del SNC ^{106–109}.

La retina constituye la capa más interna del ojo, y está formada por conexiones neuronales que se extienden hasta el NO y de ahí al SNC. Las células fotorreceptoras, situadas en la capa más externa de la retina, transforman los estímulos luminosos en impulsos nerviosos, iniciando una cascada de señales neuronales. Estos estímulos conectan con las células bipolares (primera neurona) y después, con las células ganglionares de la retina (CGR) (segunda neurona). Los axones de las CGR se unen para formar el NO, y atraviesan la lámina cribosa. A nivel del quiasma óptico, las fibras de la retina nasal se decusan y posteriormente continúan formando la cintilla óptica, haciendo sinapsis en el núcleo geniculado lateral del tálamo (tercera neurona; NGL) de donde parten las radiaciones ópticas hasta la corteza visual en el lóbulo occipital superior e inferior de la fisura calcarina ^{107–109}.

2.1. Anatomía y fisiología del nervio óptico

El nervio óptico tiene un diámetro dentro de la esclera de 1.5mm y es mayor en su salida del globo ocular (3mm). Se puede dividir en tres partes: la porción prelaminar, la laminar y la retrolaminar, separadas por la lámina cribosa (LC) (Fig. 3).

La capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) es la zona más anterior del NO y está formada por los axones de las CGR. Entre 1.2 - 1.5 millones de estos axones confluyen y forman el NO. Característicamente, carecen de mielina hasta traspasar la LC, por lo que pueden ser buenos marcadores de daño axonal. La porción prelaminar, es la región anterior de la LC. A este nivel predominan los axones desmielinizados y un gran número de astrocitos. En la porción laminar, los axones atraviesan los poros formados por haces de colágeno de la LC. Finalmente, en la porción retrolaminar, posterior a la LC, los axones se caracterizan por estar recubiertos de una vaina de mielina. Desde ahí, el NO rodeado por las tres capas meníngeas discurre hasta el NGL ^{110,111}.

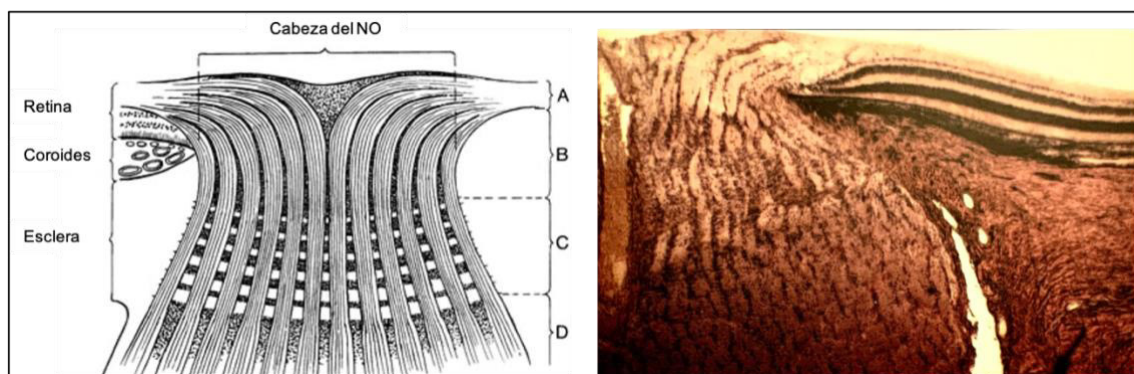


Figura 3. Representación anatómica e histológica de las partes del nervio óptico en su salida del globo ocular. (A) Capa de fibras nerviosas de la retina confluyendo en la papila óptica. (B) Porción prelaminar. (C) Porción laminar formada por la lámina cribosa. (D) Porción retrolaminar.

La LC es una estructura constituida por una red multicapa de fibras de colágeno que se insertan en la pared del canal escleral, proporcionando el soporte estructural principal al NO cuando sale del ojo. La LC contribuye en el mantenimiento del gradiente de presión entre el interior del ojo y el tejido circundante. Al ser estructuralmente más fina que la esclera, es más sensible a

los cambios de presión intraocular (PIO) y sufre un desplazamiento posterior al aumentar la presión ocular. La microscopía electrónica de barrido de la lámina cribosa normal revela una menor densidad de tejido conectivo y material de matriz extracelular en sus polos inferior y superior, donde los poros laminares son más grandes en comparación con las regiones nasal y temporal. Esta diferencia puede explicar la mayor susceptibilidad al daño de las regiones inferior y superior del nervio óptico ^{112,113}.

2.2. Anatomía y fisiología de la retina

La retina está formada por el epitelio pigmentario de la retina (EPR) y la retina sensorial, separados por un espacio virtual llamado espacio subretiniano. La retina sensorial se extiende desde la papila (capa de fibras peripapilares) hasta la ora serrata, en el límite con la pars plana ciliar ¹¹⁴⁻¹¹⁷.

La retina presenta dos áreas bien definidas: el polo posterior entre las arcadas vasculares temporales y la retina periférica la cual se extiende desde la mácula hasta la ora serrata (donde se continua con un epitelio no pigmentado en la pars plana) (Fig. 4) ¹¹⁴⁻¹¹⁷. Ambas zonas se diferencian desde un punto de vista histológico por la presencia de un mayor número de CGR en el lado temporal a la papila en el polo posterior.

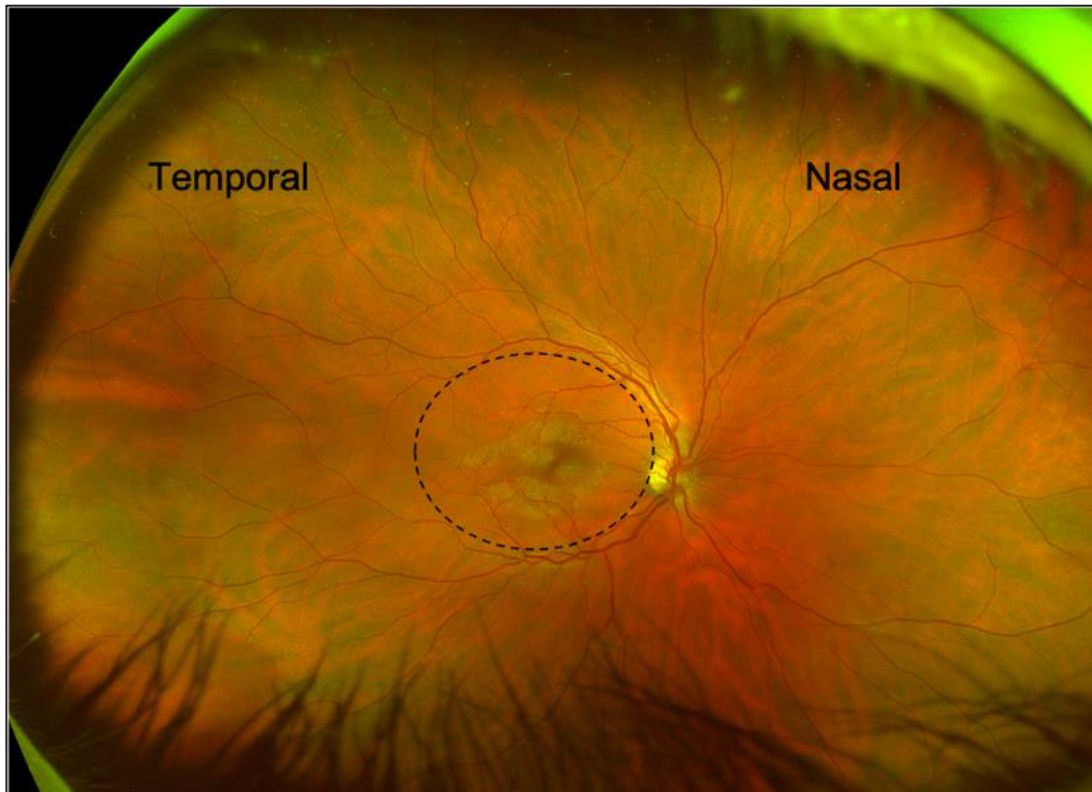


Figura 4. Representación del fondo de ojo. Se distingue la periferia retina de la retina temporal y nasal respecto al nervio óptico. El área comprendida dentro de la línea circular discontinua corresponde al polo posterior, el área de la retina con mayor concentración de células ganglionares.

Estructuralmente, la retina neurosensorial está compuesta por nueve capas contiguas, microscópicas, interconectadas por sinapsis neuronales: la membrana limitante interna (MLI), la CFNR, la capa de células ganglionares de la retina (CCGR), la capa plexiforme interna (CPI), la capa nuclear interna (CNI), la capa plexiforme externa (CPE), la capa nuclear externa (CNE), la membrana limitante externa (MLE) y la capa de fotorreceptores (Fig. 5) ^{114–117}.

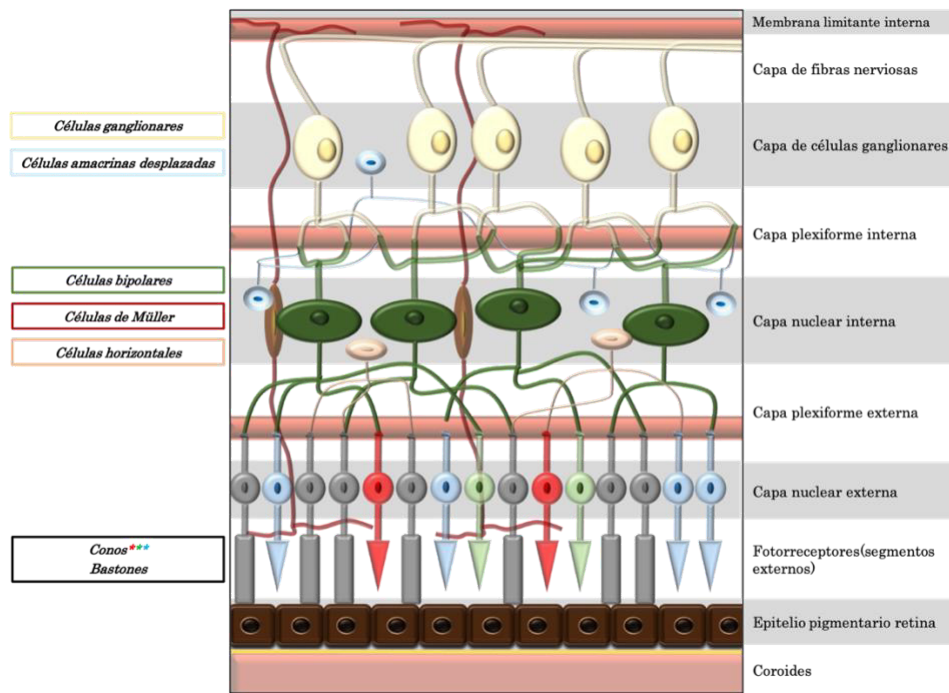


Figura 5. Esquema de las capas de la retina. Los somas celulares se encuentran en tres capas nucleares, la capa de células ganglionares de la retina, la capa nuclear interna y la capa nuclear externa. Los contactos sinápticos tienen lugar en la capa plexiforme interna y en la capa plexiforme externa. Al igual que en el cerebro, la retina posee diferentes tipos de células gliales de soporte: los astrocitos, las células de Müller y la microglía.

2.3. Características de las células ganglionares de la retina

La información visual generada por los fotorreceptores se transmite a través de las células bipolares a las CGR, cuyos axones salen del ojo llegando al NGL ¹¹⁸. La CCGR reúne los núcleos de las CGR y las células amacrinas desplazadas. En la región peripapilar temporal, estos núcleos están empaquetados firmemente y forman una multicapa celular en la macula (Fig.6), mientras que en la periferia se dispersan y forman una capa monocelular.

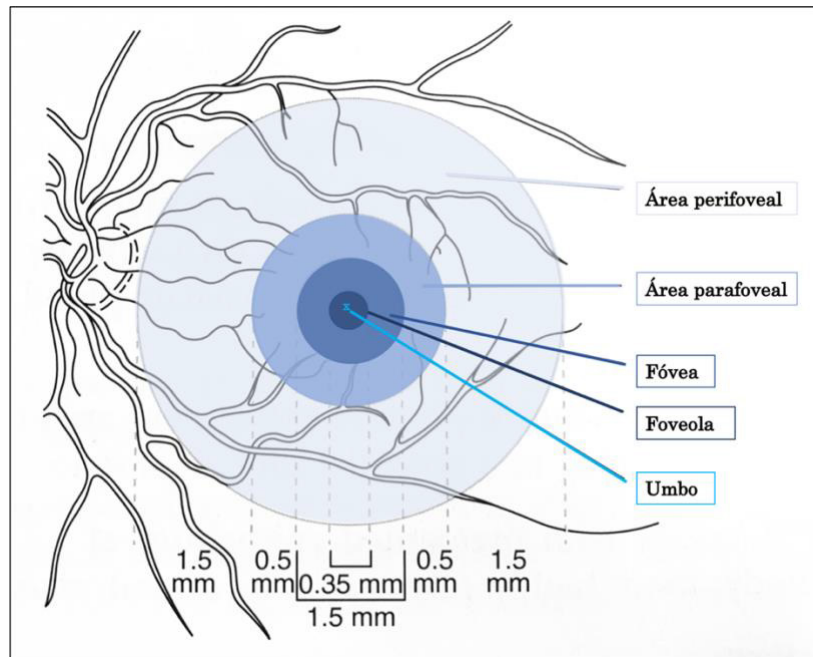


Figura 6. Representación gráfica del área macular. La mácula es un área concreta en el centro de la retina y se divide en varias zonas, el área perifoveal, el área parafoveal, la fovea y la foveola. En el área perifoveal las células ganglionares de la retina (CGR) se disponen formando una capa monocelular como en la retina periférica. Dentro del área parafoveal las CGR se disponen formando una capa multicelular. La fovea es una depresión central de 1.5 mm en el centro de la mácula. La capa de CGR y la capa nuclear interna desaparecen dentro de la fovea. La foveola es una zona avascular, libre de CGR y bastones, solo hay conos y células de Müller. Una pequeña protuberancia en el centro de la foveola, denominada umbo, tiene una alta concentración de conos alargados ^{114–117}.

Hay más de 1 millón de CGR con una densidad aproximada de 20.000/mm² en los cuadrantes centrales y menos de 500/mm² en la periferia. Se han reconocido al menos 30 tipos morfológicos diferentes de CGR en la retina humana, pero solo algunos de ellos se consideran esenciales para la función de las cuatro vías visuales diferentes ¹¹⁹:

1. Las CGR enanas o CGR-P (alrededor del 80% de las CGR totales) se proyectan a las capas parvocelulares del NGL. Las CGR-P se encuentran en su mayoría en el haz papilomacular.

2. Las CGR parasol o CGR-M (5–15%) se proyectan a las capas magnocelulares del NGL.
3. Las CGR biestratificadas forman parte de la vía visual koniocelular que se proyecta hacia las capas koniocelulares del NGL.
4. Las CGR que contienen melanopsina o CGR (aproximadamente el 1% del total de las CGR) se proyectan principalmente hacia el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, formando la vía retino-hipotalámica.

Estas CGR tienen características comunes específicas, como la ubicación de sus somas en la CCGR, la arborización de sus dendritas en la CPI y la unión de sus axones para formar el NO, y proyectarse hacia el NGL ¹¹⁹.

Una característica importante de la vía P es que las CGR-P están conectadas a células bipolares pequeñas, son específicas de un solo cono y están situadas en los 2 mm centrales alrededor de la fovea. Se cree que este circuito neuronal uno-uno forma la base de la oposición rojo-verde ¹²⁰. Las CGR-P tienen cuerpos celulares pequeños, axones delgados y árboles dendríticos estrechos con un patrón de ramificación más tupido y denso ¹²¹. En cambio, las CGR-M constituyen una proporción más pequeña de CGR, están formadas por grandes cuerpos celulares, axones gruesos y árboles dendríticos de amplia ramificación radial; son sensibles a longitud de onda larga y media, y transmiten información visual acromática con alta resolución temporal y menor resolución espacial ¹²². Además, las fibras grandes exhiben una conducción de pulso más rápida que las fibras más pequeñas ¹²³. Estudios histológicos muestran que el 90% de los axones de las CGR-P se encuentran en la fovea y en la mácula, mientras que

los axones de mayor calibre (magnocelulares) se sitúan perifoveales y en la periferia retiniana ¹²⁴.

En las enfermedades neurodegenerativas, sistémicas y oculares, se han descrito diferentes patrones de daño de las CGR. Por ejemplo, se ha mostrado que el daño axonal en la EA afecta típicamente a las CGR-M, reflejando un adelgazamiento preferencial de la CFNR en los sectores superior e inferior del NO ¹²⁵. Este patrón es similar al patrón de daño en la atrofia multisistémica ^{126,127}, y se parece al descrito en el glaucoma ¹²⁸. En cambio, la enfermedad de Parkinson ¹²⁵, la esclerosis múltiple ^{129,130} y las neuropatías ópticas mitocondriales ^{131,132} se caracterizan por la pérdida preferencial de las CGR-P del haz papilomacular, que se refleja en el adelgazamiento temporal de la CFNR.

2.4. Características de la capa de fibras nerviosas de la retina

Los axones amielínicos de las CGR se extienden en dirección al vítreo para formar la CFNR ¹¹³. En la papila óptica, todos los axones giran para salir del globo ocular, por ello las variaciones de la CFNR son más llamativas en la región peripapilar donde la flexión de las fibras nerviosas crea diferentes variaciones anatómicas en el grosor de esta capa. El grosor del anillo neurorretiniano (ANR) es más estrecho en el sector temporal (T) de la cabeza del NO, y progresivamente más ancho en nasal (N), superior (S) e inferior (I). Los haces de fibras ocupan la parte más externa de la papila y forman el ANR, mientras que el centro de la papila carece de axones, estando ocupado por vasos y tejido conectivo (Fig. 7).

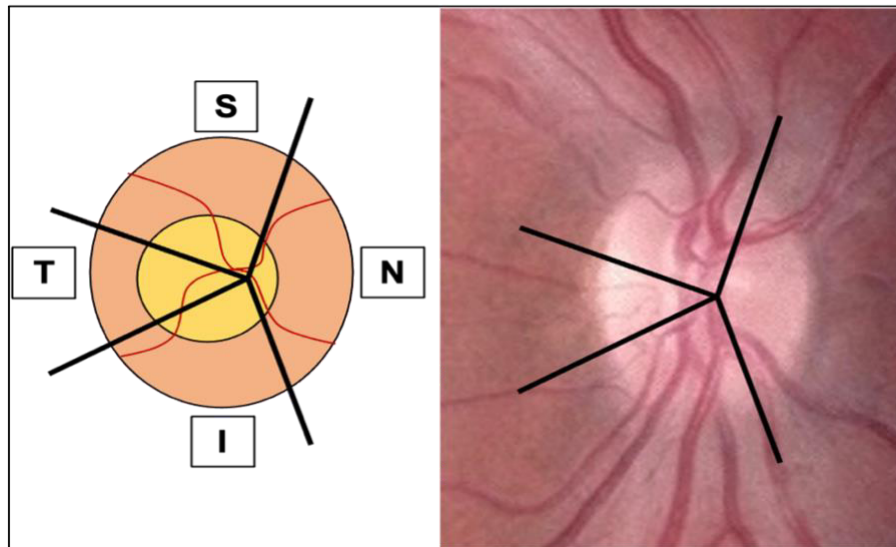


Figura 7. División en sectores de la papila óptica. A través anillo del neurorretiniano (naranja) discurren los axones del nervio óptico, mientras que la excavación central de la papila (amarillo) está formado por vasos y tejido conectivo. I, inferior; N, nasal. S, superior; T, temporal.

La distribución topográfica de los axones en la retina es específica y éstos confluyen en la papila con un patrón organizado (Fig. 8) ^{113,124}:

- Los axones de las CGR originados **en la retina nasal**, siguen un curso relativamente recto hacia la papila, y pasan al disco óptico como fibras radiantes NS y NI.
- Los axones de las CGR originados **en la mácula** discurren hacia el borde temporal del NO mediante un fascículo prácticamente rectilíneo y directo formando el haz papilomacular. Los axones del haz papilomacular (predominantemente formados por CGR-P) entran dispuestos temporalmente en la cabeza del NO, pero a lo largo del camino hacia el NGL se desplazan gradualmente hacia el centro del NO. Las fibras más grandes (predominantemente formadas por CGR-M) se localizan en mayor proporción en la periferia del nervio.

-Los axones de las CGR procedentes de la **región temporal** de la retina siguen un curso arqueado alrededor del haz papilomacular, sin cruzar el eje horizontal que se extiende desde la fovea hasta la periferia de la retina temporal, y forman las porciones temporales superior e inferior de la cabeza del nervio óptico. Son las fibras más susceptibles al daño glaucomatoso ¹²⁸. Otra característica de la CFNR es que los axones procedentes de las CGR localizadas en la periferia de la retina se mantienen en profundidad dentro de la CFNR y ocupan la porción mas periférica (superficial) del NO. Por otro lado, los axones que proceden de las CGR localizadas próximas a la papila discurren superficiales a los que provienen de la periferia, y ocupan la porción central del NO ¹²⁴. Por ello, el grosor de la CFNR aumenta desde la periferia hacia el polo posterior de la retina, aunque existen diferencias regionales.

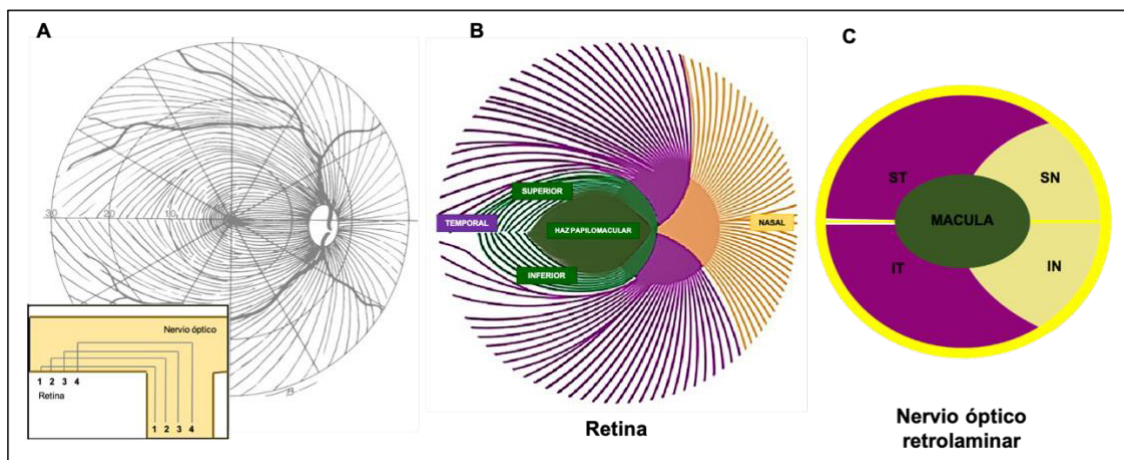


Figura 8. Distribución de los axones de la CFNR en la retina y en el nervio óptico ^{113,124}. (A) En el corte transversal del nervio óptico (NO) se observa como las fibras de la retina periférica se mantienen en profundidad dentro de la CFNR para ocupar después una ubicación más superficial en el trayecto del nervio. (B) Distribución de las fibras en la retina y a su llegada a la cabeza del NO. (C) Distribución de los axones en la región retrolaminar del NO. Se aprecia como los axones del haz papilomacular, dispuestos temporalmente en la cabeza del NO, se desplazan gradualmente hacia el centro.

2.5. Anatomía y fisiología de la coroides

La coroides es la parte posterior de la úvea que se extiende desde la ora serrata hasta el NO. La coroides es una estructura vascular que se encuentra debajo del EPR y está regulada por el sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático ^{133–135}. Se encarga del suministro de oxígeno, nutrientes y factores de crecimiento a la retina externa y al EPR ^{136,137}. Por lo tanto, es muy importante medir con precisión los cambios del grosor de la coroides en muchas enfermedades del segmento posterior y en enfermedades sistémicas.

El suministro de sangre proviene de 1-2 arterias ciliares posteriores largas y 15-20 cortas (desde la carótida interna a la arteria oftálmica y de ahí a las arterias ciliares posteriores) ^{133–135}.

Las capas de la coroides, a continuación del EPR, son ^{133–135}:

1. La membrana de Bruch (MB) es la capa más interna en contacto con el EPR. Ambas capas continúan con el epitelio ciliar pigmentado.
2. La coriocapilaris es una fina capa de capilares fenestrados (40-60 µm) que nutre las capas externas de la retina y el EPR.
3. El estroma está formado por vasos sanguíneos principalmente dispuestos en dos capas, la capa de Haller más externa (capa de vasos de gran calibre) y la capa de Sattler (capa de vasos de calibre intermedio).
4. El espacio supracoroideo o lámina fusca es una capa de tejido conjuntivo formada por laminillas donde se observan fibras elásticas, colágeno y celularidad representada por melanocitos y fibroblastos que separa los capilares de la esclera.

III. Fisiopatología ocular en la enfermedad de Alzheimer

Las similitudes entre el SNC y la retina junto con la búsqueda de nuevos biomarcadores han favorecido que la retina sea objeto de estudio en la EA. Investigaciones exhaustivas sobre la retina revelaron la utilidad prometedora de este tejido incluso en las primeras etapas de la EA ¹³⁸ y gracias a los avances tecnológicos, la retina se ha convertido en un tejido humano viable y accesible *in vivo*, una “ventana” al SNC ¹³⁹.

3.1. La retina: ventana al sistema nerviosa central y a la enfermedad de Alzheimer

Dado el origen embriológico común, la retina comparte muchas características estructurales y funcionales con el SNC, como una amplia red neuronal, sistemas neuroquímicos y de neurotransmisores complejos, microglía y macroglía y barreras sanguíneas ^{106,140–147}. Estas poblaciones de neuronas y células gliales secretan proteínas relacionadas con la cascada amiloide y los axones del NO facilitan el transporte vesicular de *APP* hacia y desde las CGR ¹⁴⁶.

La neurobiología común y la conexión directa entre la retina y el cerebro hacen pensar que los cambios retinianos pueden reflejar procesos fisiopatológicos similares al SNC ^{148–150}. Como veremos a continuación, la estrecha relación se ha establecido histológicamente, clínicamente y más recientemente a través de dispositivos tecnológicos de imagen no invasivos, como la tomografía de coherencia óptica (OCT) entre otros, proporcionando una mejor comprensión de los procesos en el SNC, como el envejecimiento saludable y la neurodegeneración.

3.2. Características histológicas de la retina en la enfermedad de Alzheimer

La primera evidencia histopatológica de degeneración axonal difusa en el nervio óptico y la reducción del grosor de la CFNR en sujetos con EA fue descrita hace más de dos décadas por Hinton et al. ¹⁵¹. Estudios histológicos posteriores confirmaron la degeneración de la retina interna, más pronunciada en el cuadrante S e I del NO ^{152–155}. Un análisis post-mortem detallado sobre las neuronas de la CCGR en pacientes con EA, confirmó el daño generalizado de las CGR en toda la retina y, además, mostró que la mayor disminución de la densidad neuronal ocurre en los cuadrantes S e I, oscilando entre el 40% y el 49% en media periferia y alcanzando el 50-59% en la retina inferior periférica lejana ¹⁵⁶. Este mismo grupo estudió la pérdida de CGR que tiene lugar en la región foveal, y determinó que el sector T es el más gravemente afectado, con una disminución de hasta un 52% de la densidad neuronal cerca de la foveola ¹⁵⁷.

Un estudio reciente realizó por primera vez un análisis cuantitativo de las capas interna y externa de la retina usando tejido postmortem de sujetos con EA confirmada histológicamente ¹⁵⁸. El análisis se realizó en la retina periférica cercana y media superior para evaluar los cambios de espesor en relación con el NO y con la región central y superior de la mácula. Los resultados mostraron un adelgazamiento significativo para todas las capas retinianas evaluadas (CFNR, CCGR, CPI, CNE, CNI) con diferentes patrones de adelgazamiento por capa y por región (supero-nasal o supero-temporal), con respecto al nervio óptico. mostraron tanto en capas internas como externas e informaron sobre un

gradiente de reducción del grosor, según el cual el adelgazamiento fue mayor en las capas internas seguidas por las capas externas de la retina ¹⁵⁸.

3.3. Placas A β retinianas en modelos animales y pacientes humanos con enfermedad de Alzheimer

Estudios recientes han identificado depósitos de A β en la retina humana y en modelos animales ^{78,159–163}. Incluso, algunos han determinado que hay suficientes datos clínicos y preclínicos que respaldan que el depósito de A β en la retina se correlaciona con el depósito de A β cerebral e incluso puede precederlo ^{113,159,163–165}.

Así como los primeros estudios histológicos mostraron características inespecíficas de degeneración retiniana ^{151,153,156,157}, hace más de una década el grupo de Koronyo fue el primero en detectar características patológicas específicas de la EA en retinas postmortem en humanos ¹⁵⁹. Identificaron depósitos aislados de A β en la retina de sujetos con demencia EA y de casos sospechosos en estadio temprano ¹⁵⁹.

Previamente, se detectaron depósitos de A β en diferentes modelos de ratón transgénico con EA en algunas partes del sistema visual, incluida la retina, ^{159,166–169}. Además, algunos estudios correlacionaron estos depósitos con la carga de A β cerebral ^{159,167,168}. De acuerdo con estos hallazgos, numerosos estudios en modelos animales transgénicos de EA detectaron depósitos de A β , A β vascular, pTau y filamentos helicoidales emparejados de Tau, a menudo asociados a la degeneración de las CGR, a la activación microglial y a alteraciones de la estructura y función de la retina ^{78,159,161,162,165,168,170–184}. Estos estudios

describieron abundantes depósitos de A β principalmente en las capas más internas de la retina (CCGR y CFNR) ^{159,161,165,168,171,175,180}.

Estudios posteriores han corroborado la presencia de A β en la retina humana, ^{78,80,152,161,162,170,171,185–190}, así como su localización dentro de la misma ^{78,159,161,190,191}. La distribución topográfica de los depósitos A β ha sido descrita por Koronyo histológicamente y mediante un microscopio óptico utilizando curcumina como agente de contraste en modelos animales ^{78,159} y en humanos ¹⁶¹. Los depósitos de A β en la retina con EA se concentraron con frecuencia en la periferia media y lejana de los cuadrantes S e I ¹⁶¹, coincidiendo con el patrón detectado *in vivo* mediante imágenes de curcumina retiniana en pacientes con demencia ¹⁶¹ y DCL ¹⁹¹. De acuerdo con esto, un estudio publicado hace dos años confirmó que los depósitos de A β se localizaron de forma preferente en media periferia respecto al centro de la retina ¹⁹⁰. Además, describieron un mayor depósito de A β intracelular asociado con menos placas neuríticas cerebrales y un aumento A β extracelular relacionado con mayor AAC, estrechando aun más la relación entre el SNC y la retina en la EA ¹⁹⁰.

El estudio concreto de la retina en media periferia, mostró un depósito de A β predominante en las capas internas de la retina (CCGR ^{152,161,190}, CNI ¹⁶¹, CNE ¹⁶¹, CNI ¹⁸⁹). El análisis morfométrico mencionado previamente, reveló un adelgazamiento de la CFNR más cercano al nervio óptico en la región supero-temporal, y un adelgazamiento difuso en la región nasal ¹⁵⁸, concordando con la distribución de los depósitos retinianos de A β en la periferia media y lejana de los cuadrantes S de las capas internas de la retina ^{152,156,159,161}. La región supero-nasal resultó ser más delgada en general en comparación con supero-temporal ¹⁵⁸, probablemente por la afectación predominantemente de los axones más

grandes ^{152,159,161}. El análisis cuantitativo de la CCGR y la CPI fue más severo hacia la mácula en la región supero-temporal del NO, mientras que en la región supero-nasal el adelgazamiento de ambas capas se extendió uniformemente hacia la retina periférica ¹⁵⁸. Otras capas internas, la CPI, la CNI y la CNE, también mostraban adelgazamiento, sin embargo, fue mayor el daño de la CCGR y de la CFNR que de la CPI concordando con una mayor concentración de A β en la CCGR ¹⁵².

Un estudio reciente encontró una acumulación notable de A β dentro y alrededor de las CGRm ¹⁵². Este subtipo de CGR ha sido descrito como una variante de los fotorreceptores, y se encargan de regular el ritmo circadiano. El A β puede ser responsable su pérdida y podría explicar las campimétricas y circadánas observadas en los pacientes con EA ^{192–194}. Sorprendentemente, la pérdida de las CGRm se produjo incluso con un recuento de CGR normal, lo que apunta a una patología de EA específica que afecta a las CGRm ¹⁵².

En contraposición, existen estudios que no han demostrado la presencia de placas A β al examinar la retina postmortem de humanos con EA ^{189,195,196}.

3.4. Depósitos Tau en la retina de modelos animales y pacientes humanos con enfermedad de Alzheimer

Otro signo característico clave de la neuropatología de la EA que refleja fuertemente lesión neuronal son los depósitos de proteína Tau ^{197–199}.

Existen varios estudios en modelos de ratón transgénico que documentan la acumulación de Tau en la retina ^{169,171,183–185,200–202} y en menor medida, la

presencia de ovillos neurofibrilares ^{169,183–185,200,201}. El primer descubrimiento de Tau en la retina de mamíferos adultos data de 1988. En este estudio inicial, Tau fue descrita en las células horizontales de la CPE de la retina ²⁰³. Posteriormente, estudios en modelos de ratón, describieron patología Tau en la CCGR ^{169,183}, y entre la CCGR y la CNE ¹⁶⁶. Curiosamente, un estudio mostró que los agregados Tau aparecieron en la CPI y se propagaron a otras capas internas de la retina, hasta la CFNR, antes que los depósitos de A β ²⁰¹. Otro estudio mostró una acumulación de Tau en la retina, en el soma, dendritas y axones de las CGR respetando el NO antes del inicio de los déficits de comportamiento, y precedió al depósito de Tau en el cerebro. Además, demostraron que la acumulación de Tau conduce a un déficit en el transporte anterógrado a lo largo de los axones de las CGR ²⁰⁴.

El patrón de distribución fisiológica de Tau en la retina humana se describió por primera vez en 1995 ²⁰⁵. Según este informe y estudios posteriores, Tau se expresa predominantemente en las capas internas de la retina CPI, CNI y más débilmente en la CCGR y la CFNR así como en los fotorreceptores ^{205,206}. En 2012 se publicó un estudio que mostró la primera evidencia de Tau, reconocido por anticuerpos específicos, asociada a la EA en retinas post-mortem ¹⁸⁵. Los resultados de este estudio fueron corroborados después por otros grupos ^{188,189} y de acuerdo con el patrón de expresión fisiológica de Tau, los depósitos de Tau fueron descritos principalmente en las capas internas de la retina, en particular las capas plexiformes, la CNI y la CCGR de pacientes con EA ^{185,189}. Posteriormente, un análisis cuantitativo reveló que estas capas sufren una atrofia patológica significativa en la EA en comparación con los casos de control sin demencia ¹⁵⁸. Si bien un número limitado de estudios no han podido detectar

histopatológicamente la acumulación anormal de Tau en las retinas de los pacientes^{207,208}.

La hiperfosforilación de Tau impulsa la formación de ovillos neurofibrilares de Tau, lo que provoca interrupciones en el transporte axonal, así como estrés metabólico y oxidativo, y está estrechamente relacionada con la muerte neuronal¹⁹⁹. Aunque se han utilizado varias formas de tinción histológica para confirmar la presencia de ovillos neurofibrilares de Tau en retinas humanas con EA, muchas no han tenido éxito^{185,189}. Hasta la fecha, solo un estudio que usó tinción con plata de Gallyas detectó estructuras similares a ovillos neurofibrilares en retinas post mortem de pacientes con EA¹⁶¹. Esta brecha aparente en los resultados obtenidos de diferentes grupos posiblemente sea debida a la falta de procedimientos experimentales estandarizados.

Así como en modelos de ratón se ha determinado que la hiperfosforilación anormal de Tau y/o la formación de ovillos intracelulares tienen consecuencias perjudiciales en la retina de forma similar al a las observadas en el cerebro, en humanos esta posibilidad sigue en estudio. Sin embargo, la co-localización en la retina de Tau hiperfosforilada^{188,189} y los lugares de pérdida neuronal^{158,161,188} es indicativo de vulnerabilidad similar a la acumulación de Tau en la retina. Además, la acumulación de Tau en la retina y la atrofia retiniana después de una lesión o debida a otros trastornos neurodegenerativos como el glaucoma^{209,210}, revelan la vulnerabilidad de este compartimento de tejido neural a las anomalías estructurales, funcionales y neuropatológicas^{211–213}.

En lo que respecta a las imágenes de Tau *in vivo* en la retina, actualmente no existen herramientas de imágenes en vivo para detectar específicamente agregados de Tau en la retina humana.

En general, solo unos pocos grupos han detectado con éxito la hiperfosforilación de Tau en retinas humanas post mortem de pacientes con EA. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de análisis sistemáticos y cuantitativos de la acumulación de pTau en la retina y su relación con la enfermedad cerebral.

3.5. Patología vascular en la enfermedad de Alzheimer

La angiopatía amiloide cerebral (AAC) es una enfermedad cerebrovascular caracterizada por el depósito de A β , principalmente A β ₄₀, en las paredes de las arterias, arteriolas y capilares cerebrales y se encuentra comúnmente en el cerebro de pacientes con EA ⁴⁻⁷. La AAC es una entidad clínica distinta de la demencia, pero muchos estudios han demostrado que más del 85% de los pacientes con EA tienen AAC de diversa gravedad ^{214,215}. El depósito de A β en la pared vascular desencadena varias vías moleculares patológicas inducidas por la isquemia, como el estrés oxidativo, la inflamación y el aumento de la permeabilidad de la barrera hematoencefálica dando lugar a complicaciones hemorrágicas ²¹⁶. Además, se ha sugerido que la AAC juega un papel importante en el inicio de la demencia temprana ^{217,218} y su progresión ²¹⁷.

Koronyo et al. demostró la existencia de depósitos de A β en los vasos retinianos de pacientes con DCL y EA, tanto dentro de las paredes de los vasos como alrededor de forma similar a la AAC ⁵, especialmente en la CCGR ¹⁶¹. Esto ha sido confirmado recientemente por Shi et al. que demostró la acumulación de A β ₄₂ en los pericitos de los vasos retinianos y la pérdida de los mismos ²¹⁹.

Como la microvascularización retiniana comparte muchas características morfológicas y fisiológicas con los vasos cerebrales ^{147,220,221}, el hallazgo de A β vascular podría explicar el adelgazamiento del diámetro venoso, el aumento de

la zona avascular foveal y la reducción densidad vascular y del flujo sanguíneo en la retina ²²²⁻²²⁹ y el cerebro ^{230,231} de pacientes con EA. Dichos estudios se han centrado ampliamente en la obtención de imágenes en vivo de la dinámica del flujo sanguíneo retiniano de pacientes con EA. Sin embargo, existe una falta significativa de comprensión con respecto a los mediadores moleculares y celulares involucrados en la patología de la EA vascular retiniana.

3.6. Síntomas oculares en la enfermedad de Alzheimer

Una creciente evidencia indica que los pacientes con EA y DCL exhiben un amplio espectro de anomalías oculares, alteraciones del ritmo circadiano y alteraciones visuales ¹⁹⁴. Se ha demostrado que los pacientes con EA temprana sufren deficiencias en la agudeza visual (AV) ²³², sensibilidad al contraste ²³³, percepción del color ²³⁴, campo visual ²³⁵ y percepción del movimiento ²³⁶.

La distribución espacial de A β y Tau, preferentemente localizada en los cuadrantes periféricos S e I de la retina en la EA ^{152,159,161,189} junto con la degeneración de las CGRm y las CGR y el adelgazamiento de la CFNR en estas regiones particulares, puede indicar un déficit funcional específico. Dada la mayor concentración de bastones en la retina periférica y su importancia en la percepción del movimiento y la profundidad, la sensibilidad de bajo contraste y la visión periférica, no sorprende que estas funciones visuales puedan verse afectadas ^{152,157,226,237,238}.

Existe una mayor incidencia de glaucoma en pacientes con EA en comparación con los controles ²³⁹. La disminución de la sensibilidad al contraste, la alteración de la percepción del movimiento y la profundidad, y las alteraciones oculomotoras tanto en pacientes con EA como con glaucoma se atribuyen

parcialmente a una pérdida preferencial de las CGR-M y sus fibras nerviosas^{153,240}.

Por otro lado, se ha demostrado que la alteración de la sensibilidad al contraste en pacientes con MCI se correlaciona significativamente con la carga cerebral de la patología amiloide y Tau²⁴¹.

La evidencia acumulada de pérdida de la visión y deterioro ocular acompañado de cambios progresivos en la retina de muchas enfermedades neurodegenerativas (la EA, el glaucoma, la esclerosis múltiple, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Huntington) apoya que la afectación de áreas específicas de la retina está relacionada con las alteraciones visuales y funcionales en estas enfermedades^{209,240,242–246}.

IV. Tomografía de coherencia óptica en la enfermedad de Alzheimer

La característica organización laminar de la retina permite identificar las neuronas de la retina y sus interconexiones, y en consecuencia, detectar un posible daño neurodegenerativo que esté produciendo alteraciones en la retina ¹⁵⁰. A diferencia del resto del SNC, la retina se puede visualizar *in vivo* usando técnicas oftalmológicas estándar. Este acceso directo, junto con las características comunes al SNC ya mencionadas, ha convertido a la retina en un potencial biomarcador de la EA, incluso en etapas preclínicas. Además, ha habido grandes mejoras en las técnicas de imágenes oftalmológicas en términos de resolución y accesibilidad durante la última década. La aplicación de nuevas técnicas de imagen retiniana de alta resolución, como la tomografía de coherencia óptica (OCT, del inglés “*Optical Coherence Tomography*”) han permitido a los investigadores explorar la patología de la retina relacionada con la EA como una extensión del SNC.

La OCT es una técnica de diagnóstico por imagen que permite de forma no invasiva obtener imágenes *in vivo* de tejidos biológicos accesibles ópticamente. Este sistema se ha establecido como una modalidad de imagen estándar para exploraciones oftalmológicas tanto de segmento posterior como anterior. Durante las tres últimas décadas, la tecnología OCT ha evolucionado hasta convertirse en una herramienta esencial en la práctica clínica oftalmológica (Fig. 9) ^{247,248}.

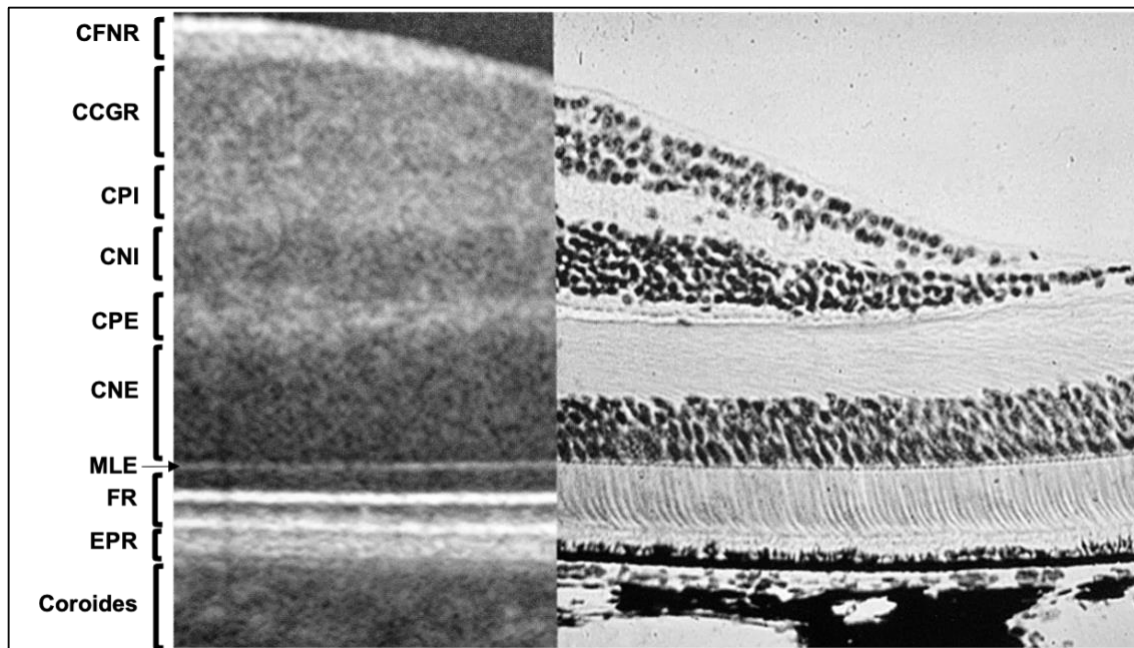


Figura 9. Representación de las capas de la retina en un corte de tomografía coherencia óptica y su correspondiente corte histológico.

Abreviaciones: CCGR, capa de células ganglionares de la retina; CFNR, capa fibras nerviosas de la retina; CNE, capa nuclear externa; CNI, capa nuclear interna; CPE, capa plexiforme externa; CPI, capa plexiforme interna; EPR, epitelio pigmentario de la retina; FR, fotorreceptores; MLE, membrana limitante externa.

4.1. Historia de la tomografía de coherencia óptica

La tecnología OCT se basa en el principio óptico de interferometría de baja coherencia que usa la reflexión de la luz infrarroja para obtener imágenes tomográficas de alta resolución (escala micrométrica) ^{249,250}. La idea original de la OCT surge gracias a investigaciones en interferometría desarrolladas en el siglo XIX por un físico de origen judío, Albert Michelson (premio Nobel de física en 1907). En 1987 el profesor Adolf Wrexler en Viena propuso la medición de la distancia anteroposterior del globo ocular mediante la interferometría ²⁵¹. Fue en 1991 cuando se publicó en la revista Science el primer artículo sobre la OCT firmado por un grupo de investigación encabezado por Huang y Puliafito, con la colaboración de un equipo de físicos y matemáticos liderados por Fujimoto, marcando el punto de partida de la incesante evolución de esta técnica

diagnostica a nivel oftalmológico ²⁵². Su uso en la practica clínica tuvo lugar en 1996 con su introducción al mercado comercial. En la siguiente década, se desarrollaron protocolos de análisis de glaucoma y retina ^{253–257}.

4.2. Principios físicos de la tomografía de coherencia óptica

La base del funcionamiento de los sistemas de OCT es la evaluación de la dispersión y latencia sufridas por un haz de luz, con una longitud de onda conocida, al atravesar un tejido. Mediante el uso de instrumentos ópticos, como el interferómetro de Michelson, se pueden medir la magnitud y el tiempo de retraso de un haz de luz con resolución de décimas de micra, midiendo la coherencia de ese haz respecto a otro haz de luz paralelo de características conocidas.

Toda OCT consta de una fuente óptica y un interferómetro de Michelson ^{249,258}. La fuente de luz emite una onda con longitud conocida hacia el interferómetro, que lo divide en dos haces siendo uno emitido hacia el espejo de referencia y el otro hacia el tejido estudio. Este segundo haz sufre modificaciones puesto que atraviesa las distintas estructuras oculares con propiedades ópticas distintas, donde la luz es retrasada y dispersada ²⁴⁹. Posteriormente se compara la luz reflejada desde la retina con la luz reflejada por el espejo de referencia y, cuando ambos reflejos coinciden en el tiempo, se produce el fenómeno de interferencia, que es captado y procesado por el detector ^{259,260}.

Las variaciones que se producen en la onda según penetra en la profundidad del ojo, dan un registro axial (A-scan). El desplazamiento de este registro sobre una recta da lugar a un registro transversal (B-scan), que permite el estudio en profundidad de un punto seleccionado ²⁶¹.

Existen distintos sistemas de OCT, los sistemas de dominio tiempo (TD-OCT, del inglés "*time domain*") precisan del movimiento del espejo de referencia para obtener la información de la profundidad de la imagen ^{253,259}. Es un proceso mecánico, relativamente lento (400 scan/segundo), que limita la cantidad de datos que pueden ser capturados así como la calidad de la imagen (3,5µm de resolución) ³². Posteriormente se desarrollaron las técnicas de dominio Fourier que reemplazan el escaneo mecánico por una matriz de detectores lineales en la OCT de dominio espectral (SD-OCT, del inglés "*spectral domain*") basada en la espectrometría o por la sintonización de la frecuencia de la fuente de laser en la OCT swept source (SS-OCT).

La resolución final de la imagen depende del ancho de banda utilizado. El sistema SD-OCT es el más ampliamente utilizado en la actualidad, detecta haces de luz con longitudes de onda próximas a 850nm y consiguen resoluciones entre 4 y 10µm de la retina. El sistema SS-OCT usa láser femtosegundo como fuente de luz obteniendo fuentes de onda de espectro estrecho (alrededor de 1050nm) con resolución inferior a 4µm.

La velocidad de adquisición de la OCT determina la cantidad de datos disponibles. La tecnología basada en la transformación de Fourier proporciona una resolución de imagen más alta y tiempos de exploración más cortos debido a la medición simultánea de los ecos de luz, aumentando significativamente la cantidad de datos adquiridos en cada sesión de escaneo y permitiendo el análisis volumétrico y la visualización de imágenes tridimensionales ²⁶²⁻²⁶⁴. Esta tecnología ha incrementado la velocidad de adquisición de 25000 a 75000 A-scan por segundo en los sistemas comerciales disponibles ^{265,266} y más de 20.8 millones de A-scan por segundo en aparatos en fase de investigación ²⁶⁷. Estos

avances del software de la técnica SD-OCT han permitido la medición y la segmentación automática de las diferentes capas de la retina (Fig. 10).

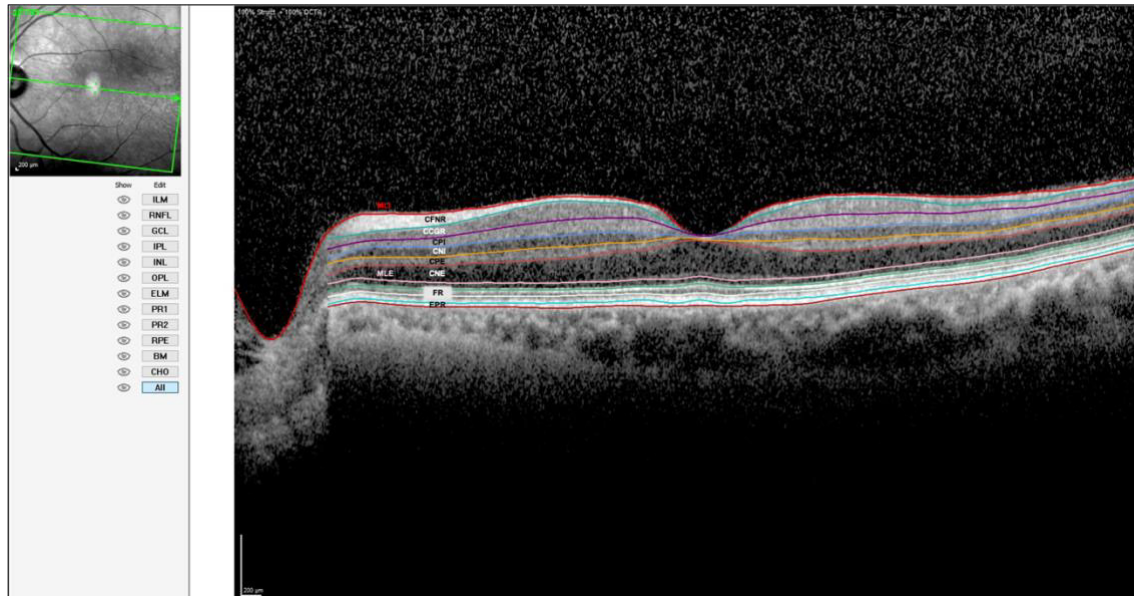


Figura 10. Segmentación automática de las capas retinianas obtenidas mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (Spectralis).

Abreviaciones: CCGR, capa de células ganglionares de la retina; CFNR, capa fibras nerviosas de la retina; CNE, capa nuclear externa; CNI, capa nuclear interna; CPE, capa plexiforme externa; CPI, capa plexiforme interna; EPR, epitelio pigmentario de la retina; FR, fotorreceptores; MLE, membrana limitante externa; MLI, membrana limitante interna.

Hasta hace poco, el análisis de la coroides se ha visto dificultado debido al uso de longitudes de onda entre 800 y 870nm. Estas sufren una dispersión notable al atravesar la retina y el EPR, dificultando el análisis de capas más profundas. En 2008 se incorporó la OCT con imagen de profundidad mejorada, utilizando la tecnología OCT de dominio espectral (EDI SD-OCT, del inglés “*enhanced depth imaging*”) ya existente ¹³⁷. Este sistema desplaza la línea zero (banda de máxima resolución) hacia la interfase coroides-escleral mejorando la sensibilidad en la obtención de imágenes de la coroides.

4.3. Aplicación de la tomografía de coherencia óptica en la enfermedad de Alzheimer

Es alentador que la retina se pueda visualizar mediante técnicas de imágenes *in vivo*, y la mayoría de ellas son no invasivas y de bajo coste, como la tomografía de coherencia óptica (OCT) ¹³⁹.

Como se describe a continuación (tabla 3), los parámetros principales estudiados en la última década mediante OCT han sido la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR), la capa de células ganglionares de la retina (CCGR), el grosor de la retina (GR), el volumen y grosor macular (VM, GM), y el grosor coroideo (GC). Otros parámetros mencionados son las capas externas de la retina y la lámina cribosa (LC).

Capa de fibras nerviosas de la retina

Existen muchos estudios que han informado sobre cambios en la CFNR peripapilar en pacientes con EA ^{152,160,222,226,227,237,238,268–326}. La mayor parte de los estudios que analizaron el grosor de la CFNR en pacientes con EA versus CS indicaron que los primeros tenían un grosor significativamente reducido según el análisis de OCT ^{152,160,226,237,238,268–278,280,282–286,288–290,292,293,295,296,298–302,304,309,314,316,319,320,325,326}. Algunos de estos estudios detectaron no solo una disminución generalizada de la CFNR, sino el adelgazamiento de uno o más sectores concretos ^{152,160,226,237,238,273,275,277,278,280,288,290,293,295,296,298,301,304,316,324}. Existe cierta variabilidad entre los estudios con respecto a la identificación de la ubicación específica donde ocurre el adelgazamiento de la CFNR. Los sectores afectados de forma predominante fueron el sector S ^{152,226,237,273,275,277,288,290,293,296,298,309}, el sector I ^{160,237,238,275,290,293,296,316} y en

algunos casos, el sector T ^{275,295,304}. Un meta-análisis reciente informó que la reducción más significativa tiene lugar en el cuadrante S en los pacientes con EA versus CS ¹³⁹, mientras que otro en meta-análisis encontraron disminución de la CFNR en los cuadrantes S e I en comparación con los cuadrantes N y T en pacientes con EA ³²⁷.

Por otro lado, varios estudios se centraron en concreto en el análisis de la CFNR en pacientes con DCL ^{160,227,238,270,278,282,286,288–291,294,295,301,302,306,308,309,311,312,314,317,318,325} y algunos revelaron reducción del grosor de la misma ^{160,238,270,278,282,286,289,290,295,301,302,311,325}. Los resultados por sectores han sido menos consistentes en este grupo. Kesler et al. encontraron una disminución de grosor significativa en la CFNR en los grupos con EA y DCL en comparación con los CS en el cuadrante I, sin diferencias significativas entre EA y DCL ²³⁸. Liu et al. demostraron que el grosor de la CFNR en el cuadrante S disminuye de manera gradual desde el DCL hasta la EA en comparación con los controles ²⁹⁰. Choi et al. demostraron una reducción del grosor temporal de la CFNR en los pacientes con DCL que evolucionaron a demencia en comparación con los pacientes con DCL estable ²⁹⁵. Gao et al. demostraron diferencias significativas entre EA y DLC en el sector I de la CFNR, así como adelgazamiento significativo en el sector T en DCL vs CS ²⁸⁹.

Varios estudios evaluaron la CFNR en sujetos preclínicos A β + ^{222,297,299,300,303,310,313,323,324,326} pero únicamente Asanad et al. describió una reducción de grosor significativa de la CFNR en sujetos A β + ³²⁶ y Santos et al.

informó sobre una reducción del volumen de la CFNR a nivel macular en Aβ+
310.

Varios estudios han demostrado evidencia de adelgazamiento de la CFNR a nivel macular, centrado sobre la fovea, en la EA^{274,283,287,292,293,328} y DCL³¹¹, así como un meta-análisis reciente tanto en DCL como en EA versus CS³²⁹. Dado que la región macular contiene más del 50% del total de las CGR, se ha planteado la hipótesis de que es una zona más sensible a los procesos neurodegenerativos que la región peripapilar de la CFNR, lo que la convertiría en un objetivo ideal para la detección temprana de cambios relacionados con la EA^{148,310,330}.

En general, la variabilidad de estos hallazgos sobre todo en fases tempranas, sugiere que los cambios de la CFNR requieren una mayor aclaración a lo largo del curso de la enfermedad.

Capa de células ganglionares de la retina

Los avances en la tecnología OCT, especialmente la llegada de la OCT de dominio de Fourier, aumentaron la velocidad de adquisición y la resolución de las imágenes retinianas, haciendo posible no solo el análisis del espesor completo de la retina o la mácula, sino también el análisis segmentario cuantitativo y preciso de las diferentes capas de la retina³³¹.

Numerosos estudios, histológicos y por OCT, revelaron una preferencia de daño de las capas internas de la retina^{151,157,161,311,332}. Primero fue accesible el complejo de células ganglionares (cCGR), formado por la combinación del grosor de la CFNR, la CPI y la CCGR²⁷⁴; después, los programas de segmentación permitieron el análisis de la CG+CPI, combinación de la CCGR y la CPI²⁸⁸; y por

último, fue posible el estudio de cada capa de forma independiente, aportando información más fiable ²⁹².

Inicialmente, varios grupos estudiaron el cCGR y todos ellos mostraron una reducción significativa del mismo ^{274,283,293,311,328}. El análisis de la CG+CPI fue mas controvertido, algunos grupos mostraron una adelgazamiento generalizado ^{288,293,302,314,333,334}, otros por sectores ^{295,309,311,317}, y otros no mostraron resultados significativos ^{291,294,308,312,317,335}. El estudio específico de la CCGR reveló una reducción significativa en todos los casos ^{292,299,300,303,312,316} excepto en dos ^{297,323}. Un meta-análisis reciente reveló que los pacientes con EA en comparación con los controles mostraron un grosor promedio de GC-IPL significativamente más delgado en la mayoría de los sectores de la mácula, excepto en el sector ST, así como una reducción significativa del cCGR ¹³⁹.

Últimamente, se ha estudiado la afectación de las capas internas de la retina en sujetos con DCL por EA. Los autores Cheung, Choi y Shao demostraron una reducción de la CG+CPI en DCL versus CS por sectores (Cheung: sectores SN, I, IT; Choi: sectores I, IN, IT; Shao: sectores S, NS, TS) ^{288,295,309}. Liu et al. y Jiang et al. informaron sobre un adelgazamiento generalizado de la CG+CPI ^{333,334} y Lad et al. mostró áreas de adelgazamiento y engrosamiento contiguas de la CG+CPI en DCL ³⁰⁸.

En concreto Cheung et al., informó del daño de la CG+CPI tanto en DCL como en EA versus CS, así como del daño de la CFNR únicamente en EA, sugiriendo que los cambios neurodegenerativos de la CG+CPI pueden ser detectables en estadios más tempranos de la enfermedad ²⁸⁸. Además, este grupo concretó que los parámetros más específicos y sensibles para discriminar entre EA y CS fue que

el sector I de la CG+CPI y para discriminar entre DCL y CS fue el sector IT ²⁸⁸. Varios grupos no mostraron ningún resultado significativo en el grosor de la CG+CPI en DCL versus CS ^{291,294,302,314}.

El grupo de Almeida fue el único en mostrar adelgazamiento de tanto el cCGR (sectores I, NI) como la CG+CPI (sectores TS, TI) en sujetos con DCL versus CS ³¹¹ y el grupo de Querques el único en analizar la CCGR en DCL y no obtuvieron resultados significativos ³¹².

Los estudios preclínicos no revelaron reducción de la CCGR ^{222,310,323,336} ni de la CG+CPI ³³⁵ en sujetos A β +. Santos et al. informó además de que tampoco hubo cambios significativos en la CPI ni en la CNE, pero si una reducción significativa en la CNI y CPE ³¹⁰, mientras que Snyder et al. reveló un engrosamiento de la CPI ²⁹⁷.

Curiosamente, un estudio preclínico asoció la reducción del grosor de la CCGR, y la CFNR y la CNI con un menor volumen de materia gris, materia blanca y volumen de hipocampo ²⁹⁹ y otro estudio preclínico asoció la reducción del grosor de la CCGR y el VM a menor volumen del lóbulo temporal medial ³⁰⁰.

La mayoría de los dispositivos de SD-OCT disponibles comercialmente son capaces de segmentar y cuantificar automáticamente las capas internas de la retina (CFNR, CCGR, CPI), las cuales se afectan de manera preferente en pacientes con EA y DCL ^{159,161,165,168,171,175,180}. La CG+CPI y la CCGR parecen tener un mejor rendimiento como biomarcador diagnóstico en comparación con la medición aislada de CFNR macular ¹³⁹. El rendimiento diagnóstico relativamente deficiente de la CFNR macular en pacientes con DCL y EA podría

atribuirse a la delgadez de la misma y su susceptibilidad a cambios relacionados con la interfaz vitreoretiniana, que pueden causar dificultad en la segmentación y medición de esta capa ³²⁹.

Capas externas de la retina

Uchida et al. demostraron específicamente que el grosor de las capas externas de la retina no se asoció con la EA ni DCL u otras formas de demencia ³³². Otros grupos tampoco mostraron una reducción significativa de la CNE, CPE ^{297,310}. Dos estudios revelaron una reducción de la CPE, en EA versus CS y en estadios preclínicos ^{310,316} y otros dos aumento de la CNE en EA versus CS ^{309,316}.

Grosor retina, grosor macular y volumen macular

Varios estudios incluyeron el grosor y el volumen macular y el grosor de la retina en sus análisis de OCT en pacientes con EA ^{269,272,274,276,279–283,287,289,291,293,295,298,300,301,304,305,307,308,311,314,316,317,325,328,337–339}, DCL ^{282,289,291,301,308,311,314,316,325,339} y sujetos en estadios preclínicos ^{222,324,326}. La mayoría de estos estudios mostraron una reducción del GM, mientras que tres de ellos mostraron aumento del GM ^{282,305,324}. Un metanálisis reciente informó de que el mayor adelgazamiento del GM se produce en el sector I ¹³⁹.

Dos estudios mostraron evidencia de cambios dinámicos potenciales que ocurren dentro de la mácula ^{308,316}. Salobar-García et al. encontraron que las capas maculares eran más delgadas en los pacientes con EA leve y más gruesa en aquellos con EA moderada en comparación con los CS ³¹⁶. De manera similar, aunque Lad et al. no hallaron diferencias significativas en el GM entre enfermos

y CS, describieron muchas áreas de engrosamiento o adelgazamiento significativo contiguas dentro de la mácula en pacientes con EA y lanzaron la hipótesis de que estos cambios de grosor pueden reflejar cambios dinámicos que ocurren a lo largo del espectro de neurodegeneración ³⁰⁸.

Los estudios en estadios preclínicos mostraron resultados contradictorios. Por un lado, Asanad no mostró resultados significativos, mientras que Marquié et al describió un engrosamiento del GM relacionado con la conversión de sujetos A β - a A β + definido por ¹⁸F-FBB PET y O'Bryhim mostró una reducción del grosor foveal en sujetos A β + ²²².

Grosor coroideo

Varios estudios evaluaron el GC y mostraron adelgazamiento del mismo en pacientes con demencia ^{279,328,340,341} y en pacientes con DCL ³³⁹ comparado con CS mediante SD-OCT.

Por el contrario, un estudio publicado recientemente no encontró diferencias significativas en el GC subfoveal entre individuos con EA, DCL y CS después de ajustar por edad, sexo y AV ³⁴². Pero si refirió diferencias entre grupos en el área coroidea total, el área luminal y la densidad vascular de la coroides.

Un metaanálisis reciente mostró adelgazamiento significativo en la región subfoveal (a 1.5mm N, I y S de la fovea) ¹³⁹.

Lámina Cribosa

Solo existe un estudio sobre el grosor de la lámina cribosa (GLC) en pacientes con EA versus CS, en el que miden el GLC en tres localizaciones. No mostraron

diferencias significativas entre grupos, pero si encontraron una asociación significativa entre la reducción del GLC y el aumento tTau en LCR ³⁴³.

Angiografía OCT (OCTA)

Los avances más recientes permiten que los sistemas OCT realicen un angiograma retiniano a través de una técnica no invasiva conocida como OCTA, que puede proporcionar información volumétrica sobre la microcirculación coroidea y retiniana. Es conocido que los factores vasculares contribuyen a la neurodegeneración cerebral en la EA ³⁴⁴. En base a las similitudes y la continuidad de la vascularización cerebral y retiniana, la OCTA ofrece una forma de detectar cambios microvasculares en la EA a través del flujo sanguíneo retiniano y coroideo ^{222,312,317–319,321,345–347}.

Limitaciones de los estudios previos

Durante la última década, ha habido numerosas publicaciones que informan sobre el adelgazamiento de la CCGR y la CFNR mediante OCT en asociación con la EA recopiladas en varios meta-análisis ^{139,327,329} y revisiones bibliográficas ^{348–350}. Sin embargo, la caracterización y progresión de cualquiera de estos cambios estructurales en la retina, particularmente durante las primeras etapas de la enfermedad, sigue sin estar clara en parte debido a la casi ausencia de estudios longitudinales, así como a la variabilidad en los equipo de OCT, los métodos de análisis y en la forma en que se definen los grupos de estudio (tanto en términos de rango de edad, estadio de la enfermedad y criterios de diagnóstico para DCL / EA), a menudo en ausencia de biomarcadores (por ejemplo, PET-A β) que confirmen la estatificación de la enfermedad. La mayoría

de los estudios se han centrado principalmente en comparaciones transversales de participantes con una carga de enfermedad considerable versus adultos mayores sanos, habiendo una escasez de estudios observacionales longitudinales publicados. El examen de la fisiopatología de la retina en la etapa preclínica, antes de que surjan los síntomas clínicos, es científicamente valioso para el desarrollo de un test de screening poblacional.

Así, las limitaciones que encontramos en los estudios realizados hasta la fecha son:

- En primer lugar, muchos estudios no utilizaron biomarcadores de LCR o de neuroimagen para diagnosticar a los pacientes, basándose únicamente en criterios clínicos y test neuropsicológicos ²⁴. Esta forma de seleccionar y clasificar a los sujetos reclutados puede llevar a una mala categorización y diseño incorrecto del estudio ^{152,160,226,227,237,238,269–272,274–276,278–281,283–287,290,292,294,298,302,304–306,311,314,316,317,321,325,328,334,337,339–342,345}.

-En segundo lugar, una de las limitaciones más evidentes es el tamaño limitado de la muestra en la mayoría de los estudios realizados. El tamaño de la muestra promedio para cada uno de los grupos de diagnóstico fue pequeño con un rango amplio, reduciéndose el poder estadístico y favoreciendo la aparición de falsos negativos y positivos.

-En tercer lugar, se han utilizado distintos tipos de OCT para los estudios, por lo que es difícil comparar unos estudios con otros.

-Por último, pocos estudios se han realizado en pacientes con DCL categorizados con biomarcadores de EA, como LCR ^{308,312,322}, PET ^{308,312} o RMN ^{282,288,289,291,295,301,308,309,312,318,332,333}. En menor medida se han llevado a cabo

estudios en sujetos en estadio preclínico, pero todos ellos han usado biomarcadores o bien de LCR ^{222,335}, PET ^{222,297,310,313,323,324} o RMN ^{299,300,324}, a excepción de uno ³³⁷.

En resumen, esta revisión sistemática y previos meta-análisis ^{139,293,351} indican que la OCT como biomarcador de EA es un candidato prometedor para el diagnóstico, pronóstico y evaluación de la enfermedad. La evidencia de algunos marcadores retinianos es relativamente convincente (CCGR y CFNR), pero los resultados de otros marcadores oculares aún son limitados, especialmente por la falta de evidencia de la precisión de las pruebas de diagnóstico y los estudios longitudinales, así como la falta de estudios en sujetos preclínicos. Por tanto, los marcadores retinianos aún no se han podido incorporar a la práctica clínica.

Tabla 3. Revisión bibliográfica de artículos publicados hasta 2021, utilizando los términos de búsqueda "Alzheimer" y "OCT".

Año	Primer autor	Test EA	Población a estudio (N)					Diseño		OCT		Resultados
			EA	DCL	CS	PRE	Otros			Tipo	Datos	
2001	Paris ²⁶⁸	Clínica, TN RMN	17		14				Tr	Status-TD	CFNR	↓ CFNR media, correlacionado con PERG.
2006	Iseri ²⁶⁹	TN	14		15				Tr	Status-TD	CFNR, GM, VM	↓ CFNR y VM total. VM relacionado con MMSE.
2007	Berisha ²²⁶	Clínica, TN	9		8				Tr	Status-TD	CFNR, DVI, FS	↓ CFNR sector S. ↓ DVI, FS.
2007	Paquet ²⁷⁰	NT	26	23	15				Tr	Status-TD	CFNR	↓ CFNR DCL y EA vs CS. No EA vs DCL.
2010	Lu ²³⁷	Clínica	22		22				Tr	Status-TD	CFNR	↓ CFNR (S e I).
2011	Kesler ²³⁸	Clínica	30	24	24				Tr	Status-TD	CFNR	↓ CFNR media y S EA y DCL vs CS. / solo en EA. No correlación CFNR con MMSE.
2012	Moreno-Ramos ²⁷¹	Clínica, NT	10		10		DCLe 10 EP 10		Tr	Topcon-SD	CFNR	↓ CFNR . Correlación CFNR con MMSE.
2012	Moschos ²⁷²	Clínica	30		30				Tr	Status-TD	CFNR, GM	↓ CFNR total (mayor / y S) y GM .

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2013	<i>Kirbas</i> ²⁷³	TN RMN	40		40			Tr	H	CFNR	↓ CFNR (media y S).
2013	<i>Marziani</i> ²⁷⁴	Clínica, TN	21		21			CC	H, RTVue-100	CFNR, cCGR, GR	↓ mCFNR y cCGR total.
2014	<i>Bambo</i> ²⁷⁵	Clínica	57		57			Tr	Cirrus-SD	CFNR	↓ CFNR (media, S, I).
2014	<i>Larrosa</i> ²⁷⁶	Clínica, TN	151		61			Tr	H, Cirrus-SD	CFNR, GR	↓ CFNR (media, TS, TI) y GR .
2014	<i>Kromer</i> ²⁷⁷	TN RMN, LCR	22		22			Tr	H	CFNR	↓ CFNR en sector SN.
2014	<i>Shi</i> ¹⁶⁰	Clínica	EA+DCL 18		60			R	Cirrus-HD	CFNR	↓ CFNR en sector I, relacionado con mayor riesgo de deterioro cognitivo.
2014	<i>Shen</i> ²⁷⁸	Clínica, TN		23	52			Tr	Stratus-TD	CFNR	↓ CFNR en N asociado con pérdidas de memoria episódica en CS.
2014	<i>Gharbiya</i> ²⁷⁹	Clínica, TN	21		21			Tr	H	CFNR, GC, GR	↓ GC .
2014	<i>Polo</i> ²⁸⁰	Clínica, TN	70		70			Tr	H, Cirrus-SD	CFNR, GR	↓ CFNR excepto en la fovea. ↓ GR .
2014	<i>García-Martin</i> ²⁸¹	Clínica, TN	20		28			Tr	Topcon-SD	CFNR, GM, VM	↓ GM y VM .

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2014	Ascaso ²⁸²	Clínica, TN RMN o TC	18	21	41			Tr	Stratus-TD	CFNR, GM, VM	↓ CFNR total entre los 3 grupos. ↑ GM y VM en DCL (DCL>CS>EA).
2015	Eraslan ²⁸³	Clínica, TN	20		20		GNT 18	Tr	RTVue-100	CFNR cCGR	↓ CFNR y cCGR EA y GNT vs CS.
2015	Güneş ²⁸⁴	Clínica, TN	40		40			CC	Opko OCT/SLO	CFNR	↓ CFNR media. No correlación CFNR y MMSE.
2015	Bayhan ³²⁸	Clínica, TN	31		30			Tr	RTVue- 100TD	cCGR, GC	Reducción cCGR y GC . Correlación GM con MMSE.
2015	Bambo ²⁸⁵	Clínica, TN	56		56			Tr	Cirrus-HD	CFNR	Reducción CFNR media.
2015	Oktem ²⁸⁶	Clínica, TN	35	35	35			Tr	Cirrus-HD	CFNR	↓ CFNR media EA y DCL vs CS. No EA vs DCL. Correlación con MMSE.
2015	Salobrar-García ²⁸⁷	Clínica, TN	23		28			Tr	Topcon-SD	CFNR, GM, VM	↓ mCFNR, GM y VM en EA vs CS.
2015	Cheung ²⁸⁹	Clínica, TN TC o RMN	100	41	123			CC	Cirrus-HD	CFNR, CG+CPI	↓ CFNR S y CG+CPI total EA vs CS ↓ CG+CPI (media, SN, I, IT) DCL vs CS. No EA vs DCL.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2015	Gao ²⁸⁹	Clínica, TN TC o RMN	25	26	21			Tr	Cirrus-HD	CFNR, GM	↓ CFNR EA (media, S, T, I) y DCL (T) vs CS. GM en EA y DCL vs CS. ↓ CFNR EA vs DCL (media, I). No correlación con MMSE.
2015	Liu ²⁹⁰	Clínica, TN	S19 M 24 L 24	26	39			Tr	Status-TD	CFNR	↓ gradual de CFNR en S y media de DCL a EA grave vs CS Reducción CFNR (I) en EA Se vs CS.
2015	Feko ²²⁷	Clínica, TN	10	21	21			Tr	Status-SD	CFNR, DVI, FS	No ↓ significativa CFNR. Alteración FS y DVI en EA y DCL.
2016	Lee ³⁴³	Clínica LCR	18		26			Tr	H	GLC	Reducción GLC relacionada con aumento tTau LCR.
2016	Pillai ²⁹¹	Clínica, TN RMN	21	20	34		D no EA 20 EP 20	Tr	Cirrus-HD	CFNR, GM CG+CPI	No ↓ significativa.
2016	García Martín ²⁹²	Clínica, TN	150		75			Tr	H-SD	CFNR, CCGR, CNI, CPI, CNE, CPE	↓ CFNR, mCFNR, CCGR, CPI y CNE . Correlación CFNR y CCGR con MMSE.
2016	La Morgia ¹⁵²	Clínica, TN	21		74			CC	Status	CFNR	↓ CFNR media, S

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2016	<i>Cunha</i> ²⁹³	Clínica, TN RMN	24		24			Tr	Topcon	CFNR, CG+CPI, cCGR, GM	↓ CFNR (<i>media, S e I</i>), mCFNR CG+CPI, cCGR y GM . Correlación cCGR con MMSE.
2016	<i>Liu</i> ³³³	RMN	47	68	65			Tr	Cirrus-HD	CG+CPI	↓ CG+CPI en DCL vs CS.
2016	<i>Knoll</i> ²⁹⁴	Clínica, TN		17	17			Tr	H	CFNR CG+CPI	No ↓ significativa. Correlación OCT con test cognitivos.
2016	<i>Choi</i> ²⁹⁵	Clínica, TN RMN	42	26	66			P	Cirrus-SD	CFNR CG+CPI GM, VM	↓ CFNR en <i>T</i> y CG+CPI en <i>I, IN, IT</i> y <i>media</i> en DCL que progresaron a demencia vs DCL estable. ↓ GM, VM .
2016	<i>Giménez</i> ³³⁷ <i>Castejon</i>	Clínica, TN		33	25	24		Tr	Cirrus-HD	GM	↓ GM en EA preclínico y DCL vs CS
2016	<i>Trebbastoni</i> ²⁹⁶	Clínica, TN RMN	36		36			P	H	CFNR	↓ CFNR <i>media, S, I</i> .
2016	<i>Bulut</i> ³³⁹	Clínica, TN	41	38	44			Tr	Cirrus HD	GC	↓ GC total en EA y DCL vs CS. Correlación GC y MMSE.
2016	<i>Snyder</i> ²⁹⁷	¹⁸ F-FBP PET				63		Tr	H	CFNR, CNI, CPI, CNE, CPE, CCGR, superficie retiniana	↑ CPI en Aβ+. El área retiniana afectada por cuerpos de inclusión aumentó en función de la carga de Aβ cortical.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2017	<i>Polo</i> ²⁹⁸	Clinical, TN	24		24			Tr	Cirrus-HD	CFNR GM	↓ CFNR en S. ↓ GM , excepto en fóvea. Correlación cambios OCT con disfunción visual en EA.
2017	<i>Mutlu</i> ²⁹⁹	Clínica, TN RMN				2124		R	Topcon	CFNR, CCGR, CNI	↓ CFNR , CCGR e CNI asociados a menor volumen de materia gris, blanca e hipocampo.
2017	<i>Casaletto</i> ³⁰⁰	TN RMN				79		Tr	H	CFNR, CCGR, VM	↓ CFNR, CCGR y VM asociada a menor volumen lóbulo temporal medial
2017	<i>Trebbastoni</i> ³⁴⁰	Clínica, TN	39		39			Tr	H	GC	↓ GC.
2017	<i>Kwon</i> ³⁵²	Clínica, TN RMN o TC	30	30	30			Tr	Cirrus-HD	CFNR, GM, VM	↓ media CFNR EA vs DCL. ↓ CFNR en S EA vs CS.
2017	<i>Ferrari</i> ³⁰²	Clínica, TN	37	29	49		DFT 17	Tr	H	CFNR, CG+CPI	↓ CFNR en EA y DCL vs CS. ↓ CG+CPI en EA vs DCL y CS. Correlación CG+CPI con MMSE.
2017	<i>Golzan</i> ³⁰³	Clínica, TN RMN, ¹⁸ F- FBP PET	28		50	23		Tr	RS-3000 Advance Nidek	CFNR, CCGR	↓ CCGR EA vs Preclínica y CS.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2017	<i>Cunha</i> ³⁰⁴	Clínica, TN	50		152			Tr	H	CFNR, GR	↓ CFNR <i>global</i> y TS. ↓ GR <i>S medial</i> y <i>periférica</i> .
2017	<i>Cunha</i> ³⁴¹	Clínica, TN	50		152			Tr	H	GC	↓ GC.
2018	<i>Poroy</i> ³⁰⁵	Clínica, TN	21		25			Tr	Stratus	CFNR, GM	↑ del GM foveal.
2018	<i>Jiang</i> ³⁴⁵	Clínica, TN	12	19	21			Tr	OCTA	DV, CG+CPI	↓ DV .
2018	<i>Jiang</i> ³³⁴	Clínica, TN	20	20	21			Tr	Cirrus-SD	CG+CPI, FS	Reducción CG+CPI en EA y DCL vs CS. Reducción FS.
2018	<i>Den Haan</i> ³⁰⁷	TN, RMN, LCR, PET	15		15			CC	H	CFNR, GM	No ↓ significativa. Correlación GM con atrofia corteza parietal en ambos grupos.
2018	<i>Lad</i> ³⁰⁸	Clínica, NT RMN, LCR o PET	15	15	18			Tr	H	CFNR, CG+CPI, GM	No ↓ significativa. Áreas de ↑ y ↓ CFNR y CG+CPI macular en EA y DCL.
2018	<i>Lahme</i> ³⁴⁶	Clínica, NT RMN, LCR	36		38			Tr	OCTA	DF, FAZ	↓ DF .
2018	<i>Uchida</i> ³³²	Clínica, NT RMN	24	22	36		D no EA 20	Tr	Cirrus-HD	Capas externas de la retina	No ↓ significativa. Correlación capas externas con test cognitivos.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2018	<i>Bulut</i> ³⁴⁷	Clínica, NT RMN	26		26			CC	OCTA RTVue	GC, DV, FAZ, FS coroideo	↓ GC, DV , aumento FAZ .
2018	<i>Shao</i> ³⁰⁹	Clínica, NT RMN	25	24	21			Tr	UHR- OCT	CFNR, CNI, CPI, CNE, GR CPE, CG-CPI	↓ CFNR, CG+CPI (S, NS, TS) y GR en EA y DCL vs CS. ↑ CNE en EA vs CS.
2018	<i>Sánchez</i> ³⁰⁶	Clínica, NT	324	192	414			Tr	Topcon	CFNR	No ↓ significativa.
2018	<i>O'Bryhim</i> ²²²	Clínica, NT ¹⁸ F-FBP ¹¹ C-PiB PET o LCR			16	14		CC	OCTA	CFNR, CCGR, VM, GF, DV, FAZ	↑ FAZ en Aβ+. Reducción GF en Aβ+.
2018	<i>Santos</i> ³¹⁰	Clínica, NT ¹⁸ F-FBP PET/TC			41	15		Tr	H	CFNR, CCGR, CNI, CPI, CNE, CPE	↓ v CFNRm, CPE, CNI . ↓ CPE e CNI en I. Correlación vCFNR y Aβ neocortical. No correlación OCT y test cognitivos.
2019	<i>Almeida</i> ³¹¹	Clínica, NT		23	24			Tr	DRI SS- OCT Triton Topcon	CFNR, CG+CPI, cCGR, GM	↓ mCFNR (I, NI) cCGR (I, NI)) y CG+CPI (TS, TI), GM parafoveal (T,I). Correlación entre CFNR, cCGR, CG+CPI, GM y MMSE y MoCA.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2019	<i>Nunes</i> ³⁶³	Clínica ¹¹ C-PiB PET o LCR	20		72		EP 28	Tr	Cirrus-SD	GR	No ↓ significativa GR.
2019	<i>Querques</i> ³¹²	TN LCR, ¹⁸ F- FDG PET o TC o RMN	12	12	32			CC	H, OCTA	CFNR, CCGR, CG+CPI, CPI, DV	↓ CCGR (<i>media y T</i>), ↓ CPI (<i>T</i>) en EA vs CS. Correlación CG+CPI, CCGR e CPI media con Aβ en LCR. Correlación inversa CCGR y CPI media con p-Tau LCR.
2019	<i>Hadoux</i> ³¹³	TN PET			20	15		CC	H	CFNR	No ↓ significativa CFNR. Diferencias significativas en los espectros de reflectancia retiniana
2019	<i>Kim</i> ³¹⁴	Clínica, TN	Se 9 M 7	14	17			CC	Cirrus-HD	CFNR CG+CPI GM	↓ CFNR , CG+CPI y GM EA Se vs CS ↓ CFNR (<i>media y S</i>) y GM en EA mod vs CS. No ↓ significativa DCL. Correlación CFNR y GM con MMSE.
2019	<i>Den Haan</i> ³⁵⁴	Clínica, TN RMN, LCR, ¹⁸ F-FBB/ ¹⁸ F- FBP/ ¹¹ C-PiB	48		38			CC	H OCT A	GC DVi FAZ	No ↓ significativa.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2019	Den Haan ³³⁸	Clínica, TN RMN, LCR	23		70		ACP 25	Tr	Optos OCT/SLO	CFNR GM	No ↓ significativa. No correlación entre OCT y Aß LCR.
2019	Den Haan ³¹⁵	Clínica, TN RMN, LCR o ¹⁸ F-FBB/ ¹⁸ F- FBP/ ¹¹ C-PiB PET	57		85			Tr	Topcon	CFNR, CCGR, CPI, GR	No ↓ significativa. Correlación entre GM y atrofia cortical global y parietal en EA en RMN.
2019	Salobrar-García ³¹⁶	TN	M 21 L 39		40			CC	H Topcon	CFNR, CCGR, CPI, CNI, CPE, CNE, GM	↓ CFNR (<i>I y media</i>) EA mod vs CS. ↓ CCGR (S, N T), ↓ CPE (S, T), ↑ CNE (S), ↓ GM (<i>fóvea, S, T I</i>) EA leve vs CS. Correlación GM y CFNR con MMSE.
2019	Yoon ³¹⁷	Clínica, TN	39	37	133			Tr	Cirrus-HD OCTA	CFNR, CG+CPI, GM, FAZ, DV, DF	↓ DV, DF y CG+CPI (<i>I, /N</i>) en EA vs DCL y CS.
2019	Yoon ³¹⁸	Clínica, TN RMN	9	7				Tr	Cirrus-HD OCTA	CFNR, CG+CPI, FAZ, DV, DF	Correlación inversa DV, DF con v ventrículo IL.
2019	Zabel ³¹⁹	Clínica, TN ¹⁸ F-FBP PET	27		27		GPAA 27	Tr	RTVue OCTA	CFNR FAZ, DV,	↓ DV y CFNR . ↑ FAZ .

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2019	<i>Zabel</i> ³²⁰	Clínica, TN PET	30		30		GPA 30 GPP 30	Tr	H	CFNR	↓ CFNR GPAA>EA>CS.
2019	<i>Zhang</i> ³²¹	Clínica, TN	16		16			Tr	OCTA	CFNR DV, FS	↓ DV y FS parafoveal.
2019	<i>Zhang</i> ³²²	Clínica, TN LCR	2	10	12			Tr	AOSLO imágenes	CFNR	Membranas granulares.
2019	<i>van de Kreeke</i> ³²³	TN ¹⁸ F-FMM PET/RMN			147	18		Tr	H	CFNR CCGR CPI, GM	No ↓ significativa.
2020	<i>Marquie</i> ³²⁴	Clínica, TN RMN, ¹⁸ F- FBB PET			T ₁ 114 T ₂ 107	T ₁ 15 T ₂ 22		P	Topcon	CFNR GM	↑ GM relacionado con conversión PET-Aβ+.
2020	<i>Szeged</i> ³²⁵	Clínica, TN	23	24	43			Tr	H Doppler Fourier-D	CFNR, GM FV, DVi	↓ CFNR, FV arterial DVi en EA y DCL.
2020	<i>Robbins</i> ³⁴²	Clínica, TN	67	74	137			Tr	Cirrus-HD	GC Área coroides Área luminal DV corioidea	↑ Área coroides y luminal en EA y DCL vs CS. DV coroides menor en DCL vs CS. No ↓ GC.

Año	Primer autor	Test EA	EA	DCL	CS	PRE	Otros	Diseño	Tipo	Datos	Resultados
2020	<u>Asanad</u> ³²⁶	TN LCR			16	27		Tr	Cirrus-SD	CFNR, CG+CPI, GM	↓ CFNR en Aβ+.
2020	<i>Jindahra</i> ³⁵⁵	Clínica, TN	29		29			Tr	Cirrus-HD	CFNR, CG+CPI	↓ CFNR (media y S) y CG+CPI total en EA.
2021	<i>Carazo-Barrios</i> ³⁵⁶	Clínica, TN RMN	9	9	14			Tr	Cirrus-HD	CFNR	↓ CFNR (S,T) EA y CS vs CS. ↓ progresiva CFNR (S,T) CS>DCL>EA. Correlación nº lesiones de sustancia blanca en lóbulo occipital y CFNR (T).

Abreviaciones: Aβ, beta amiloide; CC, Casos controles. CCGR, capa de células ganglionares de la retina; cCGR, complejo CCG (CFNR + CCGR + CPI); CFNR, capa fibras nerviosas de la retina; CNE, capa nuclear externa; CNI, capa nuclear interna; CPE, capa plexiforme externa; CPI, capa plexiforme interna; DCLe, demencia cuerpos Lewy; DFT, demencia frontotemporal; DF, densidad flujo; Dno EA, demencia de causa diferente a la EA; DV, densidad vascular; DVi, diámetro vasos; EP, enfermedad de Parkinson; FBB, florbetaben; FBP, Florbetapir; FDG, fluorodesoxiglucosa; FMM, flutemetamol; FS, flujo sangre; GC, grosor coroideo; GF, grosor foveal; GLC, grosor lámina cribosa; GM, grosor macular; GR, grosor retina; GNT, glaucoma normotensivo; GPAA, glaucoma primario de ángulo abierto; GPP, glaucoma preperimétrico; H, Heidelberg Spectralis; I, inferior; MMSE; mini mental state examen; L, leve; LCR, líquido cefalorraquídeo; m, macular; Mod, moderado; OCT, tomografía de coherencia óptica; OCTA, Angiografía por tomografía de coherencia óptica: PERG, electroretinograma en patrón; N, nasal; P, Prospectivo; PET, tomografía por emisión de positrones; R, Retrospectivo; RMN, resonancia magnética nuclear; S, superior; Se, severo; T, temporal; Tr, Transversal. T₁, primer tiempo. T₂, segundo tiempo; TC, tomografía axial computerizada; TN, test neuropsicológicos; total, todos los sectores; v, volumen; VM, volumen macular.

Subrayado: estudios preclínicos.

Color gris: parámetros no significativos.

4.4. Asociación de la tomografía de coherencia óptica con los cambios cognitivos de la enfermedad de Alzheimer

La relación de la OCT con los criterios de valoración cognitivos es fundamental para el desarrollo de nuevos biomarcadores que evalúen el control y la progresión de la enfermedad. Hasta ahora, la literatura existente sobre los cambios estructurales asociados con la EA en la retina ha utilizado principalmente el test cognitivo mini mental (MMSE, del inglés “*Mini Mental State Examination*”) para caracterizar la función cognitiva en DCL, EA y CS (tabla 3). Este nivel de evaluación cognitiva proporciona información mínima sobre el deterioro cognitivo sobre todo en las primeras etapas de la enfermedad.

Varios estudios mostraron correlación entre la reducción del grosor de distintos parámetros de la OCT y un peor rendimiento en el MMSE: entre la CFNR y el MMSE ^{271,286,292,311}, entre el grosor de la CCGR y el MMSE ^{292,293,302,314}, entre el GM y el MMSE ^{269,311,314,316,328} y entre el GC y el MMSE ³³⁹; mientras que otros no obtuvieron resultados significativos ^{238,284,310}.

El grupo de Choi realizó un estudio con evaluaciones neuropsicológicas completas de memoria y lenguaje, así como mediciones de OCT de la CFNR y la CG+CPI ²⁹⁵. Informaron de varios hallazgos interesantes como que una peor calificación clínica de demencia (CDR) y peores puntuaciones de memoria fueron predictivas de una reducción del grosor de la CG+CPI. Además, observaron una reducción significativa del grosor T de la CFNR y del grosor T e I de la CG+CPI en pacientes con DCL que progresaron a demencia en comparación con aquellos que permanecieron estables ²⁹⁵. Debido a estos hallazgos, sugirieron que los cambios estructurales de la retina pueden corresponder a cambios en el funcionamiento y la memoria que ocurren en la

EA, aportando evidencia de la utilidad de los biomarcadores retinianos en la estadificación de la progresión de la enfermedad ^{295,329}.

Un estudio publicado recientemente en una muestra de sujetos mayores con riesgo alto de EA, muestra una asociación positiva entre el deterioro subjetivo de la memoria, la ansiedad y el volumen de la CFNR a los 27 meses ³⁵⁷. Sin embargo, es necesaria la investigación adicional para evaluar la utilidad de las quejas subjetivas de la memoria para predecir los cambios en los biomarcadores de la retina y cómo estos cambios se correlacionan con los cambios en los biomarcadores cerebrales en la misma población. En definitiva, se necesita más investigación para examinar las asociaciones entre los cambios estructurales en la retina y los test cognitivos.

4.5. Asociación de la tomografía de coherencia óptica con otros biomarcadores de la enfermedad de Alzheimer

Con el objetivo de evaluar la sensibilidad y especificidad de la OCT como biomarcador, un número limitado de estudios ha comparado los parámetros de la OCT, fundamentalmente la CFNR, el GM y las capas internas de la retina, con los biomarcadores validados de la EA ^{297,299,300,303,307,310,312,315,323,324,326,333,338,356,358–360}. La mayoría son estudios recientes, desarrollados en la fase preclínica de la EA, y en todos ellos se usaron biomarcadores para categorizar a los pacientes en el continuo de Alzheimer, o en sujetos sanos.

OCT versus PET-A β

Entre los estudios que compararon el daño en la OCT con la acumulación de A β cortical definida por PET-A β ^{297,303,310,323,324}, tres encontraron una correlación

significativa ^{297,310,324}. Mostraron que un mayor acúmulo de A β cortical está relacionado con cambios patológicos en la OCT, generalmente un adelgazamiento del GM³²⁴ o de la CFNR ³¹⁰, aunque un caso mostró engrosamiento de la CPI ^{297,310,324}.

OCT versus A β y Tau en LCR

Dos estudios han encontrado una correlación entre la CFNR y la CCGR con A β y Tau en LCR. Uno de los estudios mostró correlación entre el índice A β_{42} /Tau y la reducción del grosor de la CFNR, y el análisis de las proteínas por separado reveló que el grosor de la CFNR se asoció más a los niveles de tTau en LCR que a los de A β ³²⁶. El segundo estudio mostró una correlación positiva entre la dilatación arterial retiniana, el GM y el grosor de la CCGR y la CPI y los niveles de A β en LCR, y una correlación inversa del grosor de la CCGR y la CPI con los niveles de pTau en LCR³¹². Otros estudios no encontraron una relación significativa entre OCT y biomarcadores de LCR ^{307,315,338}

OCT versus biomarcadores de neurodegeneración

La mayor parte de los estudios compararon los parámetros de OCT con la RMN dada su mayor accesibilidad ^{299,300,307,315,333,356,358–360}. Existe variabilidad de resultados, pero todos encontraron alguna relación con la OCT. Concretamente varios estudios asociaron el volumen del LTM o del hipocampo con una la reducción del grosor de la CCGR ^{299,300} y de la CFNR ^{299,300,359,360}.

4.6. Otras modalidades de imagen retiniana

Además de la OCT y la OCTA, se han desarrollado distintas modalidades de imagen para estudiar la retina en la EA.

Varios estudios de imagen hiperespectral mostraron diferencias significativas en los espectros de reflectancia retiniana en DCL con alta carga de A β cerebral, confirmados por PET, en comparación con controles de la misma edad ^{313,361}. Un estudio transversal comparó el depósito de A β cortical definido por ¹⁸F-FBP PET con medidas de OCT en adultos cognitivamente sanos, y estudió el área afectada por cuerpos de inclusión en la retina que podrían contener A β mediante autofluorescencia Peak-Blue. Observaron un engrosamiento de la CPI en A β + frente a A β - y una correlación positiva entre el área retiniana afectada y la carga de A β cortical, sugiriéndose la posibilidad de que este aumento del volumen de CPI pueda reflejar procesos inflamatorios tempranos asociados a la acumulación simultánea A β en la retina interna ^{297,329}.

Dado que el A β depende de una longitud de onda concreta, se ha conseguido detectarlo *in vivo* mediante un microscopio óptico utilizando curcumina como agente de contraste en modelos de ratón ^{78,159} y en humanos ^{161,191}. Estos estudios informaron de que la carga de amiloide retiniano fue mucho mayor tanto EA como en DCL ¹⁹¹ respecto a controles sanos ¹⁶¹. El estudio más reciente, demostró además que la carga de A β retiniana estaba inversamente correlacionada con el volumen del hipocampo ¹⁹¹. Otro estudio que utilizó imágenes de fluorescencia de curcumina para resaltar los agregados de A β en la retina, informó que el A β retiniano estaba altamente correlacionado con la carga de placas de A β cerebral de la PET ³⁶².

Kayabasi et al. detectaron depósitos anormales de A β en sujetos con DCL mediante imágenes de autofluorescencia de fondo de ojo ³⁶³

Planteamiento

La necesidad urgente de nuevos biomarcadores diagnósticos para la EA y el creciente interés en la fisiopatología ocular de dicha enfermedad, nos condujo a desarrollar un plan de estudio para investigar mediante la OCT los posibles cambios oculares que tienen lugar en el continuo de la EA. El desarrollo de la OCT en las últimas décadas ha supuesto un importante avance de las técnicas exploratorias oculares, posibilitando el estudio *in vivo* de la retina, el NO y la coroides.

El objetivo general del proyecto fue investigar y aportar evidencias científicas sobre el valor de la OCT como biomarcador en las distintas fases de la EA, y para ello desarrollamos tres estudios.

En el primer trabajo investigamos los posibles cambios en la retina y en el NO mediante SD-OCT en fases avanzadas de la EA así como en fase de DCL. Los distintos grupos fueron bien categorizados por biomarcadores de EA validados. Muchos estudios bibliográficos sostienen que la retina y el NO sufren cambios degenerativos durante el continuo de la EA. Sin embargo, estos estudios tienen la mayoría un tamaño muestral pequeño, son de diseño transversal, no utilizan biomarcadores validados para definir su estudio ³⁶⁴ y , frecuentemente, muestran resultados controvertidos. En la actualidad, no se ha podido describir con certeza qué capas de la retina o qué sectores del NO se afectan inicialmente en la EA. Por este motivo, no se ha descrito aún ningún parámetro de OCT como biomarcador definitivo y tampoco se ha definido el patrón de progresión del daño ocular en dicha enfermedad. Además, la mayor parte de estas investigaciones se han desarrollado en estadios de DCL y demencia, y existe falta de información en la EA preclínica.

Con la intención de clarificar estas controversias, desarrollamos un estudio en sujetos bien categorizados mediante criterios clínicos, test neuropsicológicos y PET-A β ³⁶⁴. Se evaluaron las variaciones anatómicas del NO y la retina en pacientes A β positivo definidos por ¹¹C-PiB PET/TC, en fase de DCL y demencia por EA, respecto a CS emparejados por edad y sexo.

El objetivo de este estudio fue una mejor comprensión del daño que la EA provoca a nivel de la retina y el NO y la progresión del mismo, así como determinar los mejores biomarcadores de OCT para la EA.

Una vez evaluados los posibles cambios degenerativos de la retina, decidimos analizar el daño que se produce en la coroides debidos a los cambios vasculares propios de la EA. Existen menos estudios sobre los cambios del GC en la EA. La metodología para medir el GC de forma manual ha sido muy variable entre diferentes estudios, y por tanto no son comparables. A pesar de ello, los resultados mostrados en estos estudios previos fueron concordantes en cuanto a la disminución del GC en los sujetos con EA.

Desarrollamos el segundo trabajo en la misma cohorte de pacientes con DCL y demencia por EA definida por ¹¹C-PiB PET/TC y sus controles sanos, y evaluamos los cambios en el GC y su utilidad como biomarcador de enfermedad.

El tercer trabajo se centró en la etapa preclínica de la EA. Dado que la afectación neuropatológica de la enfermedad comienza y se prolonga durante un periodo de

tiempo largo antes del desarrollo de la clínica de demencia, investigamos si alguno de los hallazgos de OCT previamente descritos en la muestra de pacientes con DCL y demencia, aparecía en la fase inicial de la EA. Este estudio se realizó en la Cohorte Valdecilla, una muestra de voluntarios cognitivamente sanos procedentes de la comunidad de Cantabria. Se estudió si existen cambios oculares medidos por OCT en personas con patología A β cerebral o bien con una enfermedad de Alzheimer definida biológicamente, pudiendo así ser considerados biomarcadores precoces.

Primer estudio:

**Cambios en la retina y en el nervio
óptico medidos por tomografía de
coherencia óptica en sujetos con
deterioro cognitivo leve y demencia
por enfermedad de Alzheimer**

1. Hipótesis

“Los sujetos A β + con deterioro cognitivo leve presentan cambios precoces en la retina de manera similar a los pacientes A β + en fase de demencia tipo Alzheimer, tales como adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la capa de células ganglionares de la retina”.

2. Objetivos

2.1. El objetivo principal de este estudio fue evaluar las variaciones anatómicas del nervio óptico y la retina de pacientes con deterioro cognitivo leve y demencia tipo Alzheimer con A β + definido por ^{11}C -PiB PET/TC versus controles cognitivamente sanos emparejados por edad y sexo mediante SD-OCT.

2.2. El objetivo secundario de este análisis fue conseguir una mejor comprensión del daño que la EA provoca en el ojo y determinar posibles biomarcadores oculares para la EA con el objetivo futuro de desarrollar nuevos protocolos de screening.

3. Material y métodos

3.1. Población de estudio

Se realizó un estudio transversal en pacientes caucásicos con EA continuum, incluyendo pacientes en fase de DCL y en fase de demencia por EA. De forma ambulatoria fueron reclutados consecutivamente por el departamento de Neurología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla en Santander, entre mayo de 2016 y junio de 2018.

El diagnóstico fue establecido de acuerdo a los criterios diagnósticos de consenso para probable DCL por EA o demencia por EA con evidencia de proceso fisiopatológico, definido por un PET amiloide positivo, siguiendo las recomendaciones del NIA-AA ⁸³.

Los diagnósticos finales fueron consensuados en reuniones multidisciplinarias en las que participaban cuatro neurólogos (SLG, PSJ, ERR y CL) y dos neuropsicólogas (AP, MGM) para excluir otras etiologías neurológicas o psiquiátricas. Con el fin de minimizar errores diagnósticos o heterogeneidad debida a co-patología, solo se incluyeron aquellos casos con una completa concordancia entre los diagnósticos clínicos y los resultados del PET/TC.

Se seleccionaron 63 pacientes con EA continuum A β + a los que contactar por teléfono para darles cita en el Servicio de Oftalmología de HUMV. No se consiguió contactar con 9 pacientes, 3 declinaron participar, 3 habían fallecido y 4 no se presentaron a la consulta. Finalmente, se realizó el estudio oftalmológico a 44 pacientes. De estos 44, 10 de ellos fueron excluidos, 2 por baja AV o errores refractivos superiores a los descritos en los criterios de exclusión, 4 por degeneración macular asociada a la edad, y 2 por glaucoma o sospecha de glaucoma o PIO >20mmHg. Se incluyeron un total de 34 pacientes en el estudio, 28 en fase de DCL y 6 en fase de demencia y un total de 63 ojos, 51 ojos en pacientes en fase de DCL y 12 ojos en pacientes con fase de demencia.

La muestra de controles cognitivamente sanos estaba compuesta por participantes voluntarios, sin quejas cognitivas, reclutados entre los pacientes que asistían a la consulta del Servicio de Oftalmología por motivos de sequedad ocular. La evaluación

basal consistió en una exploración neuropsicológica pormenorizada. Se incluyeron 63 ojos de 32 CS, emparejaron por edad y género.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Cantabria (IDIVAL) con código interno 2017.146 y se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki.

Se solicitó el permiso de todos los participantes para ser incluidos en el estudio mediante un consentimiento informado escrito en el que se explicaban las exploraciones a las que iban a ser sometidos. Se informó a los pacientes de la posibilidad de abandonar el estudio en cualquier momento, sin perjuicio alguno de cara a la asistencia facultativa que pudieran precisar.

Todos los participantes firmaron los formularios de consentimiento por escrito previo a las exploraciones.

3.2. Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión neurológicos para el grupo de pacientes EA continuum fueron:

1. Cumplir los criterios diagnósticos EA continuum (DCL y demencia) definido por PET/TC A β +, pruebas de laboratorio, evaluación de neuroimagen y test psicométricos.
2. Presentar una capacidad visual y auditiva preservada para la realización de las tareas cognitivas.

El grupo control no debía presentar quejas de memoria ni MMSE inferior a 25.

Criterios de exclusión neurológicos para ambos grupos:

1. Sujetos con antecedentes de trastorno neurológico o psiquiátrico.

2. Cualquier enfermedad sistémica significativa u otra enfermedad sistémica crónica grave como diabetes, enfermedades nefrológicas y hemodiálisis, enfermedad cardiovascular activa, etc.
3. Tratamiento con cualquier medicamento que afecte al estado cognitivo (p. ej., uso de narcóticos sedantes).
4. Colaboración pobre a la hora de realizar las exploraciones debido a la fase de demencia o por condición médica inestable (algunos pacientes no pudieron completar la evaluación porque se fatigaron o no pudieron seguir las instrucciones).

Los criterios de inclusión oftalmológicos son los mismos para el grupo EA y el grupo control. Se utilizaron los siguientes:

- PIO <20mmHg.
- Sin patología oftalmológica de base.
- Disponibilidad y colaboración para la realización de las pruebas del examen oftalmológico.

Los criterios de exclusión oftalmológico incluyeron:

- Error de refracción >0< de 6 dioptrías (D) de equivalente esférico o 3.0 D de astigmatismo.
- Agudeza visual mejor corregida <20/40.
- PIO >18mm Hg.
- Antecedentes familiares de PIO >20mmHg.
- Muecas en el borde neurorretiniano o hemorragias de disco óptico.

- Opacidades clínicamente relevantes de los medios ópticos e imágenes de baja calidad debido a una fijación inestable o catarata severa (los pacientes con catarata leve a moderada podrían inscribirse en el estudio, pero solo se incluyeron imágenes de alta calidad).
- Historia de cirugía ocular.
- Historia de enfermedad ocular (inflamatoria, infecciosa, degenerativa).
- Colaboración pobre a la hora de realizar las exploraciones debido a una fase de demencia avanzada o por condición médica inestable (algunos pacientes no pudieron completar la evaluación porque se fatigaron o no pudieron seguir las instrucciones).

3.3. Obtención de datos

La exploración de los sujetos tuvo lugar en el Servicio de Neurología y Oftalmología del HUMV en Santander.

Exploración clínica neurológica y neuropsicológica

Los participantes fueron evaluados con la Escala de Deterioro Global (GDS) ³⁶⁵ y el test Mini Mental State Examination (MMSE) ³⁶⁶ como medidas de gravedad global de la enfermedad.

La evaluación neuropsicológica integral incluía los principales dominios cognitivos (memoria, lenguaje, praxis, percepción visual y funciones frontales). Se evaluó la memoria verbal con el Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) ³⁶⁷, la memoria visual con el recuerdo diferido de la figura compleja de Rey-Osterrieth ³⁶⁷, la praxis constructiva con la copia de la figura compleja de Rey-Osterrieth ³⁶⁷, la praxis

ideomotora con la imitación de gestos de dedos ³⁶⁸, la habilidad visoespacial con el subtest de localización de números del Visual Object and Space Perception Battery (VOSP) ³⁶⁹, y la atención y función ejecutiva con el Trail Making Test (TMT) A y B y el test de clave de números ³⁷⁰.

Tomografía por emisión de positrones

Se realizó un estudio de neuroimagen con PET A β con el compuesto B de Pittsburgh (¹¹C-PiB) en el Servicio de Medicina Nuclear de HUMV. Se utilizó un equipo Siemens Biograph LSO Pico 3D (Siemens Healthcare Molecular Imaging, Hoffman Estates, Illinois, USA) ³⁷¹.

Los participantes recibieron una dosis de 555 MBq de ¹¹C-PiB y se adquirió una imagen estática a los 60-90 minutos. Junto con el PET se realizó un TC craneal y la información obtenida se empleó para corregir la atenuación del PET. Las imágenes fueron reconstruidas en una matriz de 128×128 usando el método iterativo de maximización de expectativas de los subconjuntos ordenados.

Dos especialistas experimentados del servicio de Medicina Nuclear (JJ-B, IB) fueron los encargados de interpretar las imágenes de ¹¹C-PiB PET/TC como positivas o negativas para la captación cortical de A β (Fig. 11).

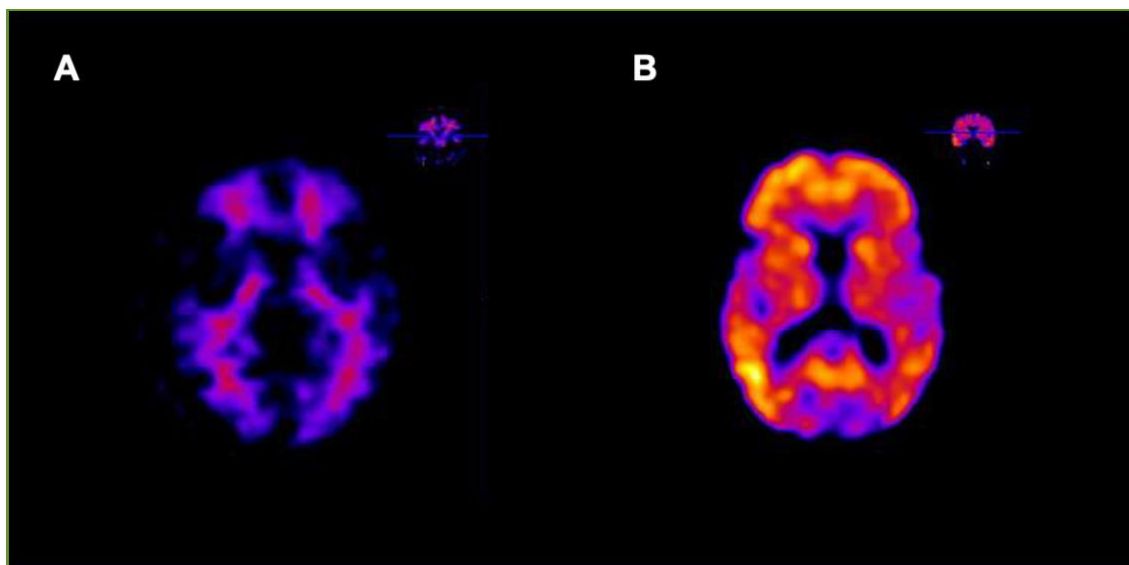


Figura 11. Imágenes de tomografía por emisión de positrones/tomografía axial computarizada usando el compuesto B ^{11}C -Pittsburgh. ^{11}C -PiB PET/TC proporcionan una medida cuantitativa *in vivo* de la carga de beta amiloide cortical insoluble ($\text{A}\beta$). El compuesto B de ^{11}C -Pittsburgh (^{11}C -PiB) muestra una afinidad alta por los depósitos fibrilares extracelulares e intravasculares de $\text{A}\beta$ y una baja afinidad por los depósitos de amiloide amorfo, $\text{A}\beta$ soluble y NFT intracelulares. (A) Muestra de imagen PET- $\text{A}\beta$ negativo: (B) PET- $\text{A}\beta$ positivo.

Exploración oftalmológica

- Historia clínica completa, con los antecedentes familiares y personales, antecedentes personales oftalmológicos y medicación.
- Medición de la AV mejor corregida (test Snellen).
- Medición de la presión intraocular con tonómetro de aplanamiento de Goldmann.
- El error refractivo se registró utilizando un autorefractómetro Canon RK-F1 (Canon USA Inc., Lake Success, NY, EUA).
- La longitud axial (LA) se midió con Lenstar LS 900 (Haag Streit AG, Koeniz, Switzerland).

- Biomicroscopía con lámpara de hendidura y examen de fondo de ojo, previa dilatación con una gota de tropicamida al 1% y fenilefrina.
- Tomografía de coherencia óptica Spectralis (SD-OCT) (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemania).

Cada paciente fue aleatorizado para decidir qué ojo se examinaría primero ³⁷².

Tomografía de coherencia óptica Spectralis®

La OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemania) combina la tecnología OCT con un oftalmoscopio confocal láser que proporciona una imagen de fondo de ojo de referencia. Tiene una adquisición de 40.000 escaneos tipo A por segundo, con una resolución de profundidad de 7µm en el tejido y una resolución transversal de 14µm mediante el uso de un diodo de superluminiscencia con 870nm de ancho de banda ^{373,374}. Incorpora un sistema de seguimiento ocular en tiempo real (eye tracking) con función de alineación ocular automática; un rayo láser explora continuamente el fondo de ojo, observando los movimientos de éste y sirve como referencia para poder conducir el segundo rayo sobre la posición apropiada para la adquisición de la imagen de sección transversal, manteniéndolo siempre en la posición deseada, incluso en caso de movimientos oculares.

Los exámenes de OCT fueron realizados por un oftalmólogo entrenado y cualificado (AC). Todas las imágenes obtenidas tenían un nivel de calidad superior (Q) >25.

Se llevó a cabo un análisis del nervio óptico y un análisis segmentario de las capas de las capas de la retina:

- Análisis de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR).

- Análisis de la apertura de la membrana de Bruch (BMO-MRW, del inglés "*Bruch's membrane opening-minimum rim width*").
- Análisis del grosor del tejido preliminar (TP) y la profundidad de la superficie anterior de la lámina cribosa
- Análisis de la retina de la capa de células ganglionares de la retina (CCGR).
- Análisis de la capa nuclear externa de la retina (CNE).
- Análisis de la capa plexiforme interna de la retina (CPI).

→ Protocolo de adquisición del espesor de la capa de células ganglionares, la capa plexiforme interna y la capa nuclear externa

El grosor de las capas de la retina del polo posterior se midió con Spectralis SD-OCT. En este protocolo, la OCT dibuja de forma automáticamente una línea que une el centro de la fovea y el centro del disco óptico como línea de referencia. A continuación, se registran 61 exploraciones (1024 A scans/línea) paralelas a la línea de referencia dentro del área central de 25°x30°. La calidad de los scans se indica en una escala de colores en la parte inferior de las imágenes escaneadas. Solo las exploraciones en el rango verde se consideraron de calidad suficientemente buena para su inclusión en este estudio.

El software de la SD-OCT (versión 1.10.2.0) permite la segmentación automática de las capas de la retina y la cuantificación del espesor de cada una de ellas. El análisis de segmentación se realizó para calcular el grosor de la CCGR, la CPI y la CNE considerando las recomendaciones de APOSTEL³⁷⁵. Se determinó el grosor medio de cada capa retiniana (CCGR, CPI y CNE) de cada sector de 3°x3°, que componían los 4 cuadrantes (S, T, I y N) (Fig. 12).

Tras la obtención de las imágenes, un investigador enmascarado (AL-de-E) examinó las imágenes para identificar cualquier error de segmentación o centrado.

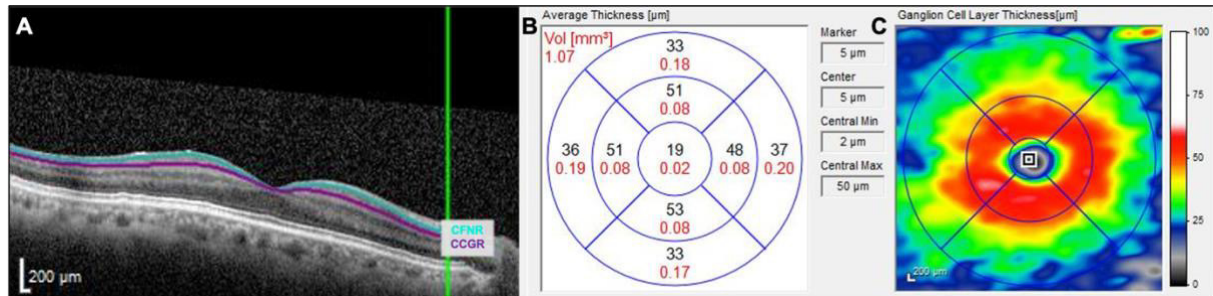


Figura 12. Segmentación de la capa de células ganglionares de la retina. (A) Las líneas morada y azul delimitan la capa de células ganglionares de la retina (CCGR). (B) Representación del mapa de grosores de la media y de los cuadrantes superior, temporal, inferior y nasal de la CCGR. (C) Representación de la escala de colores de los cuadrantes superior, temporal, inferior y nasal de la CCGR.

→ Protocolo de adquisición de la capa de fibras nerviosas de la retina y análisis del anillo neuroretiniano

Se utilizó el módulo “*Glaucoma Module Premium Edition*” (GMPE) de la versión 6.0c de Spectralis, que incluye 24 exploraciones radiales y 3 circulares del NO.

GMPE incorpora un nuevo sistema de posicionamiento automático, que utiliza dos puntos anatómicos fijos: el centro de la fovea y el centro de la apertura de la membrana de Bruch (BMO, del inglés Bruch’s membrane opening), creando un eje central fovea-BMO³⁷⁶.

- Para la evaluación del anillo neuroretiniano (ANR), el análisis se centra en la cabeza del NO. Se realizan 24 exploraciones radiales de alta resolución en un área de 15°. En la imagen obtenida de la cabeza del NO se delinea la BMO y la MLI automáticamente. La medición del ANR se realiza desde la BMO hasta el punto más cercano en la MLI. Esta medida de distancia más corta o mínima anchura del ANR,

se conoce como “BMO-MRW”. Este parámetro incluye el tejido del borde neurorretiniano perpendicular a la orientación de los axones, teniendo en cuenta el curso variable de las fibras nerviosas que entran en la cabeza del NO en todos los puntos de medición (Fig. 13) ³⁷⁷. Después de la adquisición de imágenes, un examinador capacitado (AL-de-E) revisó y confirmó la correcta segmentación de la BMO.

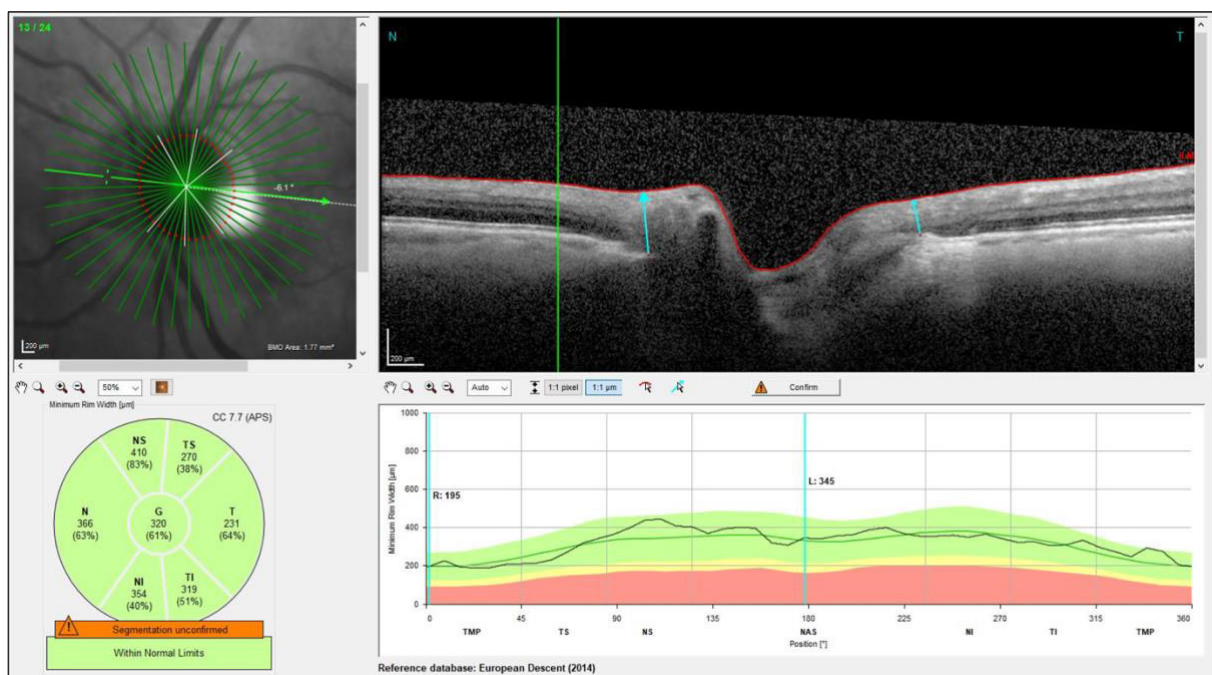


Figura 13. Análisis del nervio óptico mediante el protocolo “Glaucoma Module Premium Edition” de Spectralis. Este protocolo realiza 24 exploraciones radiales de la papila óptica en un área de 15°. Delinea automáticamente (flechas azules) la distancia mínima entre la membrana limitante interna (línea roja) y la apertura de la membrana de Bruch. Evalúa los axones del nervio óptico que atraviesan esta anchura mínima del anillo neurorretiniano.

- Para evaluar el espesor de la CFNR peripapilar, el software del GPME incluye 3 exploraciones circulares (diámetro del círculo interior: 3,5 mm, diámetro del círculo medio: 4,1 mm y diámetro del círculo exterior: 4,7 mm). Para este estudio solo se

registraron las cifras proporcionadas por el escaneado del círculo interior (estándar). Las mediciones de la CFNR de cada ojo se normalizaron para la orientación anatómica de la fovea al nervio óptico, para obtener un posicionamiento preciso (media de seguimiento automático en tiempo real 100) (Fig. 14).

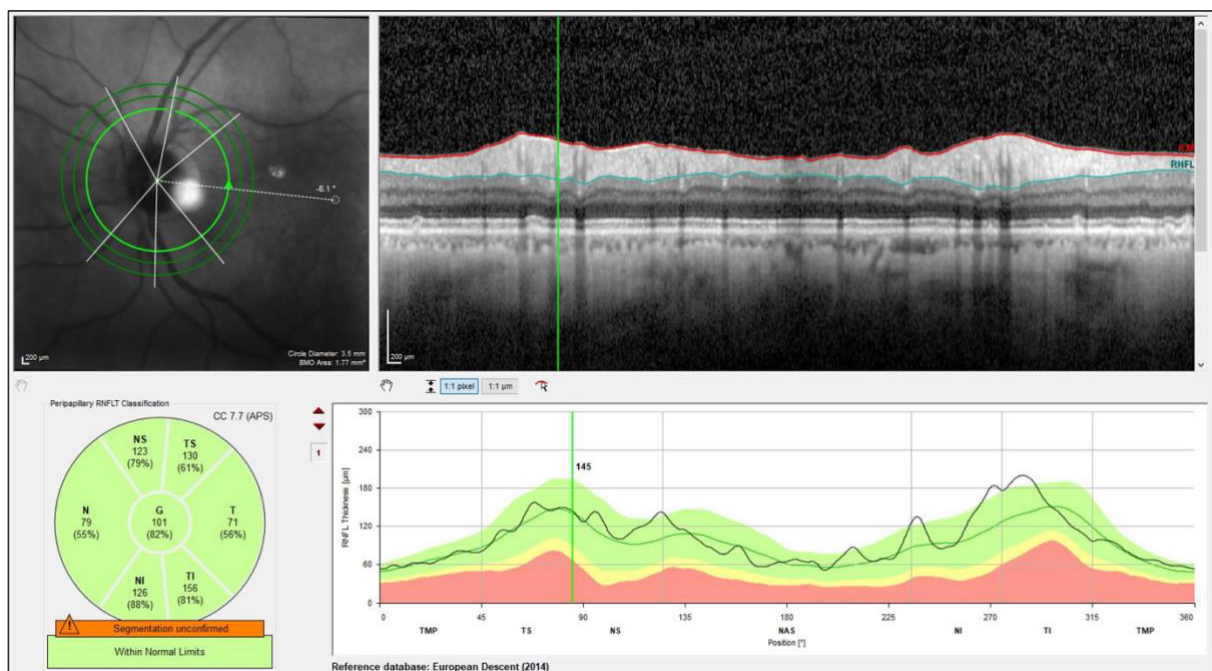


Figura 14. Análisis de la capa de fibras nerviosas de la retina mediante Spectralis. Este protocolo de Spectralis es el más utilizado para evaluar la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) en la práctica clínica. El análisis incluye tres exploraciones circulares (diámetro del círculo interior: 3,5 mm, diámetro del círculo medio: 4,1 mm y diámetro del círculo exterior: 4,7 mm).

Los protocolos de medición de la CFNR y la BMO-MRW generan un mapa con 6 sectores (supero-nasal, nasal, infero-nasal, infero-temporal, temporal, y supero-temporal) y la media para cada análisis.

→ Protocolo de adquisición del grosor del tejido preliminar

Las medidas relacionadas con la LC se realizaron mediante SD-OCT y tecnología EDI. Se realizó un scan vertical, lo más cercano posible al centro de la cabeza del NO, en el punto donde la visibilidad de la superficie anterior de la LC fue la máxima posible, excluyendo los vasos principales .

A continuación, de forma manual, se tomaron medidas del grosor del TP y de la profundidad de la superficie anterior de la LC (Fig. 15). El grosor del TP se definió como la distancia entre la superficie del TP anterior y la superficie anterior de la LC. La profundidad de la superficie LC anterior se determinó midiendo la distancia desde la línea de referencia hasta el nivel de la superficie anterior de la LC.

Para ello, se trazó una línea de referencia entre los extremos finales de la membrana de Bruch, y se marcaron tres puntos equidistantes (inferior, medio y superior), correspondientes a 1/3, 2/4 y 2/3. Dichos puntos, se emparejaron con la superficie anterior del TP y con la superficie anterior de la LC. A nivel de estos tres puntos, se tomaron medidas del grosor del TP y de la profundidad de la superficie anterior de la LC respecto a la línea de referencia. Las mediciones manuales se realizaron utilizando la herramienta de calibrador manual del software Spectralis por los investigadores enmascarados previamente nombrados (AL-de-E, AC).

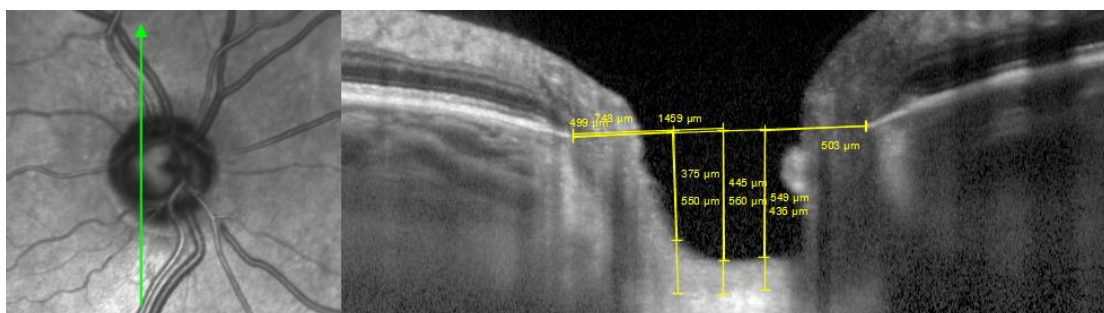


Figura 15. Representación de las mediciones manuales de la profundidad de la superficie anterior de la lámina cribrosa y el grosor del tejido preliminar.

3.4. Análisis estadístico

Se realizó mediante IBM SPSS Statistics V.20.0 (International Business Machine Corporation, Armonk, NY, EE. UU.).

- Se utilizó la prueba t de Student de muestras dependientes para comparar el grosor de la CFNR, la BMO-MRW, la CCGR, la CPI la CPE, y el grosor del TP, entre pacientes con EA y CS emparejados por sexo y edad.
- El coeficiente de correlación intraclase (CCI) se utilizó para evaluar la reproducibilidad interobservador en las mediciones de la LC y el grosor del TP, y de esta forma evaluar la fiabilidad de los resultados de las mediciones cuantificadas de forma manual.
- Para evaluar el valor de discriminación del grosor de la CCGR y la CFNR, se usó la Curva Característica Operativa del Receptor (ROC, del inglés “*receiver operating characteristic*”). El área bajo una curva (ABC) ROC indica la sensibilidad y especificidad de dichos parámetros de OCT como herramienta diagnóstica ³⁷⁸. El objetivo fue evaluar la capacidad dichos parámetros de OCT para discriminar entre demencia por EA versus CS, DCL versus CS y la suma de EA/DCL respecto a los CS.

4. Resultados

51 ojos en sujetos en fase de DCL y 12 ojos en sujetos en fase de demencia por EA, de 34 pacientes, y 63 ojos de 32 CS se incluyeron en el análisis final según los criterios de inclusión y exclusión.

Las características demográficas y clínicas de los pacientes con EA y los CS no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos (tabla 4).

Tabla 4. Características demográficas y clínicas de los participantes (63 ojos de 34 individuos con EA versus CS).

	Aβ+ (N=63)	CS (N=63)	P
Edad (años)	73.5 (6.0)	73.28 (6.0)	0.998
Ojos M (%)	31 (49.2)	31 (49.2)	1
Equivalente esférico (D)	0.53 (1.10)	0.58 (1.22)	0.797
AVMC	20/29(0.34)	20/26 (0.17)	0.259
LA (mm)	23.2 (0.8)	23.2 (0.9)	0.816
PIO	13.7 (3.9)	12.8 (2.8)	0.154

Abreviaciones: A β , beta amiloide; AVMC, agudeza visual mejor corregida; D, dioptrías; M, masculino; PIO, presión intraocular.

A β + es la suma de pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y pacientes con demencia debido a la EA.

Los datos de las variables cuantitativas se muestran como media (desviación estándar). Las diferencias de sexo se evaluaron con la prueba de Fisher. El resto del análisis se realizó mediante la prueba t de Student pareada para muestras relacionadas.

4.1. Resultados del análisis comparativo entre todos los A β + versus CS, DCL versus CS y EA versus CS.

La tabla 5 muestra la relación de los datos medidos en la OCT (CFNR, BMO-MRW, CNE, CPI y CCGR) entre todos los A β + versus CS, DCL versus CS y demencia versus CS.

La figura 16 representa un ejemplo del daño observado mediante OCT en los pacientes con DCL y demencia por EA.

Capa de células ganglionares de la retina

- El grosor de CCGR mostró una reducción significativa en los pacientes con DCL en el sector T en comparación con los CS ($42,2 \pm 8,4 \mu\text{m}$ en DCL y $46,1 \pm 6,1 \mu\text{m}$ en CS; $p=0.015$).
- En comparación con los CS, los pacientes con demencia por EA tuvieron una reducción significativa del grosor de CCGR en el sector S ($44,3 \pm 14,9 \mu\text{m}$ en EA y $55,2 \pm 5,4 \mu\text{m}$ en CS; $p=0.050$).
- Se identificaron diferencias más llamativas al comparar todos los $A\beta^+$ (DCL y demencia) con los CS, incluido un adelgazamiento significativo de las CCGR en todos los sectores ($p < 0,014$).

Capa plexiforme interna de la retina

- El grupo DCL no mostró resultados significativos.
- Se redujo de forma significativa en todos los sectores (S, I, T y N) en el grupo con demencia ($p=0.026$, $p=0.007$, $p=0.044$, $p=0.009$; respectivamente).
- La CPI se redujo significativamente en las regiones S y N en los $A\beta^+$ ($p=0.01$, $p=0.025$, respectivamente)

Capa nuclear externa

La CNE mostró cambios significativos en el sector S en el grupo DCL ($63,3 \pm 11,6 \mu\text{m}$ en DCL y $68,1 \pm 11,3 \mu\text{m}$ en CS; $p=0.048$) y en el grupo $A\beta^+$ ($p=0.010$).

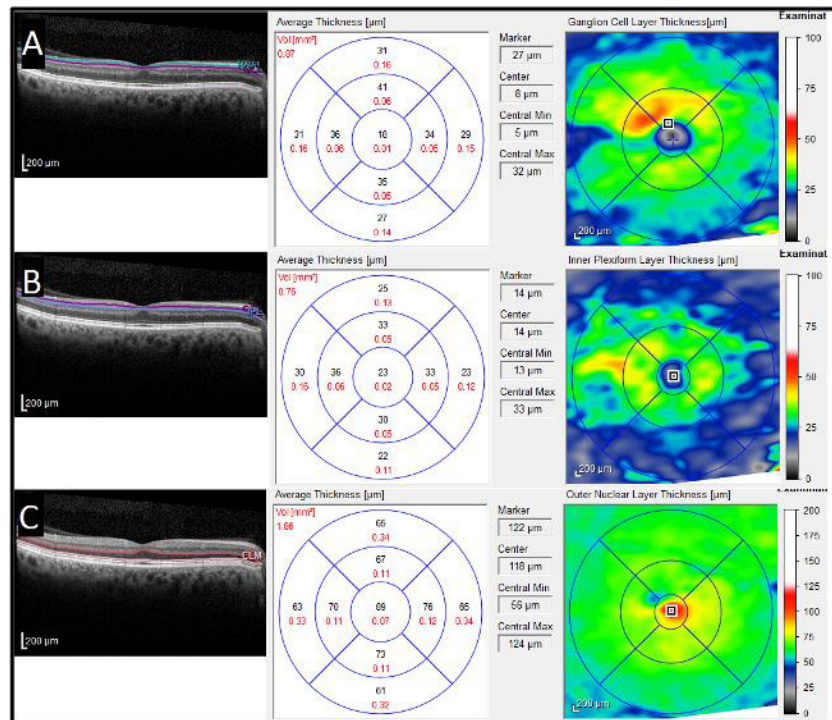


Figura 16. Representación de los cambios de las capas de la retina en la enfermedad de Alzheimer mediante tomografía de coherencia óptica (OCT) en un hombre de 67 años. Automáticamente el software de la OCT segmenta y analiza las siguientes capas: (A) capa de células ganglionares de la retina (CCGR), (B) capa plexiforme interna (CPI) de la retina, (C) capa nuclear externa (CNE) de la retina. Todas muestran un adelgazamiento difuso en todos los sectores. Las imágenes de la izquierda muestran la segmentación de las distintas capas de la retina (CCGR, CPI, CNE) y las de la derecha son el mapa de colores que muestra el adelgazamiento sectorial y difuso de las mismas.

Capa de fibras nerviosas de la retina

- El grosor medio, el grosor del sector TI y el grosor del cuadrante T de la CFNR se redujeron significativamente en el grupo DCL en comparación con los CS ($p=0.005$, $p=0.018$, $p=0.050$; respectivamente).
- El estudio no mostró diferencias significativas en la CFNR entre los sujetos con demencia y los CS.
- Los resultados comparativos entre el grupo $A\beta+$ (pacientes DCL y EA) y los CS apoyan los resultados del grupo DCL pero con mayor poder estadístico (grosor medio

$p=0.004$, grosor del sector T $p=0.028$, grosor del sector TI $p=0.004$). También se detectó un adelgazamiento significativo del grosor sector TS ($p=0.019$).

Apertura de la membrana de Bruch-grosor mínimo del anillo

- EL grosor medio de la BMO-MRW se redujo significativamente en el grupo DCL ($281.9 \pm 49.9 \mu\text{m}$ en DCL y $309.4 \pm 54.9 \mu\text{m}$ en CS, $p=0.027$).
- El sector T de la BMO-MRW se redujo de forma significativa en el grupo demencia ($214.2 \pm 27.6 \mu\text{m}$ en EA y $193.8 \pm 30.5 \mu\text{m}$ en CS, $p=0.012$).
- No se encontraron diferencias estadísticas en el grupo $A\beta+$.

Grosor del tejido preliminar y profundidad de la superficie anterior de la lámina cribosa

El estudio no reveló diferencias estadísticas en los parámetros en relación con la LC entre los $A\beta+$ y los CS.

Tabla 5. Comparación de los diferentes análisis de la tomografía de coherencia óptica entre pacientes Aβ+ y ojos de control.

	Aβ+ (n=63)	CS (n=63)	P	DCL (n=51)	CS (n=51)	P	Demencia (n=12)	CS (n=12)	P
CCGR S	47.5 (9.1)	51.8 (5.6)	0.006 *	48.3 (7.1)	51.0 (5.5)	0.057	44.3 (14.9)	55.2 (5.4)	0.050*
CCGR I	46.5 (9.8)	50.9 (6.0)	0.008 *	47.1 (8.5)	50.2 (6.1)	0.052	44.2 (14.4)	53.7 (4.5)	0.078
CCGR T	41.7(9.5)	46.7 (5.8)	0.002 *	42.2 (8.4)	46.1 (6.1)	0.015*	39.6 (13.4)	49.1 (4.3)	0.074
CCGR N	46.5 (9.3)	50.5 (6.4)	0.014 *	47.3 (7.8)	50,1 (6.6)	0.089	43.3 (14.2)	52.7 (5.1)	0.078
CPI S	39.0 (4.3)	41.1 (3.6)	0.011*	39.1 (4.4)	40.5 (3.2)	0.097	38.8 (4.1)	44.0 (3.9)	0.026*
CPI I	38.6 (4.3)	40.1 (3.7)	0.066	38.5 (4.5)	39.6 (3.7)	0.268	38.8 (2.9)	42.4 (2.5)	0.007*
CPI T	39.6 (4.1)	40.8 (3.6)	0.111	39.6 (4.1)	40.3 (3.3)	0.421	39.2 (3.8)	43.0 (4.1)	0.044*
CPI N	39.8 (3.9)	41.4 (3.5)	0.025*	39.7 (4.1)	41.0 (3.4)	0.138	39.7 (3.3)	43.3 (3.0)	0.009*
CNE S	63.4 (11.7)	68.9 (10.7)	0.010*	63.3 (11.6)	68.1 (11.3)	0.048*	63.5 (12.3)	72.7 (5.8)	0.058
CNE I	60.7 (15.2)	63.5 (12.2)	0.344	60.3 (14.5)	63.5 (12.7)	0.296	62.5 (18.4)	63.1 (10.0)	0.947
CNE T	69.4 (10.2)	72.7 (10.3)	0.072	68.6 (10.5)	72.2 (10.8)	0.100	72.9 (7.8)	75.0 (6.7)	0.442
CNE N	68.3 (15.3)	72.2 (11.8)	0.156	68.2 (15.1)	72.2 (11.6)	0.166	68.3 (16.9)	72.0 (13.2)	0.676
CFNR media	97.7 (11,6)	99.9 (8.2)	0.004 *	93.7 (12.5)	99.5 (8.1)	0.005*	99.4 (5.1)	102.0 (9.3)	0.482
CFNR T	66.5 (9.0)	71.3 (10.2)	0.028*	65.9 (9.4)	70.9 (10.7)	0.050*	70.0 (6.2)	74.1 (5.8)	0.312
CFNR ST	118.8 (16.6)	127.4 (17.4)	0.019*	119.5 (16.3)	127.3 (17.3)	0.062	115.0 (19.0)	128.3 (19.1)	0.080
CFNR IT	139.4 (20.8)	149.8 (15.8)	0.004*	139.5 (22.0)	149.0 (15.1)	0.018*	138.7 (10.4)	153.7 (19.6)	0.062

CFNR N	80.5 (17.8)	81.7 (15.2)	0.673	79.6 (18.3)	80.1 (15.5)	0.875	85.2 (14.4)	90.4 (10.5)	0.386
CFNR SN	111.3 (22.6)	117.3 (25.8)	0.201	108.9 (22.1)	117.4 (25.5)	0.090	124.3 (22.1)	166.6 (20.1)	0.571
CFNR IN	105.5 (29.6)	114.0 (18.0)	0.062	109.7 (27.4)	114.5 (16.8)	0.275	83.0 (33.1)	111.4 (24.9)	0.100
BMO-MRW media	290.3 (54.1)	303.5 (54.6)	0.263	281.9 (49.9)	309.4 (54.9)	0.027*	326.8 (58.8)	278.8 (47.3)	0.106
BMO-MRW T	208.9 (49.9)	203.3 (43.5)	0.649	207.7 (52.8)	205.4 (46.1)	0.878	214.2 (27.6)	193.8 (30.5)	0.012*
BMO-MRW ST	272.4 (64.2)	291.9 (49.8)	0.231	272.2 (70.1)	295.2 (53.6)	0.240	273.3 (28.8)	276.8 (24.7)	0.848
BMO-MRW IT	286.2 (67.5)	315.6 (64.6)	0.131	277.6 (69.7)	317.4 (64.9)	0.091	324.6 (41.2)	307.6 (68.8)	0.267
BMO-MRW N	319.8 (65.5)	325.2 (60.4)	0.735	305.5 (55.2)	327.3 (61.7)	0.202	383.6 (74.9)	315.5 (58.7)	0.095
BMO-MRW SN	328.0 (75.0)	347.2 (54.7)	0.323	322.4 (74.9)	348.1 (53.2)	0.237	353.0 (76.3)	343.3 (66.5)	0.845
BMO-MRW IN	348.3 (63.6)	371.0 (59.1)	0.138	342.2 (61.8)	372.6 (61.3)	0.089	375.6 (69.8)	363.8 (52.0)	0.657

Abreviaciones: A β , beta amiloide; BMO-MRW, apertura de la membrana de Bruch; CCGR, capa de células ganglionares de la retina; CFNR, capa de fibras nerviosas de la retina; CNE, capa nuclear externa de la retina; CPI, capa plexiforme interna de la retina; CS, controles sanos; DCL, deterioro cognitivo leve; EA, enfermedad de Alzheimer; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

A β + es la suma de pacientes con DCL y pacientes con demencia debido a la EA.

Los datos de las variables cuantitativas se muestran como media (desviación estándar). El análisis se realizó utilizando la prueba t de Student pareada para muestras dependientes.

4.2. Resultados del análisis comparativo entre pacientes con DCL versus pacientes con demencia por EA

En este análisis no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, se aprecia una tendencia clara de adelgazamiento de los parámetros de OCT medidos en los pacientes con demencia, respecto a grosores mayores en pacientes con DCL (tabla 6).

Tabla 6. Comparación de diferentes análisis de tomografía de coherencia óptica entre ojos con deterioro cognitivo leve y demencia por enfermedad de Alzheimer.

	DCL (N=51)	Demencia (N=12)	P
CFNR media	93.7 (12.5)	99.4 (5.1)	0.155
CFNR T	65.9 (9.4)	70.0 (6.2)	0.411
CFNR ST	119.5 (16.3)	115.0 (19.0)	0.793
CFNR IT	139.5 (22.0)	138.7 (10.4)	0.774
CFNR N	79.6 (18.3)	85.2 (14.4)	0.653
CFNR SN	108.9 (22.1)	124.3 (22.1)	0.060
CFNR IN	109.7 (27.4)	83.0 (33.71)	0.045*
BMO-MRW media	281.9 (49.9)	326.8 (58.8)	0.016*
BMO-MRW T	207.7 (52.8)	214.2 (27.6)	0.740
BMO-MRW ST	272.2 (70.1)	273.3 (28.8)	0.984
BMO-MRW IT	277.6 (69.7)	324.6 (41.2)	0.126
BMO-MRW N	305.5 (55.2)	383.6 (74.9)	0.006*
BMO-MRW SN	322.4 (74.9)	353.0 (76.3)	0.392
BMO-MRW IN	342.2 (61.8)	375.6 (69.8)	0.245
CCGR S	48.3 (7.1)	44.3 (14.9)	0.174
CCGR I	47.1 (8.5)	44.2 (14.4)	0.365
CCGR T	42.2 (8.4)	39.6 (13.4)	0.384
CCGR N	47.3 (7.8)	43.3 (14.2)	0.185
CPI S	39.1 (4.4)	38.8 (4.1)	0.852

CPI I	38.5 (4.5)	38.8 (2.9)	0.890
CPI T	39.6 (4.1)	39.2 (3.8)	0.740
CPI N	39.7 (4.1)	39.7 (3.3)	0.944
CNE S	63.3 (11.6)	63.5 (12.3)	0.086
CNE I	60.3 (14.5)	62.5 (18.4)	0.652
CNE T	68.6 (10.5)	72.9 (7.8)	0.203
CNE N	68.2 (15.1)	68.3 (16.9)	0.923

Abreviaciones: BMO-MRW, apertura de la membrana de Bruch; CCGR, capa de células ganglionares de la retina; CFNR, capa de fibras nerviosas de la retina; CNE, capa nuclear externa de la retina; CPI, capa plexiforme interna de la retina; CS, controles sanos; DCL, deterioro cognitivo leve; EA, enfermedad de Alzheimer; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

Los datos de las variables cuantitativas se muestran como media (desviación estándar). El análisis se realizó utilizando la prueba t de Student pareada para muestras dependientes.

* valor de $p < 0.05$.

4.3. Resultados del análisis de coeficiente de correlación intraclase del grosor del TP y la profundidad de la superficie anterior de la LC

La tabla 7 muestra los CCI de dos parámetros medidos en la OCT: la profundidad de la superficie anterior de la LC y el grosor del TP. Los CCI del primero fueron 0.974 para el corte superior, 0.993 para el corte central y 0.978 para el corte inferior. De manera similar, los CCI del grosor del TP fueron 0.992 para el corte superior, 0,996 para el corte central y 0.992 para el corte inferior.

Tabla 7. Coeficiente de correlación intraclase para determinar la reproducibilidad interobservador de las mediciones cuantificadas manualmente.

	CCI
LCS S	0.974
LCS C	0.993
LCS I	0.978
TP S	0.992
TP C	0.996
TP I	0.995

Abreviaciones: C, central; CCI, coeficiente de correlación intraclase; I, inferior; LCS, profundidad a la superficie anterior de LC; S, superior; TP, grosor de tejido preliminar.

4.4. Resultados del análisis de curvas ROC para la CCGR y la CFNR en DCL

Para evaluar el poder de discriminación del grosor de la CCGR y la CFNR por OCT en pacientes con DCL, se realizó el análisis de curvas ROC. El área bajo una curva ROC indica la sensibilidad y especificidad de dichos parámetros como herramienta diagnóstica.

La tabla 8 muestra el análisis del ABC de diferentes medidas de OCT con límites de confianza del 95% para la sensibilidad y la especificidad. Los valores del ABC más altos fueron el grosor medio de la CFNR, el sector T de la CFNR, el sector TS de la CFNR (0.652, 0.660, 0.666; respectivamente) y el sector T de la CCGR (0.699).

Tabla 8. Área bajo la curva de la Característica Operativa del Receptor.

	ABC	P
CCGR S	0.668	0.007
CCGR I	0.677	0.005
CCGR T	0.699	0.001
CCGR N	0.660	0.010
CPI S	0.666	0.008
CPI I	0.629	0.039
CPI T	0.612	0.072
CPI N	0.662	0.010
CNE S	0.668	0.007
CNE I	0.554	0.369
CNE T	0.670	0.006
CNE N	0.539	0.634
CFNR media	0.652	0.015

CFNR T	0.660	0.010
CFNR ST	0.666	0.008
CFNR IT	0.641	0.024
CFNR N	0.554	0.382
CFNR SN	0.570	0.264
CFNR IN	0.488	0.844
BMO-MRW media	0.616	0.063

Abreviaciones: ABC, área ajo la curva; BMO-MRW, apertura de la membrana de Bruch; CCGR, capa de células ganglionares de la retina; CFNR, capa de fibras nerviosas de la retina; CNE, capa nuclear externa de la retina; CPI, capa plexiforme interna de la retina; CS, controles sanos; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

El análisis de la sensibilidad y especificidad de diferentes de distintos parámetros de tomografía de coherencia óptica en el deterioro cognitivo leve, con límite de confianza de 95%.

Los valores en negrita representan los resultados altos del ABC.

5. Discusión

Nuestro trabajo se centró en el análisis de la retina y el NO en pacientes con EA.

En concreto, estudiamos las capas internas de la retina dado que la mayoría de estudios previos describieron adelgazamiento de las mismas durante la EA ^{151,157,158,161,201,311,332}, o incluso confirmaron que el daño ocular inicial se produce aquí ^{151,152,155,157,158}. Nos pareció más importante realizar un análisis segmentado de las distintas capas de la retina en lugar de analizar el grosor macular completo para poder apreciar dónde se produce el daño exactamente. Por esta razón, utilizamos Spectralis SD-OCT que incorpora la segmentación automática de las capas de la retina, para comparar la CFNR, la CCGR, la CPI y la CNE en sujetos en fase de demencia y DCL por EA versus CS emparejados por edad y sexo. Este estudio incluyó pacientes altamente caracterizados con criterios clínicos, pruebas neuro-cognitivas e imágenes de ¹¹C-PiB PET/TC como se recomienda en la actualidad ³⁶⁴.

En general, nuestros resultados muestran un adelgazamiento del grosor de la CFNR y de la CCGR en el total de sujetos con EA versus los CS.

5.1. Adelgazamiento de la CFNR

En el total de pacientes A β + demostramos una reducción significativa de la media del grosor de la CFNR. El grupo de pacientes con DCL también mostró una reducción de la misma, siendo estos datos respaldados por estudios previos tanto con TD-OCT ^{238,270,278,282,290} como con SD-OCT ^{160,286,289,295,301,302,311,325}.

Respecto al análisis sectorial del NO en los sujetos A β +, nuestros resultados muestran el daño de la CFNR de forma predominante en los sectores S e I, y en menor medida en la zona temporal. En el grupo con DCL, este daño se limita al sector I y al sector IT. De acuerdo con la distribución observada de los depósitos retinianos de A β en la retina superior ^{158,161} e inferior en pacientes con EA ¹⁶¹, varios informes histológicos mostraron el adelgazamiento de la CFNR principalmente dentro de estos cuadrantes ^{152,155,158,188,226,237,290} así como muchos estudios de OCT *in vivo* que se detallan a continuación. Estudios de OCT en sujetos en fase de demencia con resultados significativos muestran daño del sector S de la CFNR ^{152,226,237,273,275,277,288,290,293,296,298,309}, un número menor de estudios muestra daño del sector I ^{160,237,238,275,290,293,296,316} y algunos del sector T ^{275,295,304}. En línea con estos estudios y con nuestros resultados, dos recientes meta-análisis mostraron ambos reducción del grosor medio de la CFNR, y adelgazamiento del sector S ¹³⁹, y del sector S e I otro ³²⁷.

Los estudios en fase de DCL por EA muestran mayor variabilidad a la hora de determinar qué sectores de la CFNR se ven más dañados. En concordancia con

nuestros resultados, la afectación de los sectores T e I en esta fase se había descrito previamente en dos estudios: Choi et al. demostraron una reducción del grosor temporal de la CFNR en los pacientes con DCL que evolucionaron a demencia ²⁹⁵ y Gao et al. demostraron diferencias significativas entre EA y DCL en el sector I, así como adelgazamiento significativo en el sector T en DCL vs CS ²⁸⁹.

A pesar de las limitaciones técnicas por falta de biomarcadores que categoricen los grupos de estudio, la heterogeneidad de los dispositivos de OCT y algunos resultados contradictorios, ha surgido un patrón de pérdida axonal en pacientes con EA ^{152,153,240} muy parecido al patrón de daño descrito en el glaucoma, es decir, la atrofia de la CFNR en los cuadrantes S e I ¹²⁸. Dado que en estos cuadrantes existe la mayor concentración de axones de la CFNR, algunos autores sugirieron que el daño podría estar justificado por el hecho de que fisiológicamente se ubican más neuronas allí, y por lo tanto, la neurodegeneración sería más evidente ²⁴⁰. Otra hipótesis más aceptada, es la afectación preferencial según el diámetro axonal ²⁴⁰ o el tipo de CGR ¹⁵².

La afectación predominante de los cuadrantes S e I de la CFNR sugieren una afectación preferencial de las CGR-M que se proyectan a la vía magnocelular del NGL y al colículo superior. Estas células están distribuidas de manera uniforme en la retina, sobre todo en el área perimacular y en la periferia retiniana. Se caracterizan por tener axones de mayor diámetro para transmitir la señal a mayor velocidad en comparación con las CGR-P, que se localizan en su mayoría en la macula. Las CGR-M responden mejor a imágenes grandes, procesan información sobre profundidad y movimiento con alta resolución temporal, no

diferencian el color y no contribuyen específicamente a la AV ¹²². Esto concuerda con hallazgos histológicos y morfométricos que confirmaron que la pérdida axonal afecta a las fibras mayor calibre, localizadas en los cuadrantes S y, en menor medida, a los cuadrantes N e I y T ^{152,153,158,159,161}. La pérdida selectiva de las CGR-M grandes en las primeras etapas de la EA puede explicar el cuadro clínico de pacientes con buena AV y buena visión cromática (mediada por CGR-P) pero con alteraciones en ciertas funciones visuales como la orientación, la percepción espacial y el control del movimiento ocular ¹⁹⁴.

Nuestro estudio en profundidad del NO mediante el análisis del grosor de la LC y la profundidad de la superficie anterior de la LC no aportaron información relevante. Existe un estudio que analiza el grosor de la LC en EA versus CS y tampoco obtuvieron cambios significativos entre grupos, pero si correlacionaron el adelgazamiento de la LC con el aumento tTau en LCR sugiriendo que estos niveles altos de tTau pueden estar relacionados con mayor neurodegeneración a nivel del NO ³⁴³.

El análisis de la papila óptica mediante el módulo GMPE tampoco mostró resultados significativos excepto en el grosor medio de la BMO-MRW en sujetos con DCL respecto CS y en EA versus DCL. Este tipo de análisis ha resultado muy útil para el estudio de la atrofia óptica en el glaucoma, proporciona una sensibilidad y una especificidad significativamente mayores que la CFNR ^{379,380}. Serán necesarios estudios longitudinales con mayor muestra de pacientes para corroborar si la BMO-MRW es igual o mejor que la CFNR para evaluar el NO en otras enfermedades neurodegenerativas.

5.2. Adelgazamiento de la CCGR

En nuestro estudio, el análisis por OCT de las CGR se centra en el área macular. Los resultados mostraron un adelgazamiento de la CCGR en los cuatro sectores en el grupo de sujetos A β +, mostrando mayor afectación sectorial en este orden: T, S, I, N. Los pacientes con DCL tenían daño focal en el sector T y los pacientes con demencia daño focal en el sector S.

Como se mencionaba previamente, la mayor parte de estudios que analizaron la CCGR individualmente gracias a los nuevos programas de segmentación automática, encontraron una reducción significativa del grosor medio de la CCGR ^{292,299,300,303,312,316}, concordando con nuestros resultados. Estudios más antiguos, han analizado las CGR de distintas formas, según el tipo de segmentación realizada: cCGR (CFNR + CCGR + CPI), CG+CPI o CCGR. Esta heterogeneidad a la hora de evaluar las CGR, hace difícil comparar los resultados de los distintos estudios y definir qué sectores se ven más afectados, y más aun en pacientes con DCL dado que existen menos estudios realizados en esta población. Varios estudios en pacientes con DCL muestran una reducción de las CGR ^{288,295,309,311,312,333,334}. El grupo de Querques fue el único en analizar de forma individual la CCGR en pacientes con DCL y no obtuvieron resultados significativos ³¹².

Nuestros resultados apoyan un mayor daño del sector T de la CCGR en el total de pacientes A β +, así como en los pacientes con DCL. De forma similar, Almeida et al. refirió daño de los sectores TS y TI de la CG+CPI en DCL versus, CS³¹¹, y Querques et al.³¹² mostró un daño predominante en el sector T de la CCGR

individualmente en EA versus CS. La afectación temporal de la CCGR es consistente con estudios histopatológicos previos^{155,157}.

Cuando comparamos el grosor de la CCGR entre pacientes con demencia y pacientes con DCL, se apreció una tendencia no significativa de adelgazamiento según la severidad clínica de la enfermedad (valores más reducidos en el grupo de demencia que en DCL). Sin embargo, dado el tamaño limitado de nuestra muestra de sujetos con demencia, no podemos determinar si el daño de las CCGR es progresivo o si sufren cambios a lo largo del continuo de la enfermedad, como se ha descrito que puede suceder con el grosor macular total^{308,316}. De hecho, la secuencia temporal de la degeneración de la retina está en debate, muy posiblemente debido a la falta de estudios prospectivos que cubran la historia natural de la enfermedad. Una hipótesis de trabajo es que la retina es más gruesa en etapas más tempranas debido a la inflamación²⁹⁷ y más delgada en etapas avanzadas debido a la neurodegeneración³⁸¹. Recientemente un estudio ha informado sobre la asociación no lineal entre un mayor riesgo de deterioro cognitivo y el grosor de la CGR+CPI (tanto reducida como aumentada de tamaño)³⁸². Nuestros resultados de la OCT no muestran cambios retinianos dinámicos en las diferentes etapas cognitivas del análisis, sino más bien una tendencia lineal de adelgazamiento conforme progresa la enfermedad. Esta hipótesis debería evaluarse en estudios longitudinales bien diseñados.

Nuestros resultados, el daño generalizado de la CCGR en el total de sujetos con EA (T>S>I>N) y el daño del sector T en sujetos con DCL, concuerdan con un estudio histológico concretamente de las CGR en la región macular, el cual

determinó que el sector T es el más gravemente afectado, con una disminución de hasta un 52% de la densidad neuronal cerca de la foveola ¹⁵⁷. La afectación sectorial de las CGR observada en la retina central difiere de la de la retina periférica, donde la pérdida neuronal es mayor y se produce en los cuadrantes S e I en comparación ^{156,157}.

Por otro lado, nuestros resultados también mostraron daño de la CPI en el sector S y N y daño de la CNE en el sector S en el total de pacientes con EA vs CS. Estudios previos mostraron una reducción generalizada de la CPI ^{292,312} y CNE ²⁹² en pacientes con EA versus los controles. Por el contrario, Snyder et al. describieron un engrosamiento de la CPI en sujetos preclínicos A β + y sugirieron que los procesos inflamatorios tempranos y el depósito de A β podrían producir este aumento de grosor²⁹⁷.

El daño tanto de la CFNR como de la CCGR que observamos en la OCT se ve respaldado por numerosos estudios, histológicos y de OCT, que han mostrado una preferencia de daño de las capas internas de la retina ^{151,157,158,161,201,311,332}. Koronyo et al. demostraron que el daño de la CNI, la CNE y especialmente la CCGR en pacientes con EA, podía deberse al acúmulo de A β en las capas internas de la retina (CCGR, CPI e CNI)¹⁶¹. Un estudio morfométrico reveló un adelgazamiento significativo de la CCGR, la CPI y ambas capas nucleares en pacientes con EA, sobre todo en la región supero-temporal de la mácula ¹⁵⁸, de forma similar a nuestros resultados. La relación entre la patología Tau y la afectación de las capas internas de la retina es un tema de actualidad. Según varios informes, Tau se localiza de forma predominante en las capas internas de

la retina CPI, CNI y más débilmente en la CCGR y la CFNR, así como en los fotorreceptores ^{185,189,205,206}. Un estudio mostró agregados de Tau en la CPI y su propagación posterior a otras capas internas de la retina, hasta la CFNR, antes incluso que los depósitos de A β ²⁰¹. Otro estudio mostró una acumulación de Tau en el soma, dendritas y axones de las CGR, sin afectar al NO, enfatizando que este suceso precedía al depósito de Tau en el cerebro. Así, vemos como la patología Tau puede tener relación con la neurodegeneración ocular, probablemente afectando de forma preferencial a las CGR. Es necesario validar esta información con estudios que unifiquen criterios sobre dónde se deposita Tau a nivel ocular.

5.3. Limitaciones

La limitación principal de este estudio es su diseño transversal y el número limitado de pacientes incluidos, sobre todo en fase de demencia. Los estudios futuros deberían incluir más sujetos con EA en estadio temprano y estadio tardío, mediciones longitudinales y estudiar la posible correlación de los datos de OCT con datos volumétricos de RMN (por ejemplo, volumen del hipocampo) para contribuir a una mejor comprensión de la relación entre la pérdida neuronal retiniana y cerebral.

Otra limitación del estudio es que las mediciones relacionadas con la LC se realizaron de forma manual y solo se seleccionó una exploración vertical de la cabeza del nervio óptico para el análisis morfométrico, mientras que las exploraciones periféricas restantes no se evaluaron. Esto fue debido a que se seleccionaron para el análisis las imágenes de mayor calidad, la exploración

vertical más centrada sin vascularización retiniana, en la que los bordes eran más claramente visibles.

Sabemos que el adelgazamiento de la CFNR y la CCGR no son específicos de la EA, también suceden en otras enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson ^{271,353,383}, la esclerosis múltiple ^{211,384}, y en enfermedades oculares como el glaucoma ^{385,386}. Sin embargo, las imágenes de ¹¹C-PiB PET tienen muchos beneficios clínicos potenciales, como la detección preclínica de la EA y una diferenciación precisa de la EA de las demencias de otras etiologías ⁶⁰. Dado que nuestro estudio ha descartado cualquier patología ocular silente, y las imágenes de ¹¹C-PiB PET son específicas para detectar la presencia de A β , nuestros resultados son fiables y podemos confirmar el daño de la retina en los sujetos con EA.

5.4. Conclusión

Este estudio confirmó el daño de CFNR y CCGR en pacientes con EA y DCL, sugiriendo que estos cambios podrían ser detectados clínicamente en la EA prodrómica. Informamos sobre los valores mas discriminativos de ambas capas, el sector supero-temporal en la CFNR y el sector T en la CCGR.

No podemos determinar si el daño se produce antes en la CCGR o en la CFNR. Existe más evidencia científica publicada sobre el adelgazamiento de la CFNR en pacientes con EA, pero esto podría deberse a que el análisis de la CFNR estuvo disponible previamente al de la CCGR y que el análisis de OCT de la CCGR se realiza únicamente en la macula y los estudios histológicos han determinado un mayor daño de estas células en la región perimacular y en la periferia retiniana que no se suelen estudiar en la OCT.

Se requieren estudios longitudinales más grandes que comparen el grosor de la retina con biomarcadores de amiloide y lesión neuronal para dilucidar la utilidad del grosor de la retina y del nervio óptico como prueba de detección y/o biomarcador pronóstico en la EA preclínica.

Segundo estudio:

**Cambios en el grosor coroideo
medido por tomografía de
coherencia óptica en sujetos con
deterioro cognitivo leve y
demencia por enfermedad de
Alzheimer**

1. Hipótesis

“Los sujetos A β + con DCL presentan cambios precoces en el grosor coroideo ocular de manera similar a los pacientes en fase de demencia por EA”.

2. Objetivos

2.1. El objetivo principal fue evaluar la variación del grosor coroideo en pacientes A β + definido por ¹¹C-PiB PET/TC versus controles cognitivamente sanos emparejados por edad y sexo mediante la SD-OCT.

2.2. El objetivo secundario fue analizar la posible correlación entre los parámetros de la OCT y la gravedad clínica del deterioro cognitivo.

3. Material y métodos

3.1. Población de estudio

Se realizó un segundo estudio transversal en el grupo de pacientes caucásicos con EA continuum (en fase de DCL y en fase de demencia por EA) versus controles cognitivamente sanos emparejados por edad y sexo, ambos grupos ya definidos para el primer estudio.

Ambos grupos de pacientes, EA continuum y CS, fueron reclutados de forma ambulatoria en el departamento de Neurología y el Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla (HUMV) en Santander, entre mayo de 2016 y junio de 2018.

El diagnóstico fue establecido de acuerdo a los criterios diagnósticos de consenso para probable DCL por EA o demencia por EA con evidencia de

proceso fisiopatológico, definido por un PET-A β positivo, siguiendo las recomendaciones del NIA-AA⁸³, y solo se incluyeron aquellos casos con una completa concordancia entre los diagnósticos clínicos y los resultados del PET/TC.

Los CS eran los mismos voluntarios reclutados entre los familiares de los pacientes que acudían a la clínica de oftalmología con una queja de ojo seco.

Se incluyeron, como en el primer estudio, 34 pacientes EA continuum, 28 en fase de DCL y 6 en fase de demencia y un total de 63 ojos (51 ojos en pacientes en fase de DCL y 12 ojos en pacientes con fase de demencia). El grupo de CS estaba compuesto por 63 ojos de 32 sujetos, emparejados por edad y género con el grupo de EA continuum. En total, 126 ojos fueron examinados en el Servicio de Oftalmología.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Cantabria (IDIVAL) con código interno 2017.146 y se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes firmaron formularios de consentimiento por escrito antes de realizar los nuevos exámenes. Todos los pacientes inscritos pudieron comprender la información contenida en el consentimiento escrito y no eran legalmente incompetentes. Se informó a los pacientes de la posibilidad de abandonar el estudio en cualquier momento, sin perjuicio alguno de cara a la asistencia facultativa que pudieran precisar.

3.2. Criterios de inclusión y exclusión

Se utilizaron los mismos criterios que empleamos para definir los grupos del primer estudio.

3.3. Obtención de datos

Los pacientes reclutados para el primer estudio fueron evaluados de nuevo en el Servicio de Oftalmología del HUMV en Santander. Esta exploración incluyó:

- Historia clínica completa, con los antecedentes familiares y personales, antecedentes personales oftalmológicos y medicación.
- Medición de la AV mejor corregida (test Snellen).
- Medición de la PIO con tonómetro de aplanamiento de Goldmann.
- El error refractivo se registró utilizando un autorefractómetro Canon RK-F1 (Canon USA Inc., Lake Success, NY, EUA).
- La LA se midió con Lenstar LS 900 (Haag Streit AG, Koeniz, Switzerland).
- Biomicroscopía con lámpara de hendidura y examen de fondo de ojo, previa dilatación con una gota de tropicamida al 1% y fenilefrina.
- Tomografía de coherencia óptica Spectralis (SD-OCT) (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemania).

Cada paciente fue aleatorizado para decidir qué ojo se examinaría primero ³⁷².

Tomografía de coherencia óptica Spectralis ®

La exploración por OCT se realizó mediante SD-OCT con tecnología EDI incorporada (Heidelberg Engineering, Dossenheim, Alemania) ³⁸⁷. Este sistema muestra la estructura coroidea con mayor claridad y ayudar a evaluar con precisión la estructura transversal y el grosor de la coroides. Una vez obtenidas las imágenes, el GC fue medido de forma manual por un oftalmólogo experimentado (AL-de-E) que desconocía el estado neurológico de los pacientes.

→ Protocolo de adquisición del grosor coroideo

Se realizó un scan horizontal y uno vertical, de 8741 μm , generando dimensiones de 8741x8741 μm^2 . Las mediciones de GC se realizaron entre las 5 y las 6 p.m. horas y se pidió a los participantes que no consumieran cafeína durante al menos 12 horas antes del examen de OCT ³⁸⁸.

Los márgenes de la coroides se definieron desde la parte exterior de la línea hiperreflectiva (correspondiente al EPR) hasta la superficie interior de la esclera. Se tomaron medidas del GC en 14 ubicaciones diferentes (Fig. 17): en la fóvea (mediante un scan horizontal y otro vertical: FH y FV, respectivamente), y a 500, 1000 y 1500 μm de la fóvea en la zona nasal (N500 μm , N1000 μm y N1500 μm , respectivamente), en la zona temporal (T500 μm , T1000 μm y T1500 μm , respectivamente), en la zona superior (S500 μm , S1000 μm y S1500 μm , respectivamente) y en la zona inferior (I500 μm , I1000 μm e I1500 μm , respectivamente), como se ha publicado anteriormente ³⁸⁹.

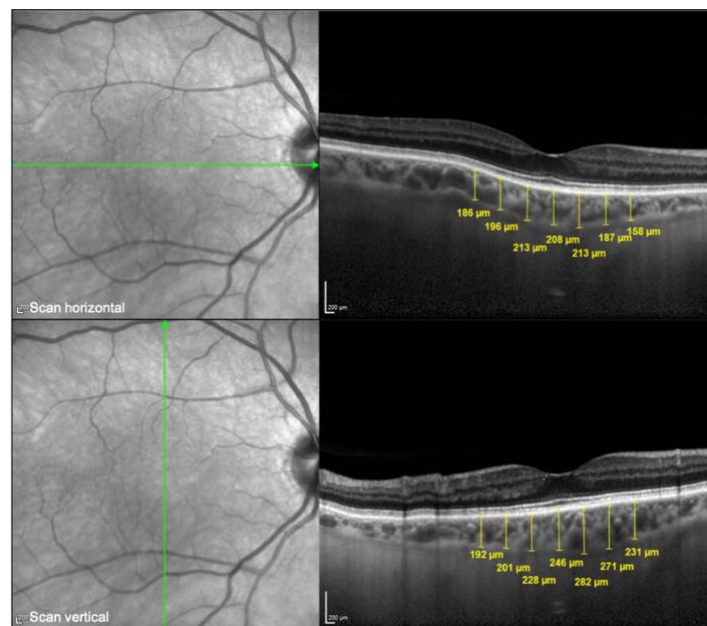


Figura 17. Representación de la medición del grosor coroideo mediante tomografía de coherencia óptica con imágenes de profundidad mejorada en el ojo

derecho. La imagen superior muestra el escáner horizontal y las mediciones manuales realizadas: subfoveal, y a 500µm, a 1000µm y a 1500µm desde la fóvea hacia el área nasal y temporal. La imagen inferior muestra el escáner vertical y las mediciones manuales realizadas subfoveal y a la misma distancia mencionada, hacia superior e inferior.

3.4. Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando IBM SPSS Statistics V.20.0 (International Business Machine Corporation, Armonk, NY, EE. UU.). El nivel de significación estadística se estableció en un valor de p menor de 0.05.

- Se utilizó la prueba Kolmogorov-Smirnov para una muestra para verificar la normalidad de la distribución de los datos. Todos los datos probados se distribuyeron normalmente, excepto el sexo.
- Se empleó la prueba t de Student pareada para comparar diferentes sectores del GC. Las diferencias entre las características demográficas y clínicas de los participantes se evaluaron con la prueba de Wilcoxon. La correlación entre los resultados de la OCT y la gravedad del deterioro cognitivo a través del MMSE se analizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson.
- Se utilizó un modelo de ecuaciones de estimación generalizada (EEG) para ajustar la correlación entre ambos ojos de un mismo paciente ^{390,391}. No fue viable incluir ambos ojos en algunos casos debido a que no fue posible terminar la exploración de ambos ojos en algunos pacientes por síntomas de demencia grave.
- Se utilizó el coeficiente de correlación intraclase (CCI) para determinar la reproducibilidad interobservador de las mediciones de GC analizadas manualmente.

- Finalmente, se realizaron curvas ROC para evaluar el valor de discriminación de los análisis de OCT. Una curva ROC es una representación gráfica de la sensibilidad frente a la especificidad para un sistema clasificador binario según se varía el umbral de discriminación. Se analizó el ABC para evaluar la capacidad del GC para discriminar EA/DCL versus CS ³⁹².

4. Resultados

En total, reclutamos consecutivamente 126 ojos para el análisis final según los criterios de inclusión y exclusión. En el grupo de pacientes, se incluyeron 34 pacientes, 28 con DCL (51 ojos (80.9%)) y 6 con demencia (12 ojos (19.0%)). El grupo control estaba formado por 63 ojos de 32 CS.

Las características demográficas y clínicas de los pacientes y controles se resumen en la tabla 4.

4.1. Resultados del análisis comparativo entre el total de pacientes A β + versus CS, pacientes con DCL versus CS y pacientes con demencia versus CS (tabla 9)

- En primer lugar, se comparó el GC de los pacientes A β + (suma de pacientes en fase DCL y demencia) versus CS. Se observó una reducción significativa del GC en los scans verticales en 4 ubicaciones, FV, S500 μ m, I1000 μ m, I1500 μ m, mientras que en los scans horizontales solo se apreció un adelgazamiento significativo del GC en la sección temporal a 1500 μ m.
- En segundo lugar, analizamos las diferencias del GC entre DCL y CS, encontrando una reducción significativa del GC en el scan inferior a 1000 μ m.

- Por último, analizamos las diferencias del GC entre pacientes en fase de demencia y CS, y no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las ubicaciones medidas.

Tabla 9. Comparación del grosor corioideo entre el total de pacientes con Alzheimer y ojos de control, entre los pacientes con deterioro cognitivo leve y ojos de control, y entre los pacientes con demencia y ojos de control.

	Aβ+ (n=63)	CS (n=63)	P	DCL (n=51)	CS (n=51)	P	Demencia (n=12)	CS (n=12)	P
GC T1500µm	235.4 (18.6)	266.9 (100.3)	0.037*	240.5 (75.0)	263.6 (85.6)	0.151	213.5 (92.5)	280.6 (152.0)	0.104
GC T1000µm	242.8 (83.9)	272.7 (109.1)	0.056	248.4 (81.6)	270.7 (93.2)	0.178	218.9 (93.0)	281.5 (165.8)	0.164
GC T500µm	250.5 (88.1)	287.4 (140.2)	0.058	253.8 (85.8)	285.6 (130.9)	0.145	236.5 (99.7)	295.1 (181.3)	0.195
FH	253.7 (88.7)	279.7 (115.0)	0.121	256.8 (87.6)	277.7 (95.1)	0.233	241.2 (97.4)	288.2 (182.8)	0.333
GC N500µm	241.1 (88.6)	267.7 (117.9)	0.124	244.0 (87.9)	265.0 (98.4)	0.254	228.5 (94.2)	279.1 (184.8)	0.301
GC N1000µm	225.9 (90.8)	256.3 (116.9)	0.088	231.3 (91.6)	254.0 (96.9)	0.227	202.8 (87.1)	265.8 (185.0)	0.218
GC N1500µm	200.9 (88.6)	229.23 (113.7)	0.105	206.5 (90.9)	227.8 (98.4)	0.253	176.9 (77.3)	235.3 (169.6)	0.232
GC S1500µm	217.0 (84.4)	240.1 (102.4)	0.132	221.6 (80.5)	239.6 (90.4)	0.292	197.9 (100.7)	242.3 (146.5)	0.237
GC S1000µm	226.9 (87.1)	252.7 (112.9)	0.123	232.2 (83.9)	251.4 (97.4)	0.294	205.3 (100.5)	257.8 (167.8)	0.215
GC S500µm	230.5 (85.9)	267.8 (116.8)	0.026*	234.2 (83.7)	268.41 (101.9)	0.058	215.5 (97.1)	265.5 (170.8)	0.271
FV	244.9 (87.3)	279.9 (113.5)	0.040*	250.5 (86.0)	279.4 (98.8)	0.116	222.1 (92.7)	282.3 (163.3)	0.193
GC I500µm	249.2 (84.6)	278.4 (111.9)	0.083	252.1 (82.6)	278.5 (99.7)	0.156	237.7 (95.2)	278.1 (157.6)	0.331
GC I1000µm	243.5 (77.8)	281.8 (108.9)	0.020*	245.8 (74.2)	283.2 (95.8)	0.040*	233.8 (93.9)	276.0 (155.0)	0.304
GC T1500µm	239.7 (76.9)	273.4 (109.7)	0.045*	243.6 (75.3)	275.1 (96.9)	0.083	223.8 (84.7)	266.6 (156.9)	0.348

Abreviaciones: Aβ, beta amiloide; CS, controles sanos; DCL, deterioro cognitivo leve; EA, enfermedad de Alzheimer; FH, fóvea horizontal; FV: fóvea vertical; GC, grosor corioideo; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

Aβ+ es la suma de pacientes con deterioro cognitivo leve y con demencia debidos a la EA.

Los datos de las variables cuantitativas se muestran como media (desviación estándar). El análisis se realizó utilizando la prueba t de Student pareada para muestras dependientes. *Valor de p <0.05.

4.2. Resultados del análisis de ecuaciones de estimación generalizada

Se realizó el análisis de EEG para comparar los grupos de DCL y demencia individualmente con el total de pacientes cognitivamente sanos (n=63) (tabla 10).

- Al comprar el grupo DCL versus el total de CS, se encontró un adelgazamiento significativo del GC en el scan I1000 μ m.
- En el análisis comparativo entre pacientes con demencia y el total de CS, se apreció un adelgazamiento significativo en las ubicaciones T1000 μ m, S1000 μ m, S500 μ m, FV, I1000 μ m y I1500 μ m.

El análisis EEG también se utilizó para comparar las mediciones del GC entre pacientes con demencia versus pacientes en fase de DCL, como muestra la tabla 11; no se encontraron diferencias significativas entre grupos en ninguna ubicación medida. A pesar de ello, se apreció una tendencia clara de adelgazamiento del GC conforme avanzaba el grado de deterioro cognitivo: el GC fue más delgado en pacientes con DCL que en los CS, y se redujo más en la etapa de demencia.

Tabla 10. Comparación del análisis del grosor coroideo entre pacientes con deterioro cognitivo leve y demencia por enfermedad de Alzheimer y el total de controles sanos, utilizando un modelo de ecuaciones de estimación generalizadas univariadas.

	DCL (n=51)	Total CS (n=63)	P	Demencia (n=12)	Total CS (n=63)	P
GC T ₁₅₀₀ µm	240.5 (75.0)	266.9 (100.3)	0.125	213.5 (92.5)	266.9 (100.3)	0.104
GC T ₁₀₀₀ µm	248.4 (81.6)	272.7 (109.1)	0.165	218.9 (93.0)	272.7 (109.1)	0.046*
GC T ₅₀₀ µm	253.8 (85.8)	287.4 (140.2)	0.134	236.5 (99.7)	287.4 (140.2)	0.103
F H	256.7 (87.3)	279.7 (115.0)	0.215	241.2 (97.4)	279.7 (115.0)	0.125
GC N ₅₀₀ µm	244.0 (87.9)	267.7 (117.9)	0.234	228.5 (94.2)	267.7 (117.9)	0.056
GC N ₁₀₀₀ µm	231.3 (91.6)	256.3 (116.9)	0.210	202.8 (87.1)	256.3 (116.9)	0.171
GC N ₁₅₀₀ µm	206.5 (90.0)	229.23 (113.7)	0.218	176.9 (77.3)	229.23 (113.7)	0.125
GC S ₁₅₀₀ µm	221.6 (80.5)	240.1 (102.4)	0.271	197.9 (100.7)	240.1 (102.4)	0.105
GC S ₁₀₀₀ µm	232.2 (83.9)	252.7 (112.9)	0.278	205.3 (100.5)	252.7 (112.9)	0.034*
GC S ₅₀₀ µm	234.2 (83.7)	267.8 (116.8)	0.105	215.5 (97.1)	267.8 (116.8)	0.034*
F V	250.5 (86.0)	279.9 (113.5)	0.098	222.1 (92.7)	279.9 (113.5)	0.037*
GC I ₅₀₀ µm	252.1 (82.6)	278.4 (111.9)	0.123	237.7 (95.2)	278.4 (111.9)	0.121
GC I ₁₀₀₀ µm	245.8 (74.2)	281.8 (108.9)	0.046*	233.8 (93.9)	281.8 (108.9)	0.015*
GC I ₁₅₀₀ µm	243.6 (75.3)	273.4 (109.7)	0.062	223.8 (84.7)	273.4 (109.7)	0.045*

Abreviaciones: CS, controles sanos; DCL, deterioro cognitivo leve; EA, enfermedad de Alzheimer; FH, fóvea horizontal; FV: fóvea vertical; GC, grosor coroideo; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

Los datos de las variables cuantitativas se muestran como media (desviación estándar). *Valor de p<0.05.

Tabla 11. Comparación del análisis del grosor coroideo entre pacientes con deterioro cognitivo leve y demencia debido a la enfermedad de Alzheimer utilizando un modelo de ecuaciones de estimación generalizadas univariadas

	DCL (n=51)	EA (n=12)	P
GC T ₁₅₀₀ µm	240.5 (75.0)	213.5 (92.5)	0.362
GC T ₁₀₀₀ µm	248.4 (81.6)	218.9 (93.0)	0.327
GC T ₅₀₀ µm	253.8 (85.8)	236.5 (100.0)	0.587
F H	256.7 (87.3)	241.2 (97.4)	0.619
GC N ₅₀₀ µm	244.0 (87.9)	228.5 (94.2)	0.610
GC N ₁₀₀₀ µm	231.3 (91.6)	202.9 (87.1)	0.327
GC N ₁₅₀₀ µm	206.5 (90.0)	176.9 (77.3)	0.264
GC S ₁₅₀₀ µm	221.6 (80.5)	197.9 (101.0)	0.460
GC S ₁₀₀₀ µm	232.2 (83.9)	205.3 (100.5)	0.406
GC S ₅₀₀ µm	234.2 (83.7)	215.5 (97.2)	0.548
F V	250.5 (86.0)	222.1 (92.7)	0.348
GC I ₅₀₀ µm	252.1 (82.6)	237.7 (95.2)	0.637
GC I ₁₀₀₀ µm	245.9 (74.2)	233.8 (93.9)	0.684
GC I ₁₅₀₀ µm	243.6 (75.3)	223.8 (84.7)	0.470

Abreviaciones: CS, controles sanos; DCL, deterioro cognitivo leve; EA, enfermedad de Alzheimer; FH, fovea horizontal; FV: fovea vertical; GC, grosor coroideo; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

Los datos de las variables cuantitativas se muestran como media (desviación estándar). *Valor de $p < 0.05$.

4.3. Resultados del análisis del área bajo la curva

Se calculó el ABC para dos medidas con resultados significativos, el GC a I₁₅₀₀µm y el GC a I₁₀₀₀µm, con límites de confianza del 95% para la sensibilidad y especificidad, como se muestra en la figura 18.

El valor más alto del ABC para discriminar DCL y demencia de CS fue la medida del GC en la ubicación I1000 μ m (área 0.597, $p=0.062$), mientras que para la ubicación I1500 μ m el ABC fue inferior (0.580, $p=0.122$).

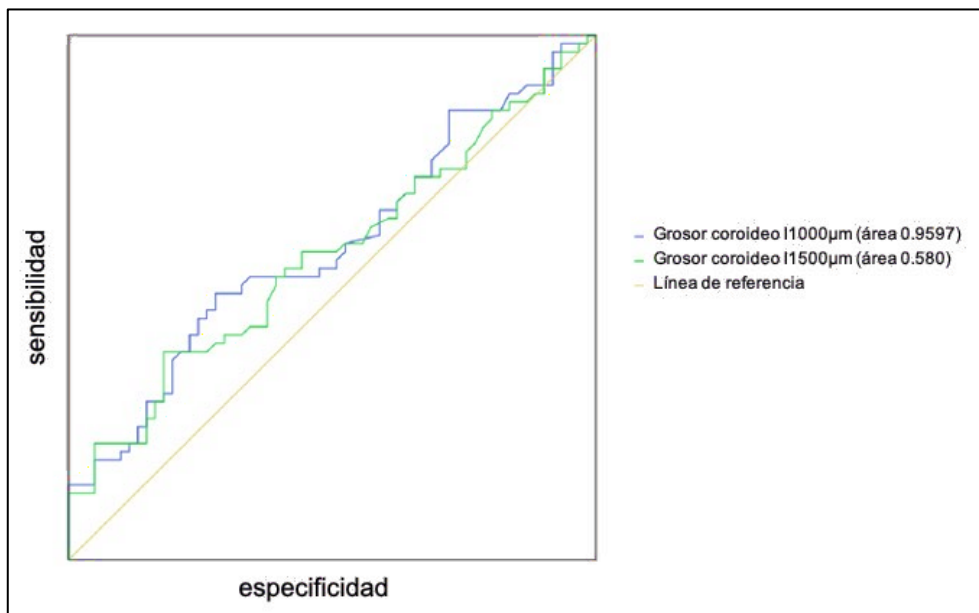


Figura 18. Área bajo la curva del grosor coroideo en el scan inferior a 1500 μ m de la fovea (I1500 μ m) y en el scan inferior a 1000 μ m de la fovea (I1000 μ m). El área bajo la curva del grosor coroideo a I1000 μ m (línea azul) obtuvo los valores más altos, constituyendo la medida más sensible y específica.

La figura 19 muestra los valores del GC en I1000 μ m en CS, DCL y EA; existe una diferencia significativa en el GC entre CS y DCL y entre CS y demencia como habíamos visto previamente. Además, en la figura 19 se aprecia la tendencia de adelgazamiento del GC según la evolución de la EA: será mayor este adelgazamiento en fase de DCL que en los CS, y mayor en fase de demencia.

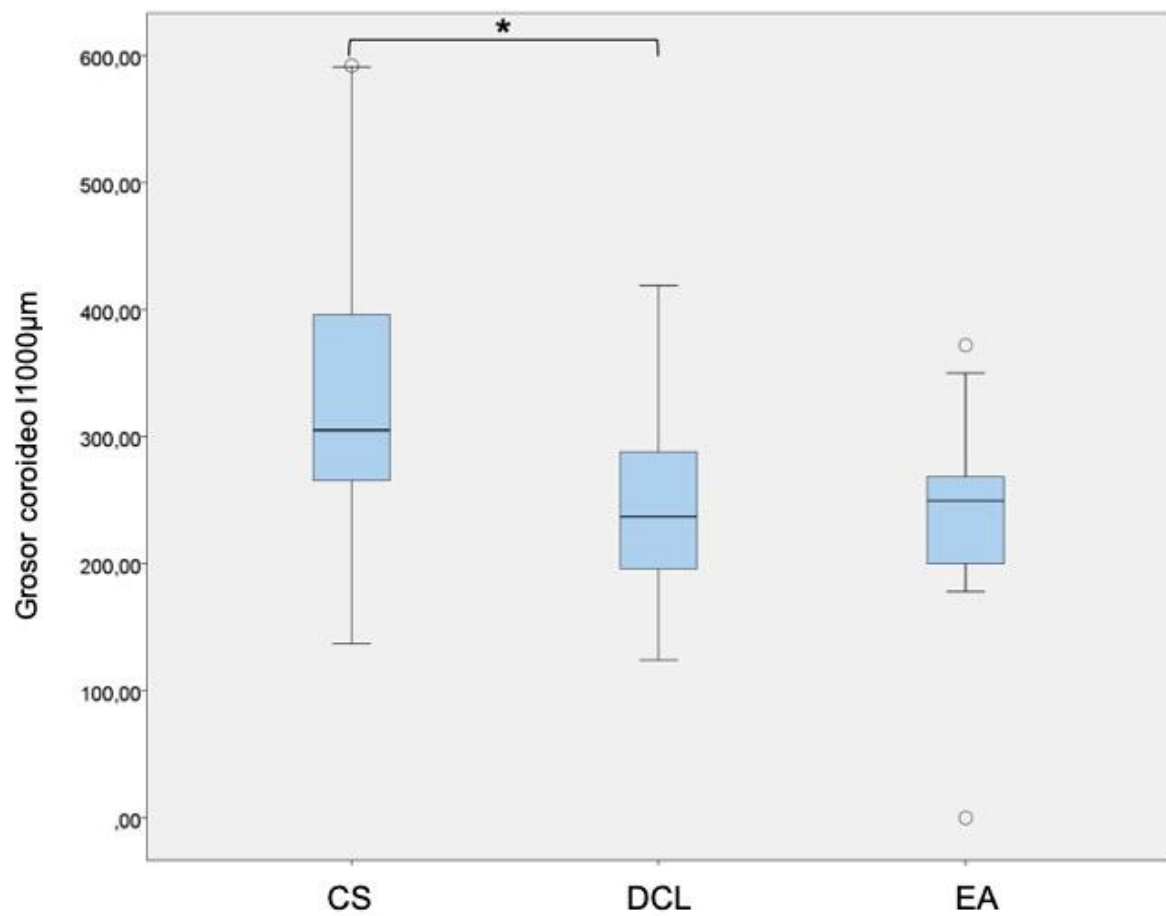


Figura 19. Diagrama de barras que muestra el grosor coroideo en el scan inferior a 1000µm de la fovea en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL), en pacientes con demencia por enfermedad de Alzheimer (EA) y en controles sanos (CS). Las barras de error representan un intervalo de confianza del 95%.

4.4. Resultados del análisis del coeficiente de correlación intraclase

Como las mediciones del GC se realizaron de forma manual, se calculó el CCI para determinar la reproducibilidad interobservador de las medidas cuantificadas manualmente (tabla 12), y mostró una fiabilidad alta ³⁹³.

Tabla 12. Coeficiente de correlación intraclase utilizado para determinar la reproducibilidad interobservador de medidas cuantificadas manualmente y los intervalos de confianza asociados.

	CCI	95% IC
GC T ₁₅₀₀ µm	0.997	0.996-0.999
GC T ₁₀₀₀ µm	0.976	0.952-0.985
GC T ₅₀₀ µm	0.988	0.981-0.994
F H	0.980	0.973-0.991
GC N ₅₀₀ µm	0.979	0.966-0.989
GC N ₁₀₀₀ µm	0.944	0.915-0.972
GC N ₁₅₀₀ µm	0.951	0.914-0.972
GC S ₁₅₀₀ µm	0.957	0.930-0.978
GC S ₁₀₀₀ µm	0.965	0.940-0.981
GC S ₅₀₀ µm	0.966	0.938-0.980
F V	0.944	0.908-0.971
GC I ₅₀₀ µm	0.964	0.944-0.982
GC I ₁₀₀₀ µm	0.916	0.857-0.954
GC T ₁₅₀₀ µm	0.905	0.831-0.942

Abreviaciones: CCI, coeficiente de correlación intraclase; FH, fóvea horizontal; FV: fóvea vertical GC, grosor coroideo; I, inferior; IC, intervalo de confianza; N, nasal; S, superior; T, temporal.

4.5. Resultados del análisis de correlación entre el MMSE y el GC

La tabla 13 muestra la correlación entre la puntuación MMSE y el GC en cada ubicación. A pesar de no obtener datos significativos ($p > 0.141$), se observó una tendencia de adelgazamiento del GC en relación a la disminución del MMSE en todas las mediciones de GC, y lo consideramos un coeficiente de correlación positiva consistente.

Tabla 13. Correlación del Mini Mental test con cada medida del grosor coroideo.

	<i>r value</i>	<i>p value</i>
GC T _{1500μm}	0.063	0.647
GC T _{1000μm}	0.055	0.687
GC T _{500μm}	0.055	0.690
F H	0.055	0.691
GC N _{500μm}	0.092	0.505
GC N _{1000μm}	0.079	0.567
GC N _{1500μm}	0.103	0.453
GC S _{1500μm}	0.214	0.124
GC S _{1000μm}	0.205	0.141
GC S _{500μm}	0.158	0.258
F V	0.159	0.256
GC I _{500μm}	0.119	0.397
GC I _{1000μm}	0.108	0.441
GC T _{1500μm}	0.140	0.317

Abreviaciones: FH, fóvea horizontal; FV: fóvea vertical GC, grosor coroideo; I, inferior; N, nasal; S, superior; T, temporal.

El análisis se realizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

5. Discusión

Los cambios vasculares en la retina pueden reflejar la patología cerebrovascular de la EA debido a su fisiopatología compartida ^{147,220,221}. Dado el desafío que supone la visualización *in vivo* de la AAC, las imágenes de retina son un enfoque prometedor para evaluar los vasos sanguíneos *in vivo* y proporcionar biomarcadores representativos de la integridad y función de la microvascularización cerebral en la EA ^{221,225,394}. Nuestra hipótesis es que estos cambios microvasculares que se producen en la EA pueden afectar al grosor de la coroides. La coroides es una capa muy vascularizada que suministra oxígeno, nutrientes y factores de crecimiento a la retina externa y al EPR, actúa difusor de calor, protegiendo los fotorreceptores, y es la única fuente metabólica para la zona avascular de la fovea ^{133,395}.

Gracias al desarrollo de la tecnología OCT con imagen de profundidad mejorada ¹³⁷, evaluamos si existen cambios en el GC en nuestra cohorte de pacientes con EA definida por ¹¹C-PiB PET respecto a los CS emparejados por edad y sexo. El presente trabajo es una extensión lógica de nuestro primer trabajo sobre el daño neurodegenerativo que se produce en las capas internas de la retina y su utilidad como potenciales biomarcadores de la EA. Y, además, constituye el primer estudio que investiga el grosor del tejido coroideo en sujetos con DCL positivos definidos por ¹¹C-PiB PET/TC.

Los principales resultados obtenidos en el análisis inicial fueron el adelgazamiento del GC en localizaciones seleccionadas (T1500µm, S500µm, FV, I1000µm, I1500µm) en todos los pacientes Aβ+ (suma de pacientes con DCL y demencia) versus CS. El grupo de sujetos con DCL mostró un adelgazamiento significativo en I1000µm respecto a CS, mientras que el grupo con demencia no mostró reducciones significativas del GC.

Existe, sin embargo, una tendencia lineal clara de adelgazamiento del GC según evoluciona el grado de deterioro cognitivo.

En un segundo análisis, en el que utilizamos un modelo de EEG para comparar el GC entre el grupo de pacientes con DCL y el grupo de pacientes con demencia individualmente respecto a todos los CS incluidos (tabla 11), se demostró una reducción significativa del GC concretamente en pacientes con demencia respecto a los CS. Encontramos una reducción del GC en foveal y parafoveal superior e inferior (S1000µm, S500µm, I1000µm. 1500µm), y temporal aislada (T1000µm). Además, distinguimos la tendencia a un mayor adelgazamiento del GC según progresa clínicamente la enfermedad: mayor adelgazamiento del GC en demencia que en DCL que en CS.

Dado que el depósito de Aβ en el SNC produce angiopatía cerebral, el depósito a nivel ocular podría producir cambios vasculares similares. De acuerdo con esta hipótesis, se han demostrado la presencia de Aβ en la vascularización retiniana y coroidea en modelos de ratón con EA ³⁹⁶, en modelos de ratón con envejecimiento fisiológico ³⁹⁷ y en humanos ^{163,219}. Tsai et al. fue el primero en describir histológicamente un adelgazamiento del GC tanto en modelos de rata como en retinas postmortem humanas con EA ¹⁷¹, sin embargo, un estudio reciente encontró variabilidad en el grosor coroideo según la localización ³²⁶. Curiosamente, la coroides era más delgada en la zona nasal y más gruesa en la región macular central en las retinas con EA. Este engrosamiento estaba relacionado significativamente con el número de vasos del estroma coroideo ³²⁶.

De forma similar a nuestro estudio, varios grupos evaluaron el GC *in vivo* mediante OCT^{279,328,339–342,347}, en pacientes en fase de demencia^{279,328,339–342,347} y en fase de DCL^{339,342}. Se utilizó tecnología EDI-OCT todos los casos excepto en uno³²⁸, y uno amplió su análisis con OCT-A³⁴⁷. Midieron el GC perpendicular desde el borde externo del epitelio pigmentario de la retina hiperreflectante hasta la esclerótica interna, obteniendo grosores promedio similares, de acuerdo con nuestro trabajo. Sin embargo, el GC fue medido un número de veces diferente en cada estudio (1 vez³⁴², 7 veces^{339,347}, 9 veces^{279,328,340} o 13 veces³⁴¹) y en localizaciones diferentes. Para resolver esta discrepancia, nosotros analizamos el GC en 14 ubicaciones, 2 de espesor subfoveal y 12 más separadas a 1500, 1000 y 500µm de las ubicaciones subfoveales³⁹⁸.

A pesar de la disparidad de la metodología empleada, 6 estudios mostraron una reducción del GC en todas las localizaciones medidas en EA^{279,328,339–341,347}, Bayhan en temporal a 3mm de la fóvea³²⁸ y Bulut en nasal a 3mm de la fóvea³³⁹.

Además, Bulut et al. detectó una reducción significativa del GC en DCL versus CS³³⁹. El mismo autor en un trabajo posterior en EA versus CS, confirmó el adelgazamiento del GC así como un aumento de la zona avascular foveal y una disminución de la densidad vascular³⁴⁷. Cunha et al. informaron de un adelgazamiento coroideo en la EA en comparación con los controles de la misma edad e incluso cuando se compararon con sujetos de edad avanzada³⁴¹. Gharbiya et al. midieron el GC al inicio del estudio y 12 meses desde el inicio, y encontraron que el GC disminuyó significativamente después de este tiempo en el grupo EA²⁷⁹. Robbins et al. no mostró adelgazamiento del GC a nivel subfoveal, pero si cambios en otros parámetros

medidos; informó de un aumento del área coroidea y del área luminal en EA y DCL versus CS, así como una disminución de la densidad vascular en sujetos con DCL ³⁴². Nuestros resultados no muestran un adelgazamiento general del GC, sino localizado en superior, inferior y subfoveal en sujetos con demencia. Podría ser este daño una consecuencia de la localización de los depósitos A β en estas mismas localizaciones ¹⁶¹.

Respecto a una posible correlación del GC con el MMSE, nuestros resultados no encontramos una correlación significativa y de acuerdo con esto, varios autores no informaron de una correlación significativa entre el GC y cada uno de los parámetros psicométricos evaluados ^{279,328,340,342}. Por el contrario, Bulut et al. observaron una correlación significativamente positiva entre la puntuación del MMSE y el GC en un primer estudio ³³⁹, y confirmaron esta asociación posteriormente, así como una relación del MMSE con el aumento de la zona avascular foveal y una disminución de la densidad vascular ³⁴⁷.

Desde nuestro punto de vista, los estudios de OCT mencionados tienen varias limitaciones. En primer lugar, ninguno utilizó biomarcadores de LCR o neuroimagen para diagnosticar y categorizar a los pacientes. Esto implica un grado variable de error que puede afectar al poder estadístico de los resultados. En segundo lugar, estos estudios de OCT no mencionaron cuándo realizaron las imágenes de OCT ni si utilizaron fenilefrina en caso de dilatación pupilar previo al análisis de OCT. Es importante tener en cuenta las variaciones diurnas del GC ³⁹⁹ así como que el GC se ve afectado por la fenilefrina de instilación tópica ³⁹⁸. Por estos motivos, creemos que

es importante realizar las imágenes de OCT a la misma hora del día en todos los pacientes y previo a la dilatación pupilar si es necesaria.

5.1. Limitaciones

Las principales limitaciones de nuestro estudio son el tamaño de muestra relativamente pequeño y el diseño transversal. Además, nuestro estudio incluyó pocos pacientes en fase de demencia. Por otro lado, gracias a esto, nuestra muestra se caracterizó por una marcada homogeneidad en los parámetros biométricos oculares que fortalece el poder de nuestros resultados. Aun así, la investigación futura debería incluir un mayor número de sujetos con EA en etapa temprana y tardía y mediciones longitudinales que valoren de forma continuada los posibles cambios del GC. Otra limitación habitual de en todos los estudios que utilizaron EDI-OCT es la medición manual del GC, que nos proporciona un análisis coroideo basado en medidas subjetivas no automatizadas. En nuestro caso, para realizarlo de la manera más objetiva y constante posible, un oftalmólogo bien capacitado (AL-de-E) que desconocía los diagnósticos de los pacientes realizó todas las mediciones del GC. Esta técnica manual ya se había utilizado en informes anteriores ³⁹⁸, demostrando tener una alta reproducibilidad intraobservador e interobservador ⁴⁰⁰.

Se incluyeron ambos ojos de cada paciente en caso de que la situación cognitiva lo permitiese. La inclusión de un ojo por sujeto, seleccionado al azar, está muy extendida, con fines estadísticos, reduciendo el posible sesgo de preferencia lateral. En realidad, la mayoría de los estudios incluyen un único ojo por paciente para evitar sesgos, sin embargo, existen análisis estadísticos que permiten el uso de ambos ojos aumentando el tamaño de la muestra ⁴⁰¹.

Nuestros resultados amplían la comprensión de la patología vascular en la EA y sugieren la vascularización como un biomarcador potencial complementario en la EA. Sin embargo, estudios futuros son necesarios para validar nuestros resultados: si el adelgazamiento del GC sucede en fases avanzadas de la enfermedad, si existe un adelgazamiento progresivo del GC según avanza la enfermedad o si hay fluctuaciones en el continuo de la enfermedad. Un estudio reciente ha demostrado la asociación no lineal (línea en forma de U invertida) de la CGR+CPI con exámenes cognitivos en sujetos sanos, sugiriendo la existencia de cambios dinámicos en los biomarcadores retinianos ³⁸².

5.2. Conclusión

Detectamos una tendencia lineal de adelgazamiento del GC en los pacientes con deterioro cognitivo leve, que se acentúa en los pacientes con demencia. Dentro de las localizaciones analizadas, el valor del GC que mejor discrimina entre DCL y demencia de CS fue la medida tomada en inferior a 1000µm de la fóvea.

Son necesarios estudios longitudinales exhaustivos que estudien la fisiopatología de la EA en la retina en todo el espectro del envejecimiento cognitivo, con biomarcadores core para validar los potenciales biomarcadores oculares ³⁶⁴. Idealmente, los estudios histológicos ayudarán a validar si los biomarcadores vasculares de la retina son sensibles y/o específicos para diagnosticar la patología vascular de la EA.

Tercer estudio:

**Cambios oculares medidos por
tomografía de coherencia óptica en
la enfermedad de Alzheimer en
etapa preclínica**

1. Hipótesis

“Las células ganglionares y la capa de fibras nerviosas de la retina se afectan en la etapa preclínica de la enfermedad de Alzheimer, y se correlacionan con biomarcadores validados de LCR y neuroimagen”.

2. Objetivos

2.1. Evaluar las medidas de OCT de una muestra de individuos procedentes de la comunidad, libres de demencia, extensamente fenotipados en el contexto de una cohorte de estudio longitudinal, para investigar si existe alguna alteración en el grosor de la retina o en el NO que se asocie a la presencia de patología de Alzheimer cerebral y, por tanto, pueda constituir un potencial biomarcador en estadios tempranos de la enfermedad.

2.1.1. Comparar la utilidad de los principales parámetros de OCT con biomarcadores core de LCR para identificar individuos con patología Alzheimer cerebral sin demencia.

2.1.2. Comparar la utilidad de las principales variables de OCT con el volumen del hipocampo para identificar individuos con patología Alzheimer cerebral sin demencia.

2.2. Explorar si los parámetros de OCT se relacionan con dominios cognitivos específicos como la memoria

3. Material y métodos

3.1. Población de estudio

La población de estudio se compuso de voluntarios participantes en la *Cohorte Valdecilla para el Estudio de la Memoria y el Envejecimiento Cerebral*, una cohorte prospectiva que busca profundizar en el conocimiento sobre los cambios biológicos y cognitivos relacionados con las etapas precoces de la EA así como investigar y validar biomarcadores multimodales útiles como diagnóstico de screening de la enfermedad. En dicha cohorte se incluyen personas procedentes de la comunidad que sean mayores de 55 años y vivan en la región de Cantabria.

Los participantes se someten a un protocolo basal que comprende la entrevista clínica, la evaluación neuropsicológica, la evaluación oftalmológica, un estudio de neuroimagen mediante RM craneal y recolección de muestras biológicas, incluyendo plasma y líquido cefalorraquídeo. El seguimiento longitudinal consiste en evaluaciones anuales para un nuevo examen neuropsicológico y recogida de muestras de plasma. El protocolo del estudio y el consentimiento escrito fue aprobado por el Comité de Ética del HUMV (número de referencia 2018.111) y se realizó de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes reclutados recibieron la información apropiada en el consentimiento por escrito, no eran legalmente incompetentes, y firmaron formularios de consentimiento por escrito antes de las exploraciones.

3.2. Criterios exclusión

Los criterios de exclusión fueron un diagnóstico previo de demencia o cualquier otro trastorno cognitivo; antecedentes personales de un trastorno psiquiátrico mayor, enfermedad cerebrovascular, traumatismo cráneo-encefálico grave, enfermedad de Parkinson o cualquier otra condición neurológica o médica que pueda interferir con la cognición, un déficit severo de audición y tratamiento crónico con anticoagulación o con cualquier medicamento conocido que afecte al estado cognitivo. En concreto, en la primera visita del estudio se excluye la existencia de una demencia no diagnosticada mediante una entrevista clínica, realizada por un neurólogo, y la escala IDDD (del inglés, “*Interview for Deterioration in Daily living activities in Dementia*”) ⁴⁰²

Los criterios de exclusión oftalmológica fueron un error refractivo >6.0 o <6.0 D de equivalente esférico o 3.0 D de astigmatismo, antecedente de cirugía ocular (excepto cirugía de cataratas), AV mejor corregida menor de 20/40, PIO >18 mmHg o antecedentes de PIO elevada, patología de la retina y patología del nervio óptico y opacidades clínicamente relevantes de los medios ópticos e imágenes de baja calidad debido a una fijación inestable.

3.3. Obtención de datos

La exploración de los sujetos tuvo lugar en el Servicio de Neurología, en el Servicio de Medicina Nuclear, y en el Servicio de Oftalmología del HUMV en Santander.

Evaluación neuropsicológica

Un objetivo secundario de este trabajo fue explorar si los parámetros de OCT se relacionaban con dominios cognitivos específicos como la memoria. Por lo tanto, seleccionamos para nuestro análisis el test de memoria libre y selectivamente

facilitado (FCSRT, del inglés “*Free and Cued Selective Reminding Test*”) ³⁶⁷. Es un examen de memoria episódica verbal que evalúa la atención y el procesamiento cognitivo.

Adicionalmente, los participantes fueron evaluados con el MMSE como medida de cognición global ³⁶⁶.

Adquisición y análisis de muestras de LCR para el estudio de biomarcadores

Las muestras de LCR se recolectaron en tubos de polipropileno de 15ml (Sarstedt, Ref # 62.554.002) y se transfirieron al Biobanco de Valdecilla donde se procesaron dentro de las primeras 2 horas tras la adquisición. Después de la centrifugación (2000gx10min, 4°C), se repartieron volúmenes de 0,45ml de LCR en tubos de polipropileno (WILMUT, Ref # W052960CL) y se almacenaron a -80°C hasta el análisis. Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente el mismo día del análisis, para evitar los efectos negativos de múltiples ciclos de congelación-descongelación, y se agitaron durante 5 a 10 segundos. Las pruebas de control de calidad se realizaron al comienzo de cada día para garantizar que todos los valores medidos de cada nivel de control (bajo, medio y alto) estuvieran dentro de los rangos objetivo.

Los niveles de A β ₄₂, de A β ₄₀, tTau y pTau₁₈₁ fueron cuantificados mediante la plataforma automatizada LUMIPULSE G600II (Fujirebio Europa, Gante, Bélgica) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los niveles de A β ₄₂ y A β ₄₀ se utilizaron para calcular el ratio de β -amiloide (A β ₄₂/A β ₄₀). Utilizamos como marcador amiloide el ratio A β ₄₂/A β ₄₀ para normalizar las diferencias interindividuales en la dinámica del LCR y los factores de confusión pre-analíticos que afectan tanto a de A β ₄₂ como a A β ₄₀.

Los resultados se interpretaron de acuerdo con los puntos de corte establecidos en la literatura ⁴⁰³. Según esto, dividimos a los participantes en 6 grupos para el primer análisis, considerando cada biomarcador de forma independiente: grupo $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ positivo y negativo, grupo tTau positivo y negativo y grupo pTau positivo y negativo.

Imagen de resonancia magnética nuclear

Todas las imágenes se adquirieron con el mismo escáner de resonancia magnética 3T Philips Medical Systems (Achieva, Best, Países Bajos) utilizando una bobina de detección de ocho canales. Se adquirió una secuencia sagital MPRAGE ponderada en T1 con los siguientes parámetros: ángulo de giro 90°, tiempo de repetición y tiempo de eco más cortos, tamaño de vóxel 1.2 mm y 170 cortes contiguos.

En primer lugar, se inspeccionaron visualmente las imágenes para detectar artefactos o anomalías anatómicas graves. Posteriormente, todas las imágenes fueron procesadas y analizadas utilizando la caja de herramientas CAT 12 (<http://www.neuro.uni-jena.de/cat/>), implementada en el programa *Statistical Parametric Mapping* (SPM12) en *Matlab R2014b* (MathWorks Inc., Natick, MA, USA; The MathWorks Inc. 2012).

Para segmentar las imágenes obtenidas del hipocampo, se utilizó el protocolo FreeSurfer automatizado (FreeSurfer Versión 6.0 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>)). Este software es una herramienta importante de mapeo del cerebro que facilita la visualización de las regiones funcionales de la corteza cerebral altamente plegada. El procedimiento incluye la corrección de movimiento y promediado de múltiples imágenes volumétricas ponderadas en T1, la extracción de tejido no cerebral ⁴⁰⁴, la segmentación de las estructuras volumétricas

de la sustancia blanca subcortical y de la sustancia gris profunda (incluyendo hipocampo, amígdala, caudado, putamen, ventrículos) ⁴⁰⁵, la normalización de la intensidad de vóxel ⁴⁰⁶ y una corrección topológica automatizada ⁴⁰⁷. Las medidas volumétricas de las regiones subcorticales se obtienen de forma automática mediante el procesamiento de datos ("aseg.stats" en FreeSurfer). El control de calidad de los datos adquiridos se realizó mediante el protocolo del Consorcio ENIGMA (<http://enigma.ini.usc.edu/>).

Exploración oftalmológica

- Historia clínica completa, con los antecedentes familiares y personales, antecedentes personales oftalmológicos y medicación.
- Medición de la AV mejor corregida (test Snellen).
- Medición de la PIO con tonómetro de aplanamiento de Goldmann.
- El error refractivo se registró utilizando un autorefractómetro Canon RK-F1 (Canon USA Inc., Lake Success, NY, EUA).
- La LA se midió con Lenstar LS 900 (Haag Streit AG, Koeniz, Switzerland).
- Biomicroscopía con lámpara de hendidura y examen de fondo de ojo, previa dilatación con una gota de tropicamida y fenilefrina.
- Tomografía de coherencia óptica Spectralis (SD-OCT) (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemania).

Cada paciente fue aleatorizado para decidir qué ojo se examinaría en primer lugar

³⁷².

Protocolos de Tomografía de coherencia óptica Spectralis ®

Los exámenes de SD-OCT fueron realizados por un oftalmólogo entrenado y cualificado (AL-de-E). Solo se incluyeron exploraciones de alta calidad, definidas como exploraciones con calidad de señal >25 (donde el rango de puntuación de calidad es de 0 (mala calidad) a 40 (excelente calidad)), sin discontinuidad o desalineación, mala iluminación, movimientos oculares sacádicos involuntarios o artefactos. Las imágenes se adquirieron utilizando el software de seguimiento ocular (TruTrack; Heidelberg Engineering GmbH), mejorando la reproducibilidad de los scans

408.

Se analizaron la capa de células ganglionares de la retina (CCGR), la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR), la apertura de la membrana de Bruch (BMO-MWR) y el grosor corioideo (GC). Los protocolos para realizar estas mediciones son los mismos que utilizamos en el primer estudio, a excepción del análisis de la CCGR para el cual se utilizó un software diferente como se explica a continuación.

→ Protocolo de adquisición del espesor de la capa de células ganglionares

Se utilizó el software de análisis del polo posterior (PPA, del inglés “*posterior pole analysis*”) de la SD-OCT para obtener exploraciones retinianas volumétricas (área de exploración: 30°×25°). La OCT dibuja automáticamente una línea que une el centro de la fovea y el centro del disco óptico como línea de referencia, con una inclinación de la fovea al disco de 7°. A continuación, se registran 61 exploraciones axiales (scan de 1024 A / línea) paralelas a la línea de referencia central. La calidad de los scans se evalúa mediante una escala de colores ubicada en la parte inferior de las imágenes escaneadas. Una imagen obtenida en el rango verde se consideró de buena calidad

para ser incluida en el estudio. Se determinó el grosor medio de la CCGR de cada sector de 8x8 ($3^{\circ} \times 3^{\circ}$) (64 sectores). Para agilizar el estudio, se analizaron los datos de las cuadrículas centrales 4x4. Las 16 cuadrículas se definieron por sectores como se muestra en la figura 20: T, N, S e I. El sector S incluyó desde la cuadrícula 1 a la 8, mientras que el sector inferior incluyó de la 9 a la 16 (Fig.20).

Además, este protocolo incluye un mapa de desviación de la CCGR que constituye una representación en escala de colores del daño topográfico de la CCGR. En él se asignan colores a los valores numéricos y representan el grosor máximo o mínimo de la CCGR. Los valores normales aparecen como áreas rojas y las áreas sin color indican un grosor de la CCGR extremadamente bajo.

El análisis de segmentación se realizó utilizando el software de segmentación Heidelberg (versión 1.10.2.0) para calcular el grosor de la CCGR siguiendo las recomendaciones de APOSTEL ⁴⁰⁹.

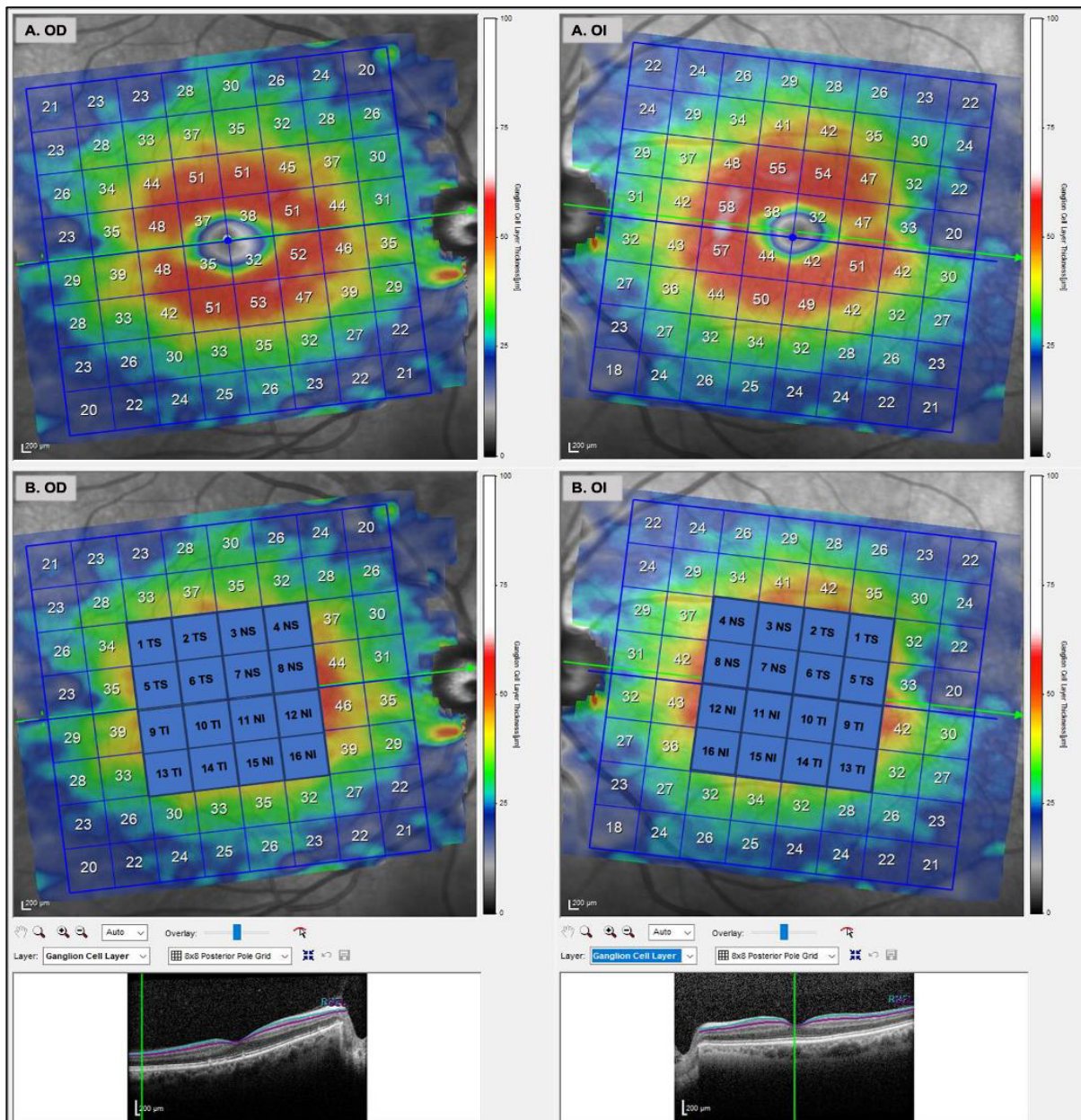


Figura 20. Tomografía de coherencia óptica que muestra el análisis del polo posterior de la capa de células ganglionares de la retina. El software de análisis del polo posterior (PPA) registra 61 exploraciones axiales paralelas a la línea de referencia central que une el centro de la fovea y el centro del disco óptico. (A) Determina el grosor medio de la capa de células ganglionares de la retina (CCGR) de cada sector de 8x8, en total 64 sectores. (B) Se analizaron los datos de las cuadrículas centrales 4x4, en total 16. Las 16 cuadrículas se definieron por sectores como se muestra en el ojo derecho y el ojo izquierdo: temporal, nasal, superior e inferior. La zona superior incluye desde la cuadrícula 1 a la 8, mientras que el sector inferior incluye de la 9 a la 16.

Abreviaciones: I, inferior; N, nasal; OD, ojo derecho; OI, ojo izquierdo; S, superior; T, temporal.

3.4. Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron utilizando IBM SPSS Statistics V.20.0 (International Business Machine Corporation, Armonk, NY, EE. UU.).

- En el primer análisis de datos, dicotomizamos la muestra de individuos según su status de biomarcador core de LCR, utilizando los puntos de corte previamente establecidos ($A\beta_{42}/A\beta_{40} + y -$, $tTau + y -$ y $pTau + y -$) ⁴⁰³. A continuación, se evaluaron los posibles factores de confusión comparando variables oftalmológicas (como PIO, paquimetría, LA y error refractivo) en estos grupos. Se calculó la media de los dos ojos de cada individuo, para todas las mediciones de OCT (CCGR, CFNR, grosor del TP, BMO-MWR y GC). Después, se realizó un análisis univariante usando la prueba t de Student, comparando los parámetros de OCT en el grupo de individuos $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ positivo versus negativo, en el grupo $tTau$ positivo versus negativo y en el grupo $pTau$ positivos versus negativos.
- En la segunda parte del trabajo, seleccionamos los parámetros de OCT que en el análisis univariante se asociaron significativamente al continuo Alzheimer para estudiar su posible relación con los niveles de biomarcadores en LCR y con el volumen del hipocampo medido por RMN. Para ello se utilizó un modelo lineal generalizado, siendo los datos cuantitativos de los biomarcadores la variable dependiente ($A\beta_{42}/A\beta_{40}$, $pTau$, $tTau$ y volumen del hipocampo) y las medidas de OCT, seleccionadas después del primer análisis, como las variables independientes. Se incluyeron la edad y el sexo como covariables en todos los análisis. Utilizamos la tasa de descubrimientos falsos (FDR, del inglés “*False Discovery Rate*”) para corregir el uso de múltiples test debido el número elevado de exploraciones por OCT ⁴¹⁰.

- Para la tercera parte, de nuevo se incluyeron solo aquellos parámetros OCT que fueron capaces de discriminar, a nivel nominal, entre biomarcadores en el análisis univariante, para estudiar su posible relación con las puntuaciones neuropsicológicas (FCSRT) utilizando la prueba de correlación de Pearson .

4. Resultados

4.1. Datos demográficos

Para el análisis final se incluyeron consecutivamente 191 ojos (la media de ambos ojos) de 99 individuos (tabla 14). La media de edad fue de 64.7 ± 6.3 años, predominando el sexo femenino (71%). La mayoría de los individuos eran cognitivamente sanos (MMSE medio 28.94 (1.3) y el FCSRT medio fue 15.01 (2.43).

Tabla 14. Características demográficas y clínicas, rendimiento neuropsicológico y resultados de los biomarcadores.

Características	n= media 191 ojos de 99 sujetos
Edad (años) media (DE)	64.9 (6.6)
Ojos (% femenino)	71%
ES media (DE)	0.34 (2.04)
LA (mm), media (DE)	23.18 (1.4)
PIO media (DE)	13.62 (2.77)
Paquimetría, media (DE)	28.97 (1.21)
MMSE (0-30), media (DE)	28.94 (1.3)

FCSRT	15.01 (2.43)
Biomarcadores LCR:	
. A β ₄₀ , media (DE), pg/ml	10615.01 (3278.23)
. A β ₄₂ , media (DE), pg/ml	819.78 (336.35)
. Ratio A β ₄₂ / A β ₄₀ , media (DE)	0.078 (0.02)
. total-Tau, media (DE), pg/ml	330.70 (137.25)
. Tau fosforilada, media (DE)	43.97 (26.35)
. Volumen de hipocampo, media (DE)	3266.08 (372.21)

Abreviaciones: A β , β -amiloide; DE, desviación estándar; ES, equivalente esférico; FCSRT, test de memoria libre y selectivamente facilitado; LA, longitud axial; LCR, líquido cefalorraquídeo; PIO, presión intraocular.

Los datos obtenidos en el examen oftalmológico (PIO, LA, error refractivo, paquimetría) se evaluaron como posibles factores de confusión, sin embargo, no mostraron asociaciones significativas con los biomarcadores de LCR de la EA (tabla 15). Por ello, no se consideraron como factores de confusión para el análisis estadístico.

Tabla 15. Análisis de las variables oftalmológicas como posibles factores de confusión.

	Ratio A β			pTau			tTau		
<i>Media</i>	+	-	<i>p</i>	+	-	<i>p</i>	+	-	<i>p</i>
PIO	14.5	13.5	0.122	14.25	13.5	0.088	14.25	13.5	0.463
LA	23.16	23.07	0.110	22.98	23.12	0.902	23.12	23.07	0.264
ES	0.44	0.38	0.824	0.69	0.38	0.795	0.56	0.38	0.679
Paquimetría	533.0	538.0	0.877	531.5	538.0	0.478	531.5	536	0.995

Abreviaciones A β , β -amiloide; ES, equivalente esférico; LA, longitud axial; PIO, presión intraocular; pTau, Tau fosforilada; tTau, Tau total.

4.2. Resultados del análisis univariante

Los resultados obtenidos en este análisis se muestran en la figura 21. Comparamos los parámetros medidos con la OCT (CFNR, CCGR, CG y BMO-MRW) entre el grupo de individuos $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ positivo versus negativo, entre el grupo de individuos pTau positivo versus negativo y entre en el grupo tTau positivo versus negativo.

- Ninguna de las medidas de OCT discriminó significativamente entre individuos positivos versus negativos para el biomarcador ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$.
- Encontramos cambios significativos en la CCGR, la CFNR y la BMO-MRW entre los grupos pTau positivo y negativo. En el grupo pTau positivo el grosor de la CCGR disminuyó en el sector 6 TS ($p=0.044$) y en el sector 7 NS ($p=0.043$), la CFNR disminuyó en el sector IT ($p=0.049$), y la BMO-MRW disminuyó en los sectores ST ($p=0.03$) y SN ($p=0.014$).
- También encontramos cambios significativos en la CCGR y la BMO-MRW entre los grupos tTau positivo y negativo. En el grupo tTau positivo el grosor de la CCGR disminuyó en los sectores 6TS ($p=0.049$), 7NS ($p=0.035$), 9TI ($p=0.046$) y 13TI ($p=0.021$). También, encontramos una reducción en la media de la BMO-MRW ($p=0.002$), y en el análisis sectorial, una reducción significativa en el sector SN ($p=0.016$).
- No se encontraron diferencias significativas en el grosor del tejido coroideo entre grupos.

4.3. Resultados del análisis multivariante

En segundo lugar, se obtuvieron los resultados del análisis multivariante ajustado por edad y sexo (tabla 16), para el cual utilizamos las medidas de OCT que mostraron una

correlación significativa con los biomarcadores de LCR en el análisis univariante (CCGR, CFNR y BMO-MRW).

- De nuevo, el ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ no mostró ninguna asociación significativa con las medidas de la OCT.
- Niveles altos de pTau en LCR se relacionaron significativamente con una reducción del grosor de la CCGR en los sectores 6 TS, 9 TI y 13 TI.
- Los niveles de tTau mostraron una correlación negativa con el grosor de la CCGR en los sectores 9 TI, 13 TI y 14 TI ($p \leq 0.05$) y también de forma aislada con el sector IN de la CFNR ($\beta = -1,02 \pm 0,49$, $p = 0,041$).
- Ninguna de las medidas de BMO-MRW se asoció significativamente con alguno de los biomarcadores de LCR.
- Los resultados del análisis multivariante para el volumen del hipocampo mostraron una relación importante con el grosor de la CCGR. Un mayor volumen de hipocampo se asoció con un mayor grosor de la CCGR y viceversa. Como se muestra en la tabla 15, el grosor de las CCGR en los sectores 1 TS, 2 TS, 3 NS, 4 NS, 5 TS, 8 NS, 9 TI, 12 NI, 13 TI, 14 TI, 15 NI y 16 NI se asoció significativamente al volumen del hipocampo.

Además, el grosor medio de la CFNR mostró una asociación significativa con el volumen del hipocampo, así como el análisis por sectores (IT, IN, N y SN).

No se encontró relación entre el volumen del hipocampo y las medidas de BMO-MRW. Después del ajuste estadístico con el FDR, la mayoría de los sectores de la CFNR y de la CCGR mostraron una correlación significativa con el volumen del hipocampo, mientras que la correlación con Tau no fue significativa (datos marcados con asterisco en la tabla 16).

4.4. Correlación de los parámetros de OCT con el deterioro de la memoria

Ninguna medida de OCT se correlacionó con las puntuaciones del FCSRT.

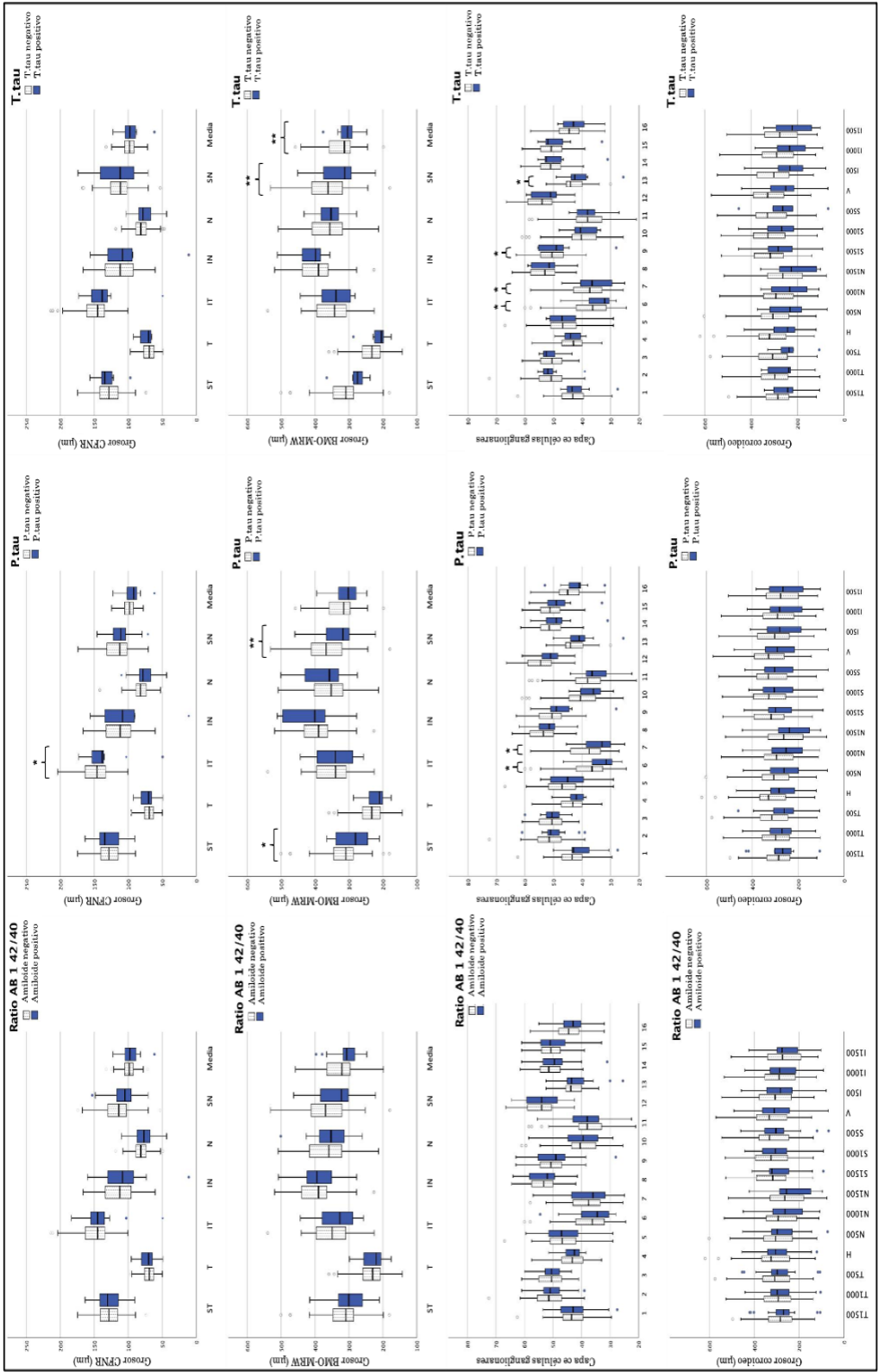


Figura 21. Representación de los resultados del análisis univariante en gráficos de barras.

Los símbolos * y ** resaltan los resultados con valores p significativos ($p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente).

Abreviaciones: A β , β -amiloide; BMO-MRW, apertura de la membrana de Bruch; CFNR, capa de fibras nerviosas de la retina; I, inferior; N, nasal; pTau, Tau fosforilada; S, superior; T, temporal; tTau, Tau total.

Tabla 16. Análisis multivariante entre los datos de OCT y los biomarcadores core de LCR y el volumen del hipocampo.

	Aβ₄₂/Aβ₄₀		p Tau		t Tau		Volumen del hipocampo	
	Beta (ic 95%)	p	Beta (ic 95%)	p	Beta (ic 95%)	p	Beta (ic 95%)	p
CCGR	TS 1	-1.94 _{E-5} (-0.001-0.001)	0.959	-0.53 (-1.36-0.29)	0.200	-2.26 (-6.70-2.18)	0.314	17.13 (5.69-25.57) 0.004
	TS 2	-8.72 _{E-5} (-0.001-0.001)	0.823	-0.37 (-1.23-0.48)	0.390	-1.97 (-6.57-2.64)	0.398	15.58 (3.54-27.62) 0.012*
	NS 3	0.00 (-0.001-0.001)	0.722	-0.12 (-1.09-0.86)	0.811	-0.88 (-6.13-4.36)	0.738	17.85 (3.89-31.81) 0.013*
	NS 4	0.00 (-0.001-0.001)	0.744	-0.12 (-1.13-0.89)	0.812	-0.73 (-6.14-4.67)	0.788	17.33 (2.51-32.16) 0.023*
	TS 5	4.14 _{E-5} (-0.001-0.001)	0.902	-0.41 (-1.15-0.32)	0.268	-2.61 (-6.56-1.35)	0.193	14.66 (4.58-24.74) 0.005
	TS 6	0.00 (0.000-0.001)	0.123	-0.78 (-1.49- -0.07)	0.032	-3.57 (-7.42-0.28)	0.069	4.23 (-6.25-14.70) 0.424
	NS 7	0.00 (0.000-0.001)	0.193	-0.65 (-1.36-0.05)	0.070	-3.25 (-7.07-0.57)	0.094	6.08 (-4.28-16.44) 0.246
	NS 8	-1.56 _{E-5} (-0.001-0.001)	0.971	-0.44 (-1.40-0.52)	0.361	-3.08 (-8.21-2.05)	0.235	18.93 (5.68-32.19) 0.006*
	TI 9	0.00 (0.000-0.001)	0.516	-0.88 (-1.69- -0.08)	0.032	-4.76 (-9.07- -0.44)	0.031	13.26 (1.75-24.77) 0.025*
	TI 10	0.00 (-0.001-0.001)	0.726	-0.46 (-1.21-0.28)	0.219	-1.49 (-5.51-2.54)	0.465	2.79 (-8.02-13.62) 0.608
	NI 11	0.00 (0.000-0.001)	0.705	-0.37 (-1.04-0.31)	0.285	-1.61 (-5.25-2.04)	0.384	4.06 (-5.70-13.82) 0.410
	NI 12	0.00 (-0.001-0.001)	0.480	-0.69 (-1.63-0.26)	0.150	-3.87 (-8.94-1.19)	0.132	13.53 (0.01-27.05) 0.050
	TI 13	0.00 (-0.001-0.001)	0.494	-1.04 (-2.05- -0.02)	0.045	-5.43 (-10.89-0.03)	0.051	20.42 (5.70-35.14) 0.007
	TI 14	0.00 (-0.001-0.001)	0.567	-0.81 (-1.70-0.08)	0.073	-4.65 (-9.42-0.11)	0.055	16.39 (3.68-29.10) 0.012*
	TI 15	3.81 _{E-5} (-0.001-0.001)	0.926	-0.75 (-1.65-0.14)	0.097	-4.38 (-9.17-0.41)	0.073	14.24 (1.37-27.12) 0.031*
	TI 16	0.00 (-0.001-0.001)	0.458	-0.70 (-1.65-0.25)	0.146	-3.43 (-8.54-1.69)	0.187	16.04 (2.23-29.85) 0.023*

BMO-MRW	ST	3.22 _{E-5} (-5.12 _{E-5} -11.6 _{E-5})	0.444	-0.07 (-0.16-0.02)	0.111	-0.42 (-0.92-0.07)	0.092	0.26 (-1.03-1.56)	0.688
	T	2.82 _{E-5} (-8.35 _{E-5} -14.1 _{E-5})	0.503	-0.02 (-0.14-0.11)	0.812	-0.14 (-0.81-0.54)	0.687	0.40 (-1.36-2.16)	0.651
	IT	3.16 _{E-5} (-5.08 _{E-5} -11.4 _{E-5})	0.448	0.01 (-0.08-0.10)	0.800	-0.01 (-0.51-0.49)	0.968	0.49 (-0.80-1.79)	0.448
	IN	2.4 _{E-5} (-4.84 _{E-5} -9.71 _{E-5})	0.006	0.02 (-0.06-0.10)	0.672	0.07 (-0.37-0.51)	0.756	0.80 (-0.32-1.92)	0.158
	N	4.04 _{E-5} (-3.06 _{E-5} -11.1 _{E-5})	0.261	-0.03 (-0.11-0.05)	0.425	-0.21 (-0.63-0.22)	0.336	0.99 (-0.09-2.07)	0.071
	SN	6.64 _{E-5} (-3.06-13.5 _{E-5})	0.056	-0.07 (-0.15-0.01)	0.073	-0.56 (-0.78-0.07)	0.099	0.76 (-0.37-1.89)	0.183
	Media	6.47 _{E-5} (-1.76 _{E-5} -15.7 _{E-5})	0.166	-0.5 (-0.16-0.06)	0.335	-0.21 (-0.79-0.36)	0.465	1.32 (-0.16-2.80)	0.080
CFNR	ST	-9.23 _{E-5} (-32.5 _{E-5} -14.1 _{E-5})	0.434	0.08 (-0.18-0.34)	0.561	0.49 (-0.90-1.88)	0.485	1.18 (-2.63-4.98)	0.539
	T	0.00 (-0.00-27.1 _{E-5})	0.505	0.32 (-0.12-0.78)	0.150	2.22 (-0.18-4.61)	0.069	-0.19 (-7.00-6.60)	0.954
	IT	7.68 _{E-5} (-10.7 _{E-5} -26.1 _{E-5})	0.408	-0.17 (-0.37-0.04)	0.108	-0.97 (-2.05-0.11)	0.076	3.77 (0.90-6.63)	0.011*
	IN	5.71 _{E-5} (-11.0 _{E-5} -22.5 _{E-5})	0.500	-0.15 (-0.33-0.04)	0.120	-1.02 (-2.00- -0.41)	0.041	3.38 (0.75-6.01)	0.013*
	N	5.08 _{E-5} (-23.7 _{E-5} -33.8 _{E-5})	0.726	-0.04 (-0.36-0.28)	0.813	-0.76 (-2.47-0.94)	0.337	6.81 (2.45-11.17)	0.003*
	SN	0.00 (-7.63 _{E-5} -31.5 _{E-5})	0.228	-0.10 (-0.32-0.12)	0.364	-0.71 (-1.87-0.46)	0.232	4.25 (0.96-7.54)	0.012*
	Media	8.97 _{E-5} (-29.6 _{E-5} -47.6 _{E-5})	0.645	-0.14 (-0.57-0.29)	0.517	-1.06 (-3.36-1.23)	0.361	8.91 (3.06-14.76)	0.003

Abreviaciones: A β , β -amiloide; BMO-MRW, apertura de la membrana de Bruch; CCGR, capa de células ganglionares de la retina; CFNR, capa de fibras nerviosas de la retina; I, inferior; N, nasal; pTau, Tau fosforilada; S, superior; T, temporal; tTau, Tau total.

El formato en negrita resalta los resultados con valores significativos (p < 0.05).

El asterisco resalta los resultados que continuaron siendo significativos después del test False Discovery rate.

5. Discusión

En este trabajo, analizamos la relación entre los parámetros de OCT de individuos procedentes de la comunidad con su perfil de biomarcadores core en LCR y con el volumen del hipocampo. Nuestros principales resultados muestran una asociación significativa de los niveles de los biomarcadores de Tau (pTau) y los de neurodegeneración (tTau y el volumen del hipocampo), con la reducción del grosor de la CCGR. En menor grado, detectamos una asociación de los niveles de tTau y el volumen del hipocampo con el grosor de la CFNR.

A pesar de la naturaleza exploratoria de nuestro estudio, la consistencia de los resultados es notable ya que todos los sectores de la CCGR correlacionados significativamente, mostraron el mismo patrón: niveles elevados de tTau o pTau en el LCR se asocian a un adelgazamiento de la CCGR. En relación al volumen del hipocampo, detectamos una correlación positiva: un mayor volumen de hipocampo se asoció con una CCGR más gruesa y viceversa. Encontramos el mismo patrón en el análisis de la CFNR. Después de ajustar utilizando el FDR, solo el volumen del hipocampo se asoció con el grosor de la CCGR y la CFNR.

El GC no mostró ninguna correlación significativa con los biomarcadores del LCR y las mediciones de la BMO-MRW se asociaron con los niveles de pTau y tTau en sectores aislados, pero no sobrevivieron al análisis multivariante. Ninguna de las mediciones de OCT se asoció con el biomarcador amiloide (ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ en LCR). Finalmente, no encontramos asociación entre la prueba de memoria episódica, FCSRT y los datos de la OCT, lo que es concordante con la hipótesis de que los cambios en la retina preceden a los problemas cognitivos.

5.1. Variables significativas de OCT en fase preclínica de la enfermedad de Alzheimer

En nuestro estudio comparamos los datos obtenidos en la OCT (CFNR, CCGR, GC y BMO-MRW) entre el grupo de individuos $A\beta_{42}/A\beta_{40}+$ versus $A\beta_{42}/A\beta_{40}-$, entre el grupo de individuos pTau+ versus pTau- y entre en el grupo tTau+ versus tTau- (Fig. 21). Ninguna medida de OCT discriminó significativamente entre individuos positivos y negativos para el ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$. Los hallazgos significativos más notorios fueron el adelgazamiento de la CCGR, de la CFNR y de la BMO-MRW en sujetos positivos para pTau y tTau. El GC no mostró ninguna correlación significativa con los biomarcadores del LCR. Estos hallazgos nos permitieron seleccionar los parámetros de OCT que evaluaríamos en el análisis multivariante, para buscar una posible correlación con estos biomarcadores core de LCR y el volumen del hipocampo.

Ningún estudio clínico previo había evaluado la patología $A\beta$, pTau y tTau, cada uno de forma independiente, con los parámetros de OCT. Los estudios similares que se han realizado hasta la fecha han estudiado las medidas de OCT en sujetos en la fase preclínica de la EA con resultados variables y poco concluyentes.

Los criterios para diagnosticar y clasificar a los pacientes fueron diferentes según si utilizaron PET- $A\beta$ ^{222,297,303,310,313,323,324}, RMN ^{299,300} o $A\beta$ y Tau en LCR ³²⁶, incluso hubo uno que no utilizó biomarcadores ³³⁷.

En cuanto a sus resultados, la mayoría no encontraron diferencias significativas entre sujetos $A\beta+$ y $A\beta-$ ^{299,300,310,313,323}. Un estudio mostró una reducción del GM ³³⁷, mientras que otro estudio mostró un engrosamiento del mismo ³²⁴. Santos et al. mostró una disminución del grosor medio de la CFNR a nivel macular y de la CPE y la CNI en

el sector I³¹⁰. Asanad et al. fue el único que encontró una reducción significativa de la CFNR en A β +³²⁶. Algunos de estos estudios, además, complementaron su investigación buscando una relación entre la OCT y los biomarcadores como veremos a continuación.

5.2. Vínculo de la OCT con los biomarcadores de Alzheimer

En el segundo análisis comparamos los niveles cuantitativos de A β , pTau y tTau y el volumen del hipocampo con los datos significativos de OCT obtenidos en el análisis univariante, para valorar una posible correlación entre ellos.

Ninguna de las variables de la OCT se asoció con los niveles de A β_{42} /A β_{40} , sugiriendo que el daño en la retina no sucede de forma tan precoz. Nuestros resultados muestran una relación significativa entre el adelgazamiento de la CCGR y niveles altos de pTau, niveles altos de tTau, y una reducción del volumen del hipocampo. Como se observa en la figura 22, el daño de las CGR se produce en la macula, en la zona temporal inferior, relacionado con pTau. El daño es un poco mayor en esa misma zona para niveles de tTau, mientras que se extiende a toda la periferia macular relacionado con el daño del hipocampo. La CFNR se asocia significativamente con los biomarcadores de neurodegeneración. Niveles altos de tTau se relacionan con el daño del sector IN de la CFNR, y la atrofia del hipocampo se relaciona con el daño del grosor medio de la CFNR y de los sectores IT, IN, N y SN. Los valores significativos de la BMO-MRW no sobrevivieron al análisis multivariante.

Dada la afectación predominante de la CCGR sobre la CFNR en nuestro grupo de sujetos en fase preclínica, sugerimos que existe un daño inicial en las neuronas antes que en sus axones, probablemente, por el depósito de A β o Tau en las CGR.

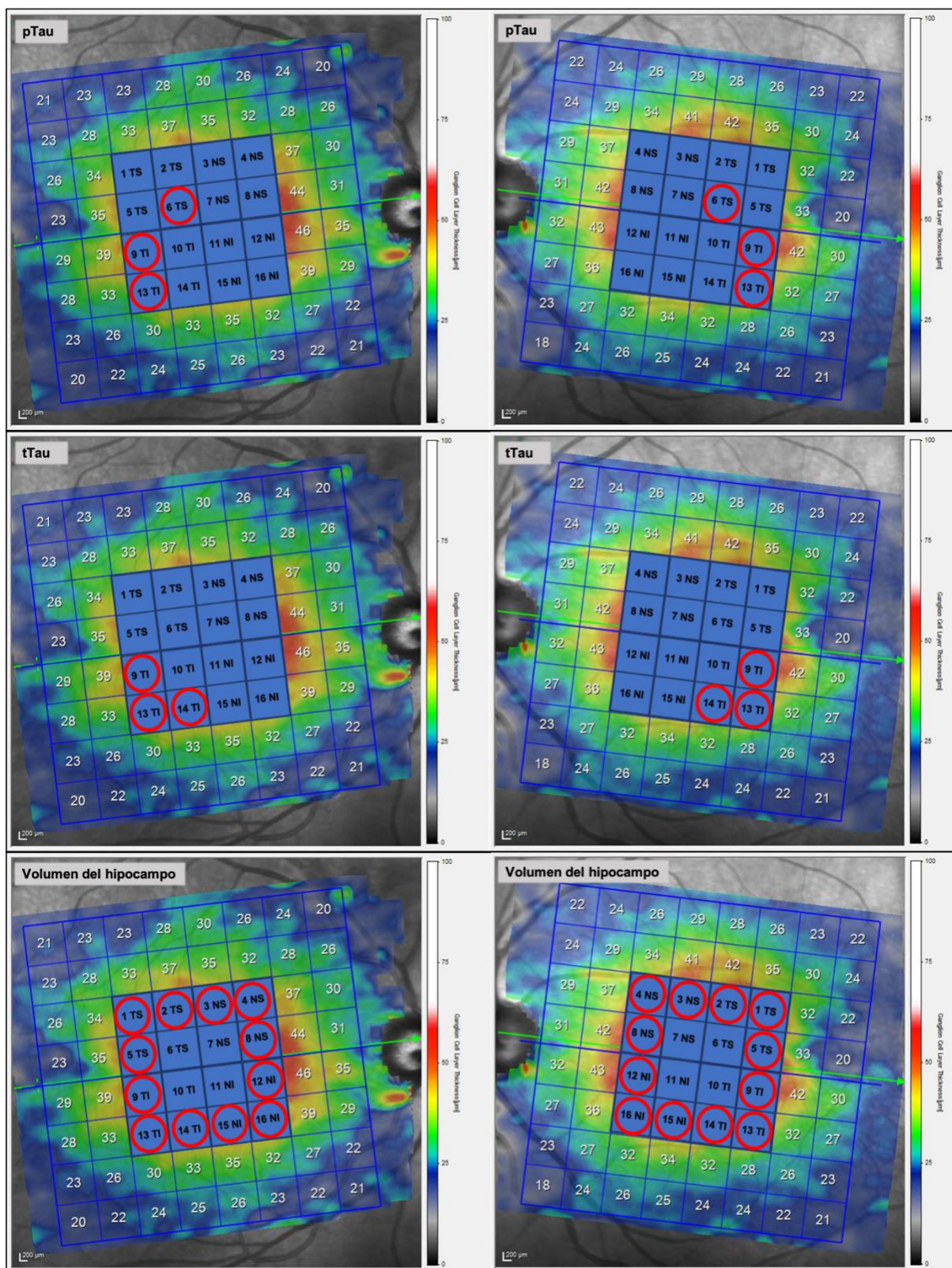


Figura 22. Representación del adelgazamiento de la capa de células ganglionares de la retina en relación con los niveles en líquido ceforraquídeo de pTau, tTau y el volumen del hipocampo. El análisis del polo posterior (PPA) de la tomografía de coherencia óptica

(OCT) divide la mácula en 16 sectores. Nuestros resultados muestran una relación significativa entre el adelgazamiento de la capa de células ganglionares de la retina (CCGR) y niveles altos de pTau, niveles altos de tTau, y una reducción del volumen del hipocampo. Las imágenes superiores, correspondientes al ojo derecho e izquierdo, muestran el daño de la CCGR (círculos rojos) relacionado con niveles altos de pTau. Las imágenes centrales muestran el daño de la CCGR relacionado con niveles altos de tTau; el daño es un poco más extenso respecto a la imagen superior. Por último, las imágenes inferiores muestran el daño de la CCGR relacionado con atrofia del hipocampo; el daño de la CCGR es más extenso que en las imágenes superiores y centrales, extendiéndose hacia la periferia de la mácula.

En relación con esto, un número limitado de estudios ha analizado el vínculo entre los biomarcadores de EA y las mediciones de OCT.

OCT versus biomarcadores de neurodegeneración

La mayor parte de los estudios compararon los parámetros de OCT con la RMN dada su mayor accesibilidad^{299,300,307,315,333,356,358–360}. Den Haan et al. ha realizado varias investigaciones sobre esto. En dos estudios en sujetos con EA y CS, mostraron que el GM se correlacionaba con la atrofia cortical parietal y global, pero no con la atrofia del lóbulo temporal medial en el total de pacientes³⁰⁷ ni con lesiones en la sustancia blanca³¹⁵. De acuerdo con nuestros resultados, Ong et al. sugirió específicamente que la CCGR y la CPI podrían ser mejores indicadores de neurodegeneración que la CFNR ya que sus resultados mostraron una asociación entre el adelgazamiento de la CG+CPI y un menor volumen de materia gris en el lóbulo occipital y temporal en una población heterogénea (CS, EA, DCL)³⁵⁸. Casaletto et al. demostraron una asociación entre la reducción de la CCGR y la CFNR con la atrofia del lóbulo temporal medial (LTM) en adultos mayores cognitivamente sanos. Destacaron que esta relación era exclusivamente con el LTM y no eran evidentes en otras regiones del cerebro

asociadas con el envejecimiento general o incluso en áreas afectadas en etapas posteriores de la EA. Esto sugiere una relación altamente específica entre la retina y los sistemas neuronales involucrados en la memoria pudiendo ser reflejo de un proceso temprano de la EA, dado que la degeneración del LTM es una característica distintiva de la EA típica y DCL por EA ³⁰⁰.

En resumen, de acuerdo con nuestros resultados, varios de estos estudios asociaron un menor volumen del LTM o del hipocampo con una la reducción de la CCGR ^{299,300} y de la CFNR ^{299,300,359,360}. Siguiendo esta línea de investigación, un análisis histológico en un modelo de ratón mostró que la degeneración de las dendritas de las CGR ocurre al mismo tiempo que la pérdida de las espinas dendríticas de las neuronas el hipocampo ⁴¹¹. Este daño del hipocampo es una característica clave de muchos modelos de EA ⁴¹².

OCT versus PET-A β

Varios estudios compararon el daño en la OCT con la acumulación de A β cortical definida por PET-A β ^{297,303,310,323,324}. Marquié et al. demostró que cada 1 μ m de aumento del GM en la región nasal retiniana confería mayor probabilidad de presentar un estado A β + Al igual que nosotros, sugirió que en la fase preclínica de la EA ya existen cambios en la retina, pero a diferencia de nuestro estudio, correlacionados con la captación cerebral de A β ³²⁴. Santos et al. encontraron únicamente adelgazamiento de la CFNR en los sujetos con EA preclínica en relación con los CS, y relacionaron este daño con una mayor acumulación de A β neocortical detectada por ¹⁸F-FBP PET ³¹⁰.

Dos estudios no encontraron una relación significativa entre el depósito de A β cerebral y la OCT ^{303,323}, a pesar de que Golzan et al. si mostró adelgazamiento de la CCGR en sujetos preclínicos A β + ^{303,323}.

Creemos que estas diferencias respecto a nuestro estudio puede deberse a que el tamaño de la muestra que incluyen es pequeña. Además, en nuestro estudio empleamos biomarcadores core de LCR conocidos por detectar patología amiloide cerebral antes que la PET ⁴¹³.

OCT versus A β y Tau en LCR

Asanad et al. desarrolló un estudio en sujetos cognitivamente sanos, divididos en 2 subgrupos definidos por sus biomarcadores en LCR: AT+(27) y AT-(16) según la clasificación AT(N) y evaluaron la patología retiniana (por OCT) en relación con A β y Tau en LCR ³²⁶. No encontraron cambios significativos en la CG+CPI entre grupos, pero si una reducción del grosor medio de la CFNR en AT+ sugiriendo, al contrario que nosotros, que el daño axonal precede al daño de las CGR. Su análisis revela una fuerte correlación entre A β ₄₂/Tau y la reducción de la CFNR, superando el rendimiento de estas proteínas individualmente. Aun así, el análisis por separado reveló que el grosor de la CFNR se asoció más a los niveles de tTau que de A β , al igual que nosotros. Esta relación observada entre los niveles de proteínas en LCR y la retina fue similar a la observada en el cerebro (A β en LCR está inversamente correlacionada con la carga de A β cerebral y Tau en LCR está directamente correlacionada) ³²⁶. En otro estudio, Querques et al. mostró una correlación positiva de la CCGR, el GM y la CPI con los niveles de A β en LCR, y, de forma similar a nosotros, una correlación

inversa de la CCGR y la CPI con los niveles de pTau en LCR en una muestra de pacientes heterogénea (EA, DCL, CS) ³¹².

El primer estudio es opuesto a nuestra hipótesis final, pero es interesante la asociación de la CFNR con Tau especialmente ³²⁶. Nuestros hallazgos muestran una asociación del grosor de la CCGR y, en menor medida, de la CFNR con los niveles de Tau en LCR. Estos hallazgos están respaldados por estudios recientes que ilustran el papel de la disfunción de Tau en la EA presintomática, por lo que la patología Tau de la retina puede preceder a la patología del cerebro y al deterioro cognitivo ²⁰⁴.

Otros estudios que han comparado la CFNR y la CCGR con A β y Tau en LCR, no encontraron una relación significativa ^{307,315,338}.

5.3. Progresión del daño retiniano en el continuo de la enfermedad de Alzheimer

El sistema AT(N), desarrollado recientemente por el NIA-AA, clasifica a los pacientes según los biomarcadores validados de la EA, independientemente de su estado cognitivo (tabla 1). Esta actualización ha redefinido la EA según los procesos patológicos subyacentes de la enfermedad ⁸⁵. Basándose en el razonamiento de que la EA es un continuo, esta clasificación define los cambios patológicos secuenciales comenzando con la deposición de A β seguida de patología Tau y, finalmente, neurodegeneración ⁹⁵.

De acuerdo con el modelo dinámico de biomarcadores. ⁹⁷, nuestros resultados muestran que el daño de las CGR es más extenso en aquellos individuos cuyo perfil de biomarcadores mostró un curso de enfermedad más avanzado. Como se aprecia en la figura 22, el daño de las CGR relacionado con pTau se localiza en el sector temporal inferior del área macular; este daño progresa relacionado con tTau, y la

alteración de la CCGR es mucho mayor relacionado con una mayor atrofia del hipocampo.

Respecto al adelgazamiento de la CFNR, se afecta el sector IN relacionado con tTau, y los sectores IN, N, SN e IT relacionados con el volumen del hipocampo. También se aprecia un daño de la CFNR que podemos considerar progresivo, menor adelgazamiento relacionado con Tau y este daño va aumentando relacionado con la atrofia del hipocampo. Dado que la CFNR no presenta cambios en relación a los niveles de pTau, según el modelo de aparición de los biomarcadores, consideramos que el daño de las CCGR puede preceder al daño axonal.

Esta teoría se ve respaldada por estudios histológicos que muestran el depósito A β de manera predominante en la CCGR, incluso en etapas preclínicas de la enfermedad ^{113,159,163–165}. La patología Tau retiniana es menos conocida, pero los estudios en modelos de ratón hasta fecha también demostraron mayor afectación de las capas internas de la retina (capas plexiformes, la CNI y la CCGR) ^{185,189}. Algunos estudios de OCT también apoyan esta teoría ^{288,312}

A pesar del diseño transversal de nuestro estudio, la correlación negativa entre el grosor del sector T periférico de la CCGR y los niveles de pTau en LCR, sugiere que es en este sector donde podríamos encontrar los primeros cambios degenerativos relacionados con la EA en la retina de individuos cognitivamente sanos.

Las CGR se encuentran distribuidas por toda la retina pero su gran mayoría se concentra en el área macular ¹¹⁹. La evidencia histológica muestra una mayor afectación de estas neuronas en la región media periférica y periférica de la retina en la EA ^{156,161,190}. Es difícil que los estudios de OCT reflejen este daño de la retina, dado que el análisis habitual de las CGR se realiza en el área macular en el polo posterior

(compuesta por un mayor porcentaje de CGR-P, que característicamente se afectan menos en la EA). Los primeros análisis histológicos de la retina central en sujetos con EA mostraron un daño difuso de la CCGR ¹⁵⁴ así como un adelgazamiento preferencial del sector T ¹⁵⁷. Un estudio reciente ha detectado que el daño de la retina temporal en periferia media mostraba una relación significativa con mayor número placas neuríticas cerebrales y con la AAC, lo que llevó a los autores a sugerir que esta podría ser la ubicación óptima para la detección ocular *in vivo* de la EA ¹⁹⁰. De acuerdo con estos estudios ¹⁵⁴, nuestros resultados muestran una afectación de la CCGR en el sector TI de la zona más periférica dentro de la mácula, que puede corresponderse o bien con el daño descrito en esta zona dentro de la mácula ¹⁵⁷, o bien puede estar relacionado con un potencial daño de las CGR de media periferia en el sector I ^{156,190}. Respecto a la CFNR, en nuestro estudio mostramos una afectación de los sectores IN, N, SN e IT, mostrando un posible daño de los axones de gran diámetro que confluyen en esos cuadrantes. Las razones por las que las CGR-M son más vulnerables en la EA aún se desconocen, pero podrían estar relacionadas con la diferente vulnerabilidad de las CGR al depósito de amiloide y Tau. De hecho, ya se ha demostrado la afectación preferencial de las CGRm en la EA, caracterizadas por un gran soma y dendritas ramificadas, de manera similar a CGR-M ¹⁵²

5.1. Limitaciones

Una posible limitación técnica de nuestro estudio es que el GC se midió manualmente después de la exploración con EDI-OCT, lo que nos proporcionó un análisis coroideo basado en mediciones subjetivas no automatizadas. Es una forma validada de medición y es ampliamente utilizada para estudiar el GC ³⁹⁸.

Por otro lado, el tamaño de la muestra es pequeño en comparación con la gran cantidad de parámetros medidos en la OCT, lo que podría aumentar la probabilidad de falsos positivos. Por este motivo, diseñamos el análisis estadístico en dos partes para minimizar el error tipo 1 y realizamos una corrección con el FDR debido a la cantidad de áreas analizadas. Además, creemos que la consistencia de las asociaciones entre la OCT con varios biomarcadores de significado similar, como tTau y el volumen del hipocampo, mejoró la fiabilidad de los resultados.

Desde nuestro punto de vista, este estudio refleja dos cosas importantes. Por un lado, se ha realizado en sujetos en fase preclínica de la EA. Esta etapa se ha convertido en objetivo clave de estudio para las intervenciones terapéuticas, por lo que es importante encontrar un biomarcador no invasivo capaz de identificar estos sujetos.

Y por otro lado, los voluntarios fueron clasificados con biomarcadores de LCR, que detectan los cambios patológicos de la EA antes que la PET ⁴¹³. Estudiamos primero si existía alguna alteración en los parámetros de OCT dividiendo nuestro grupo según su perfil de biomarcadores, y después realizamos un análisis cuantitativo entre OCT y biomarcadores con el objetivo de validar la OCT como un nuevo biomarcador de EA.

5.2. Conclusión

Nuestro principal hallazgo fue la asociación significativa entre el grosor de la CCGR, medido por OCT, con Tau y con los biomarcadores de neurodegeneración en individuos sin deterioro cognitivo. Según nuestros resultados, los sectores periféricos temporales de la mácula en la CCGR pueden representar las áreas con mayor potencial clínico para la detección temprana de la EA; sin embargo, esta hipótesis

requiere de estudios sucesivos en una población mayor para evaluar su utilidad clínica. Aunque el presente trabajo constituye la cohorte más grande hasta la fecha de individuos sin deterioro cognitivo evaluados con OCT y con biomarcadores validados de EA, nuestros resultados deben considerarse exploratorios. Se necesitan investigaciones futuras que incluyan muestras más grandes y analicen prospectivamente los cambios en el tiempo de los parámetros que nos aporta la OCT, y así optimizar la utilidad diagnóstica de esta modalidad de imagen retiniana para el diagnóstico de EA preclínica.

Conclusiones

1. La capa de fibras nerviosas de la retina sufre un daño en los pacientes con enfermedad de Alzheimer, de forma preferencial en el sector temporal superior e inferior en etapa de demencia y en el sector temporal superior en etapa de deterioro cognitivo leve.

2. Se aprecia una reducción del grosor de la capa de células ganglionares de la retina lineal en el tiempo, siendo mayor cuanto más avanzado es el deterioro cognitivo de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. Los pacientes en fase de demencia presentan un daño generalizado de las neuronas de dicha capa retiniana.

3. Detectamos una tendencia lineal de adelgazamiento del grosor coroideo en los pacientes con deterioro cognitivo leve, que se acentúa en los pacientes con demencia. El grosor coroideo medido a 1000 μ m inferior a la fovea constituyó el valor mas sensible y específico para detectar cambios entre sujetos en fase de demencia por enfermedad de Alzheimer y controles sanos.

4. La afectación de la capa de células ganglionares y la capa de fibras nerviosas de la retina precede al daño cognitivo en la enfermedad de Alzheimer.

5. Los sectores periféricos temporales de la capa de células ganglionares en la mácula pueden representar el área de la retina con mayor potencial clínico para la detección temprana de la enfermedad de Alzheimer.

6. Existe una relación entre el grosor de la capa de células ganglionares de la retina y en menor medida, entre el grosor de la CFNR, y la patología Tau y los biomarcadores de neurodegeneración de la enfermedad de Alzheimer.

Bibliografía

1. Villemagne VL, Chételat G. Neuroimaging biomarkers in Alzheimer's disease and other dementias. *Ageing Research Reviews*. 2016;30:4-16. doi:10.1016/j.arr.2016.01.004
2. Masters CL, Multhaup G, Simms G, J Pottgiesser, Martins RN, Beyreuther K. Neuronal origin of a cerebral amyloid: neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease contain the same protein as the amyloid of plaque cores and blood vessels. *EMBOJ*. 1985;4(11):2757-63.
3. Microtubule-associated protein tau. A component of Alzheimer paired helical filaments. *J Biol Chem* . 1986;261(13):6084-9.
4. DeSimone C v., Graff-Radford J, El-Harasis MA, Rabinstein AA, Asirvatham SJ, Holmes DR. Cerebral Amyloid Angiopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2017;70(9):1173-1182. doi:10.1016/j.jacc.2017.07.724
5. Vinters H v. Cerebral amyloid angiopathy. A critical review. *Stroke*. 1987;18(2):311-324. doi:10.1161/01.STR.18.2.311
6. Gravina SA, Ho L, Eckman CB, et al. Amyloid β Protein ($A\beta$) in Alzheimer's Disease Brain. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270(13):7013-7016. doi:10.1074/jbc.270.13.7013
7. Roher AE, Lowenson JD, Clarke S, et al. beta-Amyloid-(1-42) is a major component of cerebrovascular amyloid deposits: implications for the pathology of Alzheimer disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(22):10836-10840. doi:10.1073/pnas.90.22.10836
8. Johnson KA, Gregas M, Becker JA, et al. Imaging of amyloid burden and distribution in cerebral amyloid angiopathy. *Annals of Neurology*. 2007;62(3):229-234. doi:10.1002/ana.21164
9. Hardy J. Amyloid, the presenilins and Alzheimer's disease. *Trends in Neurosciences*. 1997;20(4):154-159. doi:10.1016/S0166-2236(96)01030-2
10. Poirier J, Bertrand P, Poirier J, et al. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *The Lancet*. 1993;342(8873):697-699. doi:10.1016/0140-6736(93)91705-Q
11. POIRIER J. Apolipoprotein E and Alzheimer's Disease A Role in Amyloid Catabolism. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;924(1):81-90. doi:10.1111/j.1749-6632.2000.tb05564.x
12. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, et al. Gene Dose of Apolipoprotein E Type 4 Allele and the Risk of Alzheimer's Disease in Late Onset Families. *Science (1979)*. 1993;261(5123):921-923. doi:10.1126/science.8346443
13. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2011;7(3):280-292. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.003

14. Toledo JB, Vanderstichele H, Figurski M, et al. Factors affecting A β plasma levels and their utility as biomarkers in ADNI. *Acta Neuropathologica*. 2011;122(4):401. doi:10.1007/s00401-011-0861-8
15. Blennow K, Dubois B, Fagan AM, Lewczuk P, Leon MJ, Hampel H. Clinical utility of cerebrospinal fluid biomarkers in the diagnosis of early Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2015;11(1):58-69. doi:10.1016/j.jalz.2014.02.004
16. Sperling RA, Karlawish J, Johnson KA. Preclinical Alzheimer disease—the challenges ahead. *Nature Reviews Neurology*. 2013;9(1):54-58. doi:10.1038/nrneurol.2012.241
17. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2020;16(3). doi:10.1002/alz.12068
18. Wortmann M. Dementia: a global health priority - highlights from an ADI and World Health Organization report. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2012;4(5). doi:10.1186/alzrt143
19. Goedert M, Spillantini MG. A Century of Alzheimer's Disease. *Science* (1979). 2006;314(5800). doi:10.1126/science.1132814
20. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*. 2019;15(3):321-387. doi:10.1016/j.jalz.2019.01.010
21. Martínez-Lage P, Martín-Carrasco M, Arrieta E, Rodrigo J, Formiga F. Mapa de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias en España. Proyecto MapEA. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*. 2018;53(1):26-37. doi:10.1016/j.regg.2017.07.006
22. *World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia*.; 2016. Accessed February 1, 2021. <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2015>
23. 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*. 1984;34(7). doi:10.1212/WNL.34.7.939
24. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, 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. *Alzheimer's & Dementia*. 2011;7(3):263-269. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005
25. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, 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 & Dementia*. 2011;7(3):270-279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008
26. Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TLS, et al. Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(9):795-804. doi:10.1056/NEJMoa1202753

27. Petersen RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine*. 2004;256(3):183-194. doi:10.1111/j.1365-2796.2004.01388.x
28. Petersen RC, Morris JC. Mild Cognitive Impairment as a Clinical Entity and Treatment Target. *Archives of Neurology*. 2005;62(7):1160. doi:10.1001/archneur.62.7.1160
29. Petersen RC, Lopez O, Armstrong MJ, et al. Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment. *Neurology*. 2018;90(3):126-135. doi:10.1212/WNL.0000000000004826
30. Mitchell AJ, Shiri-Feshki M. Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia - meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2009;119(4):252-265. doi:10.1111/j.1600-0447.2008.01326.x
31. Petersen RC, Smith GE, Waring SC, Ivnik RJ, Tangalos EG, Kokmen E. Mild Cognitive Impairment. *Archives of Neurology*. 1999;56(3):303. doi:10.1001/archneur.56.3.303
32. Vos SJB, Verhey F, Frölich L, et al. Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain*. 2015;138(5):1327-1338. doi:10.1093/brain/awv029
33. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*. 1991;82(4):239-259. doi:10.1007/BF00308809
34. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Neurology*. 2016;15(7). doi:10.1016/S1474-4422(16)00070-3
35. Herukka SK, Simonsen AH, Andreasen N, et al. Recommendations for cerebrospinal fluid Alzheimer's disease biomarkers in the diagnostic evaluation of mild cognitive impairment. *Alzheimer's & Dementia*. 2017;13(3):285-295. doi:10.1016/j.jalz.2016.09.009
36. Cedazo-Minguez A, Winblad B. Biomarkers for Alzheimer's disease and other forms of dementia: Clinical needs, limitations and future aspects. *Experimental Gerontology*. 2010;45(1):5-14. doi:10.1016/j.exger.2009.09.008
37. Chételat G, Arbizu J, Barthel H, et al. Amyloid-PET and 18F-FDG-PET in the diagnostic investigation of Alzheimer's disease and other dementias. *The Lancet Neurology*. 2020;19(11):951-962. doi:10.1016/S1474-4422(20)30314-8
38. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Annals of Neurology*. 2004;55(3):306-319. doi:10.1002/ana.20009
39. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*. 2009;8(7). doi:10.1016/S1474-4422(09)70139-5

40. Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM. Cerebrospinal Fluid tau/ β -Amyloid42 Ratio as a Prediction of Cognitive Decline in Nondemented Older Adults. *Archives of Neurology*. 2007;64(3). doi:10.1001/archneur.64.3.noc60123
41. Mattsson N, Henrik Z, Hansson O, et al. CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment. *JAMA*. 2009;302(4). doi:10.1001/jama.2009.1064
42. Buerger K, Ewers M, Pirttila T, et al. CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain*. 2006;129(11). doi:10.1093/brain/awl269
43. Xia C, Makaretz SJ, Caso C, et al. Association of In Vivo [18 F]AV-1451 Tau PET Imaging Results With Cortical Atrophy and Symptoms in Typical and Atypical Alzheimer Disease. *JAMA Neurology*. 2017;74(4):427. doi:10.1001/jamaneurol.2016.5755
44. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *The Lancet Neurology*. 2010;9(11):1118-1127. doi:10.1016/S1474-4422(10)70223-4
45. Khan TK, Alkon DL. Alzheimer's Disease Cerebrospinal Fluid and Neuroimaging Biomarkers: Diagnostic Accuracy and Relationship to Drug Efficacy. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;46(4):817-836. doi:10.3233/JAD-150238
46. Hampel H, Bürger K, Teipel SJ, Bokde ALW, Zetterberg H, Blennow K. Core candidate neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2008;4(1):38-48. doi:10.1016/j.jalz.2007.08.006
47. Blennow K, Hampel H, Weiner M, Zetterberg H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nature Reviews Neurology*. 2010;6(3). doi:10.1038/nrneurol.2010.4
48. Visser PJ, Verhey F, Knol DL, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*. 2009;8(7):619-627. doi:10.1016/S1474-4422(09)70139-5
49. Bouwman FH, Schoonenboom NSM, Verwey NA, et al. CSF biomarker levels in early and late onset Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2009;30(12):1895-1901. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2008.02.007
50. Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM. Cerebrospinal Fluid tau/ β -Amyloid42 Ratio as a Prediction of Cognitive Decline in Nondemented Older Adults. *Archives of Neurology*. 2007;64(3):343. doi:10.1001/archneur.64.3.noc60123
51. Rösler N, Wichart I, Jellinger KA. Clinical significance of neurobiochemical profiles in the lumbar cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Journal of Neural Transmission*. 2001;108(2):231-246. doi:10.1007/s007020170091

52. Fagan AM, Mintun MA, Mach RH, et al. Inverse relation between in vivo amyloid imaging load and cerebrospinal fluid A β 42 in humans. *Annals of Neurology*. 2006;59(3):512-519. doi:10.1002/ana.20730
53. Ost M, Nylen K, Csajbok L, et al. Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury. *Neurology*. 2006;67(9):1600-1604. doi:10.1212/01.wnl.0000242732.06714.0f
54. Hesse C, Rosengren L, Andreasen N, et al. Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neuroscience Letters*. 2001;297(3):187-190. doi:10.1016/S0304-3940(00)01697-9
55. Shaw LM, Vanderstichele H, Knapik-Czajka M, et al. Cerebrospinal fluid biomarker signature in Alzheimer's disease neuroimaging initiative subjects. *Annals of Neurology*. 2009;65(4). doi:10.1002/ana.21610
56. Buerger K, Teipel SJ, Zinkowski R, et al. CSF tau protein phosphorylated at threonine 231 correlates with cognitive decline in MCI subjects. *Neurology*. 2002;59(4):627-629. doi:10.1212/WNL.59.4.627
57. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Annals of Neurology*. 2004;55(3):306-319. doi:10.1002/ana.20009
58. Pike KE, Savage G, Villemagne VL, et al. B-amyloid imaging and memory in non-demented individuals: evidence for preclinical Alzheimer's disease. *Brain*. 2007;130(11):2837-2844. doi:10.1093/brain/awm238
59. Herholz K, Ebmeier K. Clinical amyloid imaging in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*. 2011;10(7):667-670. doi:10.1016/S1474-4422(11)70123-5
60. Kang S, Jeong H, Baek JH, et al. PiB-PET Imaging-Based Serum Proteome Profiles Predict Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2016;53(4):1563-1576. doi:10.3233/JAD-160025
61. Ma Y, Zhang S, Li J, et al. Predictive Accuracy of Amyloid Imaging for Progression From Mild Cognitive Impairment to Alzheimer Disease With Different Lengths of Follow-up. *Medicine*. 2014;93(27):e150. doi:10.1097/MD.0000000000000150
62. Bacskai BJ, Frosch MP, Freeman SH, et al. Molecular Imaging With Pittsburgh Compound B Confirmed at Autopsy. *Archives of Neurology*. 2007;64(3):431. doi:10.1001/archneur.64.3.431
63. Craig-Schapiro R, Fagan AM, Holtzman DM. Biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Disease*. 2009;35(2):128-140. doi:10.1016/j.nbd.2008.10.003
64. Villemagne VL, Rowe CC, Macfarlane S, Novakovic KE, Masters CL. Imaginem oblivionis: the prospects of neuroimaging for early detection of Alzheimer's disease. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2005;12(3):221-230. doi:10.1016/j.jocn.2004.03.011

65. Murray ME, Graff-Radford NR, Ross OA, Petersen RC, Duara R, Dickson DW. Neuropathologically defined subtypes of Alzheimer's disease with distinct clinical characteristics: a retrospective study. *The Lancet Neurology*. 2011;10(9):785-796. doi:10.1016/S1474-4422(11)70156-9
66. Mitchell TW, Mufson EJ, Schneider JA, et al. Parahippocampal tau pathology in healthy aging, mild cognitive impairment, and early Alzheimer's disease. *Annals of Neurology*. 2002;51(2):182-189. doi:10.1002/ana.10086
67. Schöll M, Lockhart SN, Schonhaut DR, et al. PET Imaging of Tau Deposition in the Aging Human Brain. *Neuron*. 2016;89(5):971-982. doi:10.1016/j.neuron.2016.01.028
68. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*. 1991;82(4):239-259. doi:10.1007/BF00308809
69. Silverberg NB, Ryan LM, Carrillo MC, et al. Assessment of cognition in early dementia. *Alzheimer's & Dementia*. 2011;7(3). doi:10.1016/j.jalz.2011.05.001
70. Vogel JW, Young AL, Oxtoby NP, et al. Four distinct trajectories of tau deposition identified in Alzheimer's disease. *Nature Medicine*. 2021;27(5):871-881. doi:10.1038/s41591-021-01309-6
71. Dickerson BC, Bakkour A, Salat DH, et al. The Cortical Signature of Alzheimer's Disease: Regionally Specific Cortical Thinning Relates to Symptom Severity in Very Mild to Mild AD Dementia and is Detectable in Asymptomatic Amyloid-Positive Individuals. *Cerebral Cortex*. 2009;19(3):497-510. doi:10.1093/cercor/bhn113
72. Braak H, Braak E. Neuropathological stageing of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathologica*. 1991;82(4):239-259. doi:10.1007/BF00308809
73. Wahlund LO, Almkvist O, Blennow K, et al. Evidence-based Evaluation of Magnetic Resonance Imaging as a Diagnostic Tool in Dementia Workup. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*. 2005;16(6):427-437. doi:10.1097/01.rmr.0000245463.36148.12
74. Kantarci K, Avula R, Senjem ML, et al. Dementia with Lewy bodies and Alzheimer disease: Neurodegenerative patterns characterized by DTI. *Neurology*. 2010;74(22):1814-1821. doi:10.1212/WNL.0b013e3181e0f7cf
75. Whitwell JL, Dickson DW, Murray ME, et al. Neuroimaging correlates of pathologically defined subtypes of Alzheimer's disease: a case-control study. *The Lancet Neurology*. 2012;11(10):868-877. doi:10.1016/S1474-4422(12)70200-4
76. McEvoy LK, Holland D, Hagler DJ, Fennema-Notestine C, Brewer JB, Dale AM. Mild Cognitive Impairment: Baseline and Longitudinal Structural MR Imaging Measures Improve Predictive Prognosis. *Radiology*. 2011;259(3):834-843. doi:10.1148/radiol.11101975
77. Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature*. 2009;461(7266). doi:10.1038/nature08538

78. Koronyo Y, Salumbides BC, Black KL, Koronyo-Hamaoui M. Alzheimer's Disease in the Retina: Imaging Retinal A β Plaques for Early Diagnosis and Therapy Assessment. *Neurodegenerative Diseases*. 2012;10(1-4):285-293. doi:10.1159/000335154
79. Baldacci F, Mazzucchi S, della Vecchia A, et al. The path to biomarker-based diagnostic criteria for the spectrum of neurodegenerative diseases. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2020;20(4):421-441. doi:10.1080/14737159.2020.1731306
80. Hampel H, Toschi N, Babiloni C, et al. Revolution of Alzheimer Precision Neurology. Passageway of Systems Biology and Neurophysiology¹. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;64(s1):S47-S105. doi:10.3233/JAD-179932
81. Johnson KA, Fox NC, Sperling RA, Klunk WE. Brain Imaging in Alzheimer Disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2012;2(4):a006213-a006213. doi:10.1101/cshperspect.a006213
82. Lockhart A, Lamb JR, Osredkar T, et al. PIB is a non-specific imaging marker of amyloid-beta (A) peptide-related cerebral amyloidosis. *Brain*. 2007;130(10):2607-2615. doi:10.1093/brain/awm191
83. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, 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. *Alzheimer's & Dementia*. 2011;7(3). doi:10.1016/j.jalz.2011.03.005
84. Albert MS, DeKosky ST, Dickson D, 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 & Dementia*. 2011;7(3):270-279. doi:10.1016/j.jalz.2011.03.008
85. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2018;14(4). doi:10.1016/j.jalz.2018.02.018
86. Monsell SE, Mock C, Hassenstab J, et al. Neuropsychological changes in asymptomatic persons with Alzheimer disease neuropathology. *Neurology*. 2014;83(5):434-440. doi:10.1212/WNL.0000000000000650
87. Wilson RS, Leurgans SE, Boyle PA, Schneider JA, Bennett DA. Neurodegenerative basis of age-related cognitive decline. *Neurology*. 2010;75(12):1070-1078. doi:10.1212/WNL.0b013e3181f39adc
88. Resnick SM, Sojkova J, Zhou Y, et al. Longitudinal cognitive decline is associated with fibrillar amyloid-beta measured by [11C]PiB. *Neurology*. 2010;74(10):807-815. doi:10.1212/WNL.0b013e3181d3e3e9
89. Fagan AM, Xiong C, Jasielec MS, et al. Longitudinal Change in CSF Biomarkers in Autosomal-Dominant Alzheimer's Disease. *Science Translational Medicine*. 2014;6(226). doi:10.1126/scitranslmed.3007901

90. Villemagne VL, Pike KE, Chételat G, et al. Longitudinal assessment of A   and cognition in aging and Alzheimer disease. *Annals of Neurology*. 2011;69(1):181-192. doi:10.1002/ana.22248
91. Villemagne VL, Burnham S, Bourgeat P, et al. Amyloid    deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *The Lancet Neurology*. 2013;12(4):357-367. doi:10.1016/S1474-4422(13)70044-9
92. Fleisher AS, Chen K, Quiroz YT, et al. Associations Between Biomarkers and Age in the Presenilin 1 E280A Autosomal Dominant Alzheimer Disease Kindred. *JAMA Neurology*. 2015;72(3):316. doi:10.1001/jamaneurol.2014.3314
93. Benzinger TLS, Blazey T, Jack CR, et al. Regional variability of imaging biomarkers in autosomal dominant Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013;110(47):E4502-E4509. doi:10.1073/pnas.1317918110
94. Bateman RJ, Xiong C, Benzinger TLS, et al. Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*. 2012;367(9):795-804. doi:10.1056/NEJMoa1202753
95. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, et al. A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. 2016;87(5):539-547. doi:10.1212/WNL.00000000000002923
96. Chen MK, Mecca AP, Naganawa M, et al. Assessing Synaptic Density in Alzheimer Disease With Synaptic Vesicle Glycoprotein 2A Positron Emission Tomographic Imaging. *JAMA Neurology*. 2018;75(10):1215. doi:10.1001/jamaneurol.2018.1836
97. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *The Lancet Neurology*. 2013;12(2):207-216. doi:10.1016/S1474-4422(12)70291-0
98. Hardy J, Selkoe DJ. The Amyloid Hypothesis of Alzheimer's Disease: Progress and Problems on the Road to Therapeutics. *Science (1979)*. 2002;297(5580):353-356. doi:10.1126/science.1072994
99. Small SA, Duff K. Linking A   and Tau in Late-Onset Alzheimer's Disease: A Dual Pathway Hypothesis. *Neuron*. 2008;60(4):534-542. doi:10.1016/j.neuron.2008.11.007
100. Braak H, del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathologica*. 2011;121(2):171-181. doi:10.1007/s00401-010-0789-4
101. Braak H, Braak E. Frequency of Stages of Alzheimer-Related Lesions in Different Age Categories. *Neurobiology of Aging*. 1997;18(4):351-357. doi:10.1016/S0197-4580(97)00056-0
102. Yu JT, Xu W, Tan CC, et al. Evidence-based prevention of Alzheimer's disease: systematic review and meta-analysis of 243 observational prospective studies and 153

- randomised controlled trials. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*. 2020;91(11):1201-1209. doi:10.1136/jnnp-2019-321913
103. Sanchez-Juan P, Ghosh PM, Hagen J, et al. Practical utility of amyloid and FDG-PET in an academic dementia center. *Neurology*. 2014;82(3):230-238. doi:10.1212/WNL.0000000000000032
 104. Lage C, Suarez AG, Pozueta A, et al. Utility of Amyloid and FDG-PET in Clinical Practice: Differences Between Secondary and Tertiary Care Memory Units. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;63(3):1025-1033. doi:10.3233/JAD-170985
 105. Tu P, Fu H, Cui M. Compounds for imaging amyloid- β deposits in an Alzheimer's brain: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 2015;25(4). doi:10.1517/13543776.2015.1007953
 106. Erskine L, Herrera E. Connecting the Retina to the Brain. *ASN Neuro*. 2014;6(6):175909141456210. doi:10.1177/1759091414562107
 107. Nguyen-Ba-Charvet KT, Chédotal A. Development of retinal layers. *Comptes Rendus Biologies*. 2014;337(3):153-159. doi:10.1016/j.crv.2013.11.010
 108. Miesfeld JB, Brown NL. Eye organogenesis: A hierarchical view of ocular development. In: ; 2019:351-393. doi:10.1016/bs.ctdb.2018.12.008
 109. Tian N. Visual experience and maturation of retinal synaptic pathways. *Vision Research*. 2004;44(28):3307-3316. doi:10.1016/j.visres.2004.07.041
 110. Salesse C. Physiologie du signal visuel rétinien : de la phototransduction jusqu'au cycle visuel. *Journal Français d'Ophthalmologie*. 2017;40(3):239-250. doi:10.1016/j.jfo.2016.12.006
 111. Rebolleda G, Pérez-Sarriegui A, Díez-Álvarez L, de Juan V, Muñoz-Negrete FJ. Lamina cribrosa position and Bruch's membrane opening differences between anterior ischemic optic neuropathy and open-angle glaucoma. *European Journal of Ophthalmology*. 2019;29(2):202-209. doi:10.1177/1120672118782101
 112. Downs JC. Optic nerve head biomechanics in aging and disease. *Experimental Eye Research*. 2015;133:19-29. doi:10.1016/j.exer.2015.02.011
 113. Allingham RR, Moroi S, Shields MB, Damji K. *Shields' Textbook of Glaucoma*. 7th ed. (WOLTERS KLUWER HEALTH, ed.); 2020.
 114. Freund KB, Sarraf D, Mieler WF, Yannuzzi LA. *The Retinal Atlas*. 2nd ed. (Elsevier, ed.); 2016.
 115. Schachat AP, Wilkinson CP, Hinton DR, Wiedemann P. *Ryan's Retina* . Vol 3. 6th ed. (Elsevier, ed.); 2017.

116. Hoon M, Okawa H, della Santina L, Wong ROL. Functional architecture of the retina: Development and disease. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2014;42:44-84. doi:10.1016/j.preteyeres.2014.06.003
117. Behar-Cohen F, Gelizé E, Jonet L, Lassiaz P. Anatomie de la rétine. *médecine/sciences*. 2020;36(6-7):594-599. doi:10.1051/medsci/2020094
118. Mead B, Tomarev S. Evaluating retinal ganglion cell loss and dysfunction. *Experimental Eye Research*. 2016;151:96-106. doi:10.1016/j.exer.2016.08.006
119. Sanes JR, Masland RH. The Types of Retinal Ganglion Cells: Current Status and Implications for Neuronal Classification. *Annual Review of Neuroscience*. 2015;38(1):221-246. doi:10.1146/annurev-neuro-071714-034120
120. Kolb H, Dekorver L. Midget ganglion cells of the parafovea of the human retina: A Study by electron microscopy and serial section reconstructions. *The Journal of Comparative Neurology*. 1991;303(4):617-636. doi:10.1002/cne.903030408
121. Silveira LCL, Saito CA, Lee BB, et al. Morphology and physiology of primate M- and P-cells. In: ; 2004:21-46. doi:10.1016/S0079-6123(03)14402-0
122. Kolb H, Fernandez E, Nelson R. Webvision: The Organization of the Retina and Visual System. University of Utah Health Sciences Center .
123. Perge JA, Niven JE, Mugnaini E, Balasubramanian V, Sterling P. Why Do Axons Differ in Caliber? *Journal of Neuroscience*. 2012;32(2):626-638. doi:10.1523/JNEUROSCI.4254-11.2012
124. HOYT WF. The Course of Parapapillary Temporal Retinal Axons Through the Anterior Optic Nerve. *Archives of Ophthalmology*. 1963;69(4):503. doi:10.1001/archopht.1963.00960040509014
125. la Morgia C, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, Carelli V. Retinal Ganglion Cells and Circadian Rhythms in Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, and Beyond. *Frontiers in Neurology*. 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00162
126. Mendoza-Santiesteban CE, Palma JA, Martinez J, Norcliffe-Kaufmann L, Hedges TR, Kaufmann H. Progressive retinal structure abnormalities in multiple system atrophy. *Movement Disorders*. 2015;30(14):1944-1953. doi:10.1002/mds.26360
127. Mendoza-Santiesteban CE, Gabilondo I, Palma JA, Norcliffe-Kaufmann L, Kaufmann H. The Retina in Multiple System Atrophy: Systematic Review and Meta-Analysis. *Frontiers in Neurology*. 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00206
128. Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Chronic Human Glaucoma Causing Selectively Greater Loss of Large Optic Nerve Fibers. *Ophthalmology*. 1988;95(3):357-363. doi:10.1016/S0161-6420(88)33176-3

129. Evangelou N. Size-selective neuronal changes in the anterior optic pathways suggest a differential susceptibility to injury in multiple sclerosis. *Brain*. 2001;124(9):1813-1820. doi:10.1093/brain/124.9.1813
130. Birkeldh U, Manouchehrinia A, Hietala MA, et al. The Temporal Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Is the Most Important Optical Coherence Tomography Estimate in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Neurology*. 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00675
131. Carelli V, Ross-Cisneros FN, Sadun AA. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2004;23(1):53-89. doi:10.1016/j.preteyeres.2003.10.003
132. Yu-Wai-Man P, Griffiths PG, Chinnery PF. Mitochondrial optic neuropathies – Disease mechanisms and therapeutic strategies. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2011;30(2):81-114. doi:10.1016/j.preteyeres.2010.11.002
133. Nickla DL, Wallman J. The multifunctional choroid. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2010;29(2):144-168. doi:10.1016/j.preteyeres.2009.12.002
134. BILL A. Intraocular Pressure and Blood Flow Through the Uvea. *Archives of Ophthalmology*. 1962;67(3):336-348. doi:10.1001/archophth.1962.00960020338010
135. Usui S, Ikuno Y, Akiba M, et al. Circadian Changes in Subfoveal Choroidal Thickness and the Relationship with Circulatory Factors in Healthy Subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012;53(4):2300. doi:10.1167/iovs.11-8383
136. Nickla DL, Wallman J. The multifunctional choroid. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2010;29(2). doi:10.1016/j.preteyeres.2009.12.002
137. Spaide RF, Koizumi H, Pozonni MC. Enhanced Depth Imaging Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *American Journal of Ophthalmology*. 2008;146(4). doi:10.1016/j.ajo.2008.05.032
138. Alber J, Goldfarb D, Thompson LI, et al. Developing retinal biomarkers for the earliest stages of Alzheimer's disease: What we know, what we don't, and how to move forward. *Alzheimer's & Dementia*. 2020;16(1):229-243. doi:10.1002/alz.12006
139. Chan VTT, Sun Z, Tang S, et al. Spectral-Domain OCT Measurements in Alzheimer's Disease: a systematic review and meta- analysis. *Ophthalmology*. 2019;126(4):497-510. doi:10.1016/j.ophtha.2018.08.009
140. Li L, Luo J, Chen D, et al. BACE1 in the retina: a sensitive biomarker for monitoring early pathological changes in Alzheimer's disease. *Neural Regeneration Research*. 2016;11(3):447. doi:10.4103/1673-5374.179057
141. Vecino E, Rodriguez FD, Ruzafa N, Pereiro X, Sharma SC. Glia–neuron interactions in the mammalian retina. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2016;51:1-40. doi:10.1016/j.preteyeres.2015.06.003

142. Trost A, Lange S, Schroedl F, et al. Brain and Retinal Pericytes: Origin, Function and Role. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016;10. doi:10.3389/fncel.2016.00020
143. Cai J, Qi X, Kociok N, et al. β -Secretase (BACE1) inhibition causes retinal pathology by vascular dysregulation and accumulation of age pigment. *EMBO Molecular Medicine*. 2012;4(9):980-991. doi:10.1002/emmm.201101084
144. Maude RJ, Dondorp AM, Sayeed AA, Day NPJ, White NJ, Beare NAV. The eye in cerebral malaria: what can it teach us? *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2009;103(7):661-664. doi:10.1016/j.trstmh.2008.11.003
145. Byerly MS, Blackshaw S. Vertebrate retina and hypothalamus development. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*. 2009;1(3):380-389. doi:10.1002/wsbm.22
146. Morin PJ, Abraham CR, Amaratunga A, et al. Amyloid Precursor Protein Is Synthesized by Retinal Ganglion Cells, Rapidly Transported to the Optic Nerve Plasma Membrane and Nerve Terminals, and Metabolized. *Journal of Neurochemistry*. 2006;61(2):464-473. doi:10.1111/j.1471-4159.1993.tb02147.x
147. 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. *Journal of Anatomy*. 2005;206(4):319-348. doi:10.1111/j.1469-7580.2005.00395.x
148. Cheung CY, Iqbal MK, Chen C, Wong TY. Imaging retina to study dementia and stroke. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2017;57:89-107. doi:10.1016/j.preteyeres.2017.01.001
149. 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. *Journal of Anatomy*. 2005;206(4):319-348. doi:10.1111/j.1469-7580.2005.00395.x
150. Trost A, Lange S, Schroedl F, et al. Brain and Retinal Pericytes: Origin, Function and Role. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016;10. doi:10.3389/fncel.2016.00020
151. Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-Nerve Degeneration in Alzheimer's Disease. *New England Journal of Medicine*. 1986;315(8):485-487. doi:10.1056/NEJM198608213150804
152. la Morgia C, Ross-Cisneros FN, Koronyo Y, et al. Melanopsin Retinal Ganglion Cell Loss in Alzheimer Disease. *Annals of Neurology*. 2016;79(1):90-109. doi:10.1002/ana.24548
153. Sadun AA, Bassi CJ. Optic Nerve Damage in Alzheimer's Disease. *Ophthalmology*. 1990;97(1):9-17. doi:10.1016/S0161-6420(90)32621-0

154. BLANKS JC, TORIGOE Y, HINTON DR, BLANKS RHI. Retinal Degeneration in the Macula of Patients with Alzheimer's Disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1991;640(1):44-46. doi:10.1111/j.1749-6632.1991.tb00188.x
155. Blanks JC, Hinton DR, Sadun AA, Miller CA. Retinal ganglion cell degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Research.* 1989;501(2):364-372. doi:10.1016/0006-8993(89)90653-7
156. Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, Porrello K v., Hinton DR, Blanks RHI. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiology of Aging.* 1996;17(3):385-395. doi:10.1016/0197-4580(96)00009-7
157. Blanks JC, Torigoe Y, Hinton DR, Blanks RHI. Retinal pathology in Alzheimer's disease. I. Ganglion cell loss in foveal/parafoveal retina. *Neurobiology of Aging.* 1996;17(3):377-384. doi:10.1016/0197-4580(96)00010-3
158. Asanad S, Ross-Cisneros FN, Nassisi M, Barron E, Karanjia R, Sadun AA. The Retina in Alzheimer's Disease: Histomorphometric Analysis of an Ophthalmologic Biomarker. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 2019;60(5):1491. doi:10.1167/iov.18-25966
159. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov A v., et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *Neuroimage.* 2011;54. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.06.020
160. Shi Z, Wu Y, Wang M, et al. Greater Attenuation of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Alzheimer's Disease Patients. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2014;40(2):277-283. doi:10.3233/JAD-131898
161. Koronyo Y, Biggs D, Barron E, et al. Retinal amyloid pathology and proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI Insight.* 2017;2(16). doi:10.1172/jci.insight.93621
162. Hart NJ, Koronyo Y, Black KL, Koronyo-Hamaoui M. Ocular indicators of Alzheimer's: exploring disease in the retina. *Acta Neuropathologica.* 2016;132(6):767-787. doi:10.1007/s00401-016-1613-6
163. Doustar J, Torbati T, Black KL, Koronyo Y, Koronyo-Hamaoui M. Optical Coherence Tomography in Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Neurology.* 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00701
164. Schultz N, Byman E, Wennström M. Levels of Retinal Amyloid- β Correlate with Levels of Retinal IAPP and Hippocampal Amyloid- β in Neuropathologically Evaluated Individuals. *Journal of Alzheimer's Disease.* 2020;73(3). doi:10.3233/JAD-190868
165. Du LY, Chang LYL, Ardiles AO, et al. Alzheimer's Disease-Related Protein Expression in the Retina of Octodon degus. *PLOS ONE.* 2015;10(8):e0135499. doi:10.1371/journal.pone.0135499

166. Liu B, Rasool S, Yang Z, et al. Amyloid-Peptide Vaccinations Reduce β -Amyloid Plaques but Exacerbate Vascular Deposition and Inflammation in the Retina of Alzheimer's Transgenic Mice. *The American Journal of Pathology*. 2009;175(5):2099-2110. doi:10.2353/ajpath.2009.090159
167. Perez SE, Lumayag S, Kovacs B, Mufson EJ, Xu S. β -Amyloid Deposition and Functional Impairment in the Retina of the APPswe/PS1 Δ E9 Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2009;50(2):793. doi:10.1167/iovs.08-2384
168. Ning A, Cui J, To E, Ashe KH, Matsubara J. Amyloid- β Deposits Lead to Retinal Degeneration in a Mouse Model of Alzheimer Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008;49(11):5136. doi:10.1167/iovs.08-1849
169. Grimaldi A, Brighi C, Peruzzi G, et al. Inflammation, neurodegeneration and protein aggregation in the retina as ocular biomarkers for Alzheimer's disease in the 3xTg-AD mouse model. *Cell Death & Disease*. 2018;9(6). doi:10.1038/s41419-018-0740-5
170. Alexandrov PN, Pogue A, Bhattacharjee S, Lukiw WJ. Retinal amyloid peptides and complement factor H in transgenic models of Alzheimer's disease. *NeuroReport*. 2011;22(12). doi:10.1097/WNR.0b013e3283497334
171. Tsai Y, Lu B, Ljubimov A v., et al. Ocular Changes in TgF344-AD Rat Model of Alzheimer's Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014;55(1). doi:10.1167/iovs.13-12888
172. Dutescu RM, Li QX, Crowston J, Masters CL, Baird PN, Culvenor JG. Amyloid precursor protein processing and retinal pathology in mouse models of Alzheimer's disease. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2009;247(9):1213-1221. doi:10.1007/s00417-009-1060-3
173. Edwards MM, Rodríguez JJ, Gutierrez-Lanza R, Yates J, Verkhatsky A, Luttly GA. Retinal macroglia changes in a triple transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental Eye Research*. 2014;127:252-260. doi:10.1016/j.exer.2014.08.006
174. Gao L, Chen X, Tang Y, et al. Neuroprotective effect of memantine on the retinal ganglion cells of APPswe/PS1 Δ E9 mice and its immunomodulatory mechanisms. *Experimental Eye Research*. 2015;135:47-58. doi:10.1016/j.exer.2015.04.013
175. Gupta VK, Chitranshi N, Gupta VB, et al. Amyloid β accumulation and inner retinal degenerative changes in Alzheimer's disease transgenic mouse. *Neuroscience Letters*. 2016;623:52-56. doi:10.1016/j.neulet.2016.04.059
176. He Y, Zhao H, Su G. Ginsenoside Rg1 Decreases Neurofibrillary Tangles Accumulation in Retina by Regulating Activities of Nephrilysin and PKA in Retinal Cells of AD Mice Model. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2014;52(1):101-106. doi:10.1007/s12031-013-0173-7

177. More SS, Vince R. Hyperspectral Imaging Signatures Detect Amyloidopathy in Alzheimer's Mouse Retina Well before Onset of Cognitive Decline. *ACS Chemical Neuroscience*. 2015;6(2):306-315. doi:10.1021/cn500242z
178. Park SW, Kim JH, Mook-Jung I, et al. Intracellular amyloid beta alters the tight junction of retinal pigment epithelium in 5XFAD mice. *Neurobiology of Aging*. 2014;35(9):2013-2020. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.03.008
179. Parthasarathy R, Chow KM, Derafshi Z, et al. Reduction of amyloid-beta levels in mouse eye tissues by intra-vitreally delivered neprilysin. *Experimental Eye Research*. 2015;138:134-144. doi:10.1016/j.exer.2015.06.027
180. Perez SE, Lumayag S, Kovacs B, Mufson EJ, Xu S. β -Amyloid Deposition and Functional Impairment in the Retina of the APPswe/PS1 Δ E9 Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2009;50(2):793. doi:10.1167/iovs.08-2384
181. Pogue A, Dua P, Hill J, Lukiw W. Progressive inflammatory pathology in the retina of aluminum-fed 5xFAD transgenic mice. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2015;152:206-209. doi:10.1016/j.jinorgbio.2015.07.009
182. Williams PA, Thirgood RA, Oliphant H, et al. Retinal ganglion cell dendritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*. 2013;34(7):1799-1806. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2013.01.006
183. Yang Y, Shiao C, Hemingway JF, et al. Suppressed Retinal Degeneration in Aged Wild Type and APPswe/PS1 Δ E9 Mice by Bone Marrow Transplantation. *PLoS ONE*. 2013;8(6):e64246. doi:10.1371/journal.pone.0064246
184. Zhao H, Chang R, Che H, et al. Hyperphosphorylation of tau protein by calpain regulation in retina of Alzheimer's disease transgenic mouse. *Neuroscience Letters*. 2013;551:12-16. doi:10.1016/j.neulet.2013.06.026
185. Schön C, Hoffmann NA, Ochs SM, et al. Long-Term In Vivo Imaging of Fibrillar Tau in the Retina of P301S Transgenic Mice. *PLoS ONE*. 2012;7(12):e53547. doi:10.1371/journal.pone.0053547
186. Cohen RM, Rezai-Zadeh K, Weitz TM, et al. A Transgenic Alzheimer Rat with Plaques, Tau Pathology, Behavioral Impairment, Oligomeric A β , and Frank Neuronal Loss. *Journal of Neuroscience*. 2013;33(15):6245-6256. doi:10.1523/JNEUROSCI.3672-12.2013
187. Shi H, Koronyo Y, Rentsendorj A, et al. Identification of early pericyte loss and vascular amyloidosis in Alzheimer's disease retina. *Acta Neuropathologica*. 2020;139(5). doi:10.1007/s00401-020-02134-w
188. Grimaldi A, Pediconi N, Oieni F, et al. Neuroinflammatory Processes, A1 Astrocyte Activation and Protein Aggregation in the Retina of Alzheimer's Disease Patients,

- Possible Biomarkers for Early Diagnosis. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13. doi:10.3389/fnins.2019.00925
189. den Haan J, Morrema THJ, Verbraak FD, et al. Amyloid-beta and phosphorylated tau in post-mortem Alzheimer's disease retinas. *Acta Neuropathologica Communications*. 2018;6(1):147. doi:10.1186/s40478-018-0650-x
 190. Lee S, Jiang K, McIlmoyle B, et al. Amyloid Beta Immunoreactivity in the Retinal Ganglion Cell Layer of the Alzheimer's Eye. *Frontiers in Neuroscience*. 2020;14. doi:10.3389/fnins.2020.00758
 191. Dumitrescu OM, Lyden PD, Torbati T, et al. Sectoral segmentation of retinal amyloid imaging in subjects with cognitive decline. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2020;12(1). doi:10.1002/dad2.12109
 192. Ju YES, McLeland JS, Toedebusch CD, et al. Sleep Quality and Preclinical Alzheimer Disease. *JAMA Neurology*. 2013;70(5):587. doi:10.1001/jamaneurol.2013.2334
 193. 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. doi:10.1212/WNL.45.1.68
 194. Wang C, Holtzman DM. Bidirectional relationship between sleep and Alzheimer's disease: role of amyloid, tau, and other factors. *Neuropsychopharmacology*. 2020;45(1):104-120. doi:10.1038/s41386-019-0478-5
 195. Williams EA, McGuone D, Frosch MP, Hyman BT, Laver N, Stemmer-Rachamimov A. Absence of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes in Eyes of Subjects With Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2017;76(5):376-383. doi:10.1093/jnen/nlx020
 196. Ho CY, Troncoso JC, Knox D, Stark W, Eberhart CG. Beta-Amyloid, Phospho-Tau and Alpha-Synuclein Deposits Similar to Those in the Brain Are Not Identified in the Eyes of Alzheimer's and Parkinson's Disease Patients. *Brain Pathology*. 2014;24(1):25-32. doi:10.1111/bpa.12070
 197. Buckley RF, Hanseeuw B, Schultz AP, et al. Region-Specific Association of Subjective Cognitive Decline With Tauopathy Independent of Global β -Amyloid Burden. *JAMA Neurology*. 2017;74(12):1455. doi:10.1001/jamaneurol.2017.2216
 198. Hanseeuw BJ, Betensky RA, Jacobs HIL, et al. Association of Amyloid and Tau With Cognition in Preclinical Alzheimer Disease. *JAMA Neurology*. 2019;76(8):915. doi:10.1001/jamaneurol.2019.1424
 199. Iqbal K, Liu F, Gong CX, Alonso A del C, Grundke-Iqbal I. Mechanisms of tau-induced neurodegeneration. *Acta Neuropathologica*. 2009;118(1):53-69. doi:10.1007/s00401-009-0486-3
 200. Harrison IF, Whitaker R, Bertelli PM, et al. Optic nerve thinning and neurosensory retinal degeneration in the rTg4510 mouse model of frontotemporal dementia. *Acta Neuropathologica Communications*. 2019;7(1):4. doi:10.1186/s40478-018-0654-6

201. Chang LYL, Ardiles AO, Tapia-Rojas C, et al. Evidence of Synaptic and Neurochemical Remodeling in the Retina of Aging Degus. *Frontiers in Neuroscience*. 2020;14. doi:10.3389/fnins.2020.00161
202. Chouhan AK, Guo C, Hsieh YC, et al. Uncoupling neuronal death and dysfunction in Drosophila models of neurodegenerative disease. *Acta Neuropathologica Communications*. 2016;4(1):62. doi:10.1186/s40478-016-0333-4
203. Tucker RP, Matus AI. Microtubule-associated proteins characteristic of embryonic brain are found in the adult mammalian retina. *Developmental Biology*. 1988;130(2):423-434. doi:10.1016/0012-1606(88)90338-7
204. Chiasseu M, Alarcon-Martinez L, Belforte N, et al. Tau accumulation in the retina promotes early neuronal dysfunction and precedes brain pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*. 2017;12(1). doi:10.1186/s13024-017-0199-3
205. Löffler KU, Edward DP, Tso MO. Immunoreactivity against tau, amyloid precursor protein, and beta-amyloid in the human retina. 1995;36(1):24-31.
206. Leger F, Fernagut PO, Canron MH, et al. Protein Aggregation in the Aging Retina. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2011;70(1):63-68. doi:10.1097/NEN.0b013e31820376cc
207. Ho CY, Troncoso JC, Knox D, Stark W, Eberhart CG. Beta-Amyloid, Phospho-Tau and Alpha-Synuclein Deposits Similar to Those in the Brain Are Not Identified in the Eyes of Alzheimer's and Parkinson's Disease Patients. *Brain Pathology*. 2014;24(1):25-32. doi:10.1111/bpa.12070
208. Williams EA, McGuone D, Frosch MP, Hyman BT, Laver N, Stemmer-Rachamimov A. Absence of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes in Eyes of Subjects With Alzheimer Disease. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 2017;76(5):376-383. doi:10.1093/jnen/nlx020
209. Gupta N, Fong J, Ang LC, Yücel YH. Retinal tau pathology in human glaucomas. *Canadian Journal of Ophthalmology*. 2008;43(1):53-60. doi:10.3129/i07-185
210. Ibach B, Binder H, Dragon M, et al. Cerebrospinal fluid tau and β -amyloid in Alzheimer patients, disease controls and an age-matched random sample. *Neurobiology of Aging*. 2006;27(9):1202-1211. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2005.06.005
211. Behbehani R, Adnan H, Al-Hassan AA, Al-Salahat A, Alroughani R. Predictors of retinal atrophy in multiple sclerosis: A longitudinal study using spectral domain optical coherence tomography with segmentation analysis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders*. 2018;21:56-62. doi:10.1016/j.msard.2018.02.010
212. Kim BJ, Irwin DJ, Song D, et al. Optical coherence tomography identifies outer retina thinning in frontotemporal degeneration. *Neurology*. 2017;89(15):1604-1611. doi:10.1212/WNL.0000000000004500

213. Kim BJ, Grossman M, Song D, et al. Persistent and Progressive Outer Retina Thinning in Frontotemporal Degeneration. *Frontiers in Neuroscience*. 2019;13. doi:10.3389/fnins.2019.00298
214. Arvanitakis Z, Leurgans SE, Wang Z, Wilson RS, Bennett DA, Schneider JA. Cerebral amyloid angiopathy pathology and cognitive domains in older persons. *Annals of Neurology*. 2011;69(2):320-327. doi:10.1002/ana.22112
215. Viswanathan A, Greenberg SM. Cerebral amyloid angiopathy in the elderly. *Annals of Neurology*. 2011;70(6):871-880. doi:10.1002/ana.22516
216. Keable A, Fenna K, Yuen HM, et al. Deposition of amyloid β in the walls of human leptomeningeal arteries in relation to perivascular drainage pathways in cerebral amyloid angiopathy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2016;1862(5):1037-1046. doi:10.1016/j.bbadis.2015.08.024
217. Vidoni ED, Yeh HW, Morris JK, et al. Cerebral β -Amyloid Angiopathy Is Associated with Earlier Dementia Onset in Alzheimer's Disease. *Neurodegenerative Diseases*. 2016;16(3-4):218-224. doi:10.1159/000441919
218. Nikolakopoulou AM, Zhao Z, Montagne A, Zlokovic B v. Regional early and progressive loss of brain pericytes but not vascular smooth muscle cells in adult mice with disrupted platelet-derived growth factor receptor- β signaling. *PLOS ONE*. 2017;12(4):e0176225. doi:10.1371/journal.pone.0176225
219. Shi H, Koronyo Y, Rentsendorj A, et al. Identification of early pericyte loss and vascular amyloidosis in Alzheimer's disease retina. *Acta Neuropathologica*. 2020;139(5):813-836. doi:10.1007/s00401-020-02134-w
220. Crair MC, Mason CA. Reconnecting Eye to Brain. *The Journal of Neuroscience*. 2016;36(42):10707-10722. doi:10.1523/JNEUROSCI.1711-16.2016
221. Cunha-Vaz J, Santos T, Alves D, et al. Agreement between OCT Leakage and Fluorescein Angiography to Identify Sites of Alteration of the Blood–Retinal Barrier in Diabetes. *Ophthalmology Retina*. 2017;1(5):395-403. doi:10.1016/j.oret.2017.02.002
222. O'Bryhim BE, Apte RS, Kung N, Coble D, van Stavern GP. Association of Preclinical Alzheimer Disease With Optical Coherence Tomographic Angiography Findings. *JAMA Ophthalmology*. 2018;136(11):1242. doi:10.1001/jamaophthalmol.2018.3556
223. Frost S, Martins RN, Kanagasingam Y. Ocular Biomarkers for Early Detection of Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2010;22(1):1-16. doi:10.3233/JAD-2010-100819
224. Williams MA, McGowan AJ, Cardwell CR, et al. Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2015;1(2):229-235. doi:10.1016/j.dadm.2015.04.001

225. Frost S, Kanagasingam Y, Sohrabi H, et al. Retinal vascular biomarkers for early detection and monitoring of Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*. 2013;3(2):e233-e233. doi:10.1038/tp.2012.150
226. Berisha F, Fekete GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. Retinal Abnormalities in Early Alzheimer's Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2007;48(5):2285. doi:10.1167/iovs.06-1029
227. Fekete GT, Hyman BT, Stern RA, Pasquale LR. Retinal blood flow in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2015;1(2):144-151. doi:10.1016/j.dadm.2015.01.004
228. Cabrera DeBuc D, Somfai GM, Arthur E, Kostic M, Oropesa S, Mendoza Santiesteban C. Investigating Multimodal Diagnostic Eye Biomarkers of Cognitive Impairment by Measuring Vascular and Neurogenic Changes in the Retina. *Frontiers in Physiology*. 2018;9. doi:10.3389/fphys.2018.01721
229. Cheung CY, Ong YT, Ikram MK, et al. Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*. 2014;10(2):135-142. doi:10.1016/j.jalz.2013.06.009
230. Kimbrough IF, Robel S, Roberson ED, Sontheimer H. Vascular amyloidosis impairs the gliovascular unit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain*. 2015;138(12):3716-3733. doi:10.1093/brain/awv327
231. Zlokovic B v. Neurovascular pathways to neurodegeneration in Alzheimer's disease and other disorders. *Nature Reviews Neuroscience*. 2011;12(12):723-738. doi:10.1038/nrn3114
232. Uhlmann RF, Larson EB, Koepsell TD, Rees TS, Duckert LG. Visual impairment and cognitive dysfunction in Alzheimer's disease. *Journal of General Internal Medicine*. 1991;6(2):126-132. doi:10.1007/BF02598307
233. Cronin-Golomb A, Corkin S, Rizzo JF, Cohen J, Growdon JH, Banks KS. Visual dysfunction in Alzheimer's disease: Relation to normal aging. *Annals of Neurology*. 1991;29(1):41-52. doi:10.1002/ana.410290110
234. Pache M, Smeets CHW, Gasio PF, et al. Colour vision deficiencies in Alzheimer's disease. *Age and Ageing*. 2003;32(4):422-426. doi:10.1093/ageing/32.4.422
235. 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. doi:10.1212/WNL.45.1.68
236. Gilmore GC, Wenk HE, Naylor LA, Koss E. Motion Perception and Alzheimer's Disease. *Journal of Gerontology*. 1994;49(2):P52-P57. doi:10.1093/geronj/49.2.P52
237. Lu Y, Li Z, Zhang X, et al. Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: Evidence in optical coherence tomography. *Neuroscience Letters*. 2010;480(1):69-72. doi:10.1016/j.neulet.2010.06.006

238. Kesler A, Vakhapova V, Korczyn AD, Naftaliev E, Neudorfer M. Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2011;113(7):523-526. doi:10.1016/j.clineuro.2011.02.014
239. Tamura H, Kawakami H, Kanamoto T, et al. High frequency of open-angle glaucoma in Japanese patients with Alzheimer's disease. *Journal of the Neurological Sciences*. 2006;246(1-2):79-83. doi:10.1016/j.jns.2006.02.009
240. Ia Morgia C, di Vito L, Carelli V, Carbonelli M. Patterns of Retinal Ganglion Cell Damage in Neurodegenerative Disorders: Parvocellular vs Magnocellular Degeneration in Optical Coherence Tomography Studies. *Frontiers in Neurology*. 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00710
241. Risacher SL, WuDunn D, Tallman EF, et al. Visual contrast sensitivity is associated with the presence of cerebral amyloid and tau deposition. *Brain Communications*. 2020;2(1). doi:10.1093/braincomms/fcaa019
242. FISHER J, JACOBS D, MARKOWITZ C, et al. Relation of Visual Function to Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Multiple Sclerosis. *Ophthalmology*. 2006;113(2):324-332. doi:10.1016/j.ophtha.2005.10.040
243. Weil RS, Schrag AE, Warren JD, Crutch SJ, Lees AJ, Morris HR. Visual dysfunction in Parkinson's disease. *Brain*. 2016;139(11):2827-2843. doi:10.1093/brain/aww175
244. Andrade C, Beato J, Monteiro A, et al. Spectral-Domain Optical Coherence Tomography as a Potential Biomarker in Huntington's Disease. *Movement Disorders*. 2016;31(3):377-383. doi:10.1002/mds.26486
245. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nature Reviews Neurology*. 2013;9(1):44-53. doi:10.1038/nrneurol.2012.227
246. Archibald NK, Clarke MP, Mosimann UP, Burn DJ. The retina in Parkinson's disease. *Brain*. 2009;132(5):1128-1145. doi:10.1093/brain/awp068
247. Drexler W, Fujimoto J. State-of-the-art retinal optical coherence tomography. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2008;27(1). doi:10.1016/j.preteyeres.2007.07.005
248. Gabriele ML, Wollstein G, Ishikawa H, et al. Optical Coherence Tomography: History, Current Status, and Laboratory Work. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011;52(5). doi:10.1167/iovs.10-6312
249. Born M, Wolf E, Bhatia AB, et al. *Principles of Optics*. Cambridge University Press; 1999. doi:10.1017/CBO9781139644181
250. Brezinski M. *Optical Coherence Tomography: Principles and Applications*. first. (Academic Press, ed.); 2006.
251. Fercher AF, Mengedoht K, Werner W. Eye-length measurement by interferometry with partially coherent light. *Optics Letters*. 1988;13(3). doi:10.1364/OL.13.000186

252. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical Coherence Tomography. *Science* (1979). 1991;254(5035). doi:10.1126/science.1957169
253. Fercher AF, Hitzengerger CK, Drexler W, Kamp G, Sattmann H. In Vivo Optical Coherence Tomography. *American Journal of Ophthalmology*. 1993;116(1). doi:10.1016/S0002-9394(14)71762-3
254. Puliafito CA, Hee MR, Lin CP, et al. Imaging of Macular Diseases with Optical Coherence Tomography. *Ophthalmology*. 1995;102(2). doi:10.1016/S0161-6420(95)31032-9
255. Hee MR, Izatt J, Swanson E, et al. Optical Coherence Tomography of the Human Retina. *Archives of Ophthalmology*. 1995;113(3). doi:10.1001/archophth.1995.01100030081025
256. Schuman JS, Hee MR, Arya A v., et al. Optical coherence tomography: A new tool for glaucoma diagnosis. *Current Opinion in Ophthalmology*. 1995;6(2). doi:10.1097/00055735-199504000-00014
257. Townsend KA, Wollstein G, Schuman JS. Imaging of the retinal nerve fibre layer for glaucoma. *British Journal of Ophthalmology*. 2009;93(2). doi:10.1136/bjo.2008.145540
258. Smith LM, Dobson CC. Absolute displacement measurements using modulation of the spectrum of white light in a Michelson interferometer. *Applied Optics*. 1989;28(16). doi:10.1364/AO.28.003339
259. Lumbroso B, Rispoli M. *Guide to Interpretating Spectral Domain Optical Coherence Tomography*. Second. Jaypee Highlights; 2011.
260. Lumbroso B, Huang D, Romano A, Rispoli M, Coscas G. *Clinical En Face OCT Atlas*. First. (Jaypee Brothers Medical Publishers; ed.); 2013.
261. Puliafito C, Hee M, Schuman J, Fujimoto J. *Puliafito C, Hee M, Schuman J, Fujimoto J. Optical Coherence Tomography of Ocular Diseases*. . Second. (Slack incorporated, ed.); 2004.
262. Potsaid B, Gorczynska I, Srinivasan VJ, et al. Ultrahigh speed Spectral / Fourier domain OCT ophthalmic imaging at 70,000 to 312,500 axial scans per second. *Optics Express*. 2008;16(19). doi:10.1364/OE.16.015149
263. Drexler W, Morgner U, Kärtner FX, et al. In vivo ultrahigh-resolution optical coherence tomography. *Optics Letters*. 1999;24(17). doi:10.1364/OL.24.001221
264. Wojtkowski M, Leitgeb R, Kowalczyk A, Bajraszewski T, Fercher AF. In vivo human retinal imaging by Fourier domain optical coherence tomography. *Journal of Biomedical Optics*. 2002;7(3). doi:10.1117/1.1482379
265. Ahlers C, Schmidt-Erfurth U. Three-dimensional high resolution OCT imaging of macular pathology. *Optics Express*. 2009;17(5). doi:10.1364/OE.17.004037

266. Kim JS, Ishikawa H, Sung KR, et al. Retinal nerve fibre layer thickness measurement reproducibility improved with spectral domain optical coherence tomography. *British Journal of Ophthalmology*. 2009;93(8). doi:10.1136/bjo.2009.157875
267. Wieser W, Biedermann BR, Klein T, Eigenwillig CM, Huber R. Multi-Megahertz OCT: High quality 3D imaging at 20 million A-scans and 45 GVoxels per second. *Optics Express*. 2010;18(14). doi:10.1364/OE.18.014685
268. Parisi V, Restuccia R, Fattapposta F, Mina C, Bucci MG, Pierelli F. Morphological and functional retinal impairment in Alzheimer's disease patients. *Clinical Neurophysiology*. 2001;112(10):1860-1867. doi:10.1016/S1388-2457(01)00620-4
269. Iseri PK, Altınış Ö, Tokay T, Yüksel N. Relationship between Cognitive Impairment and Retinal Morphological and Visual Functional Abnormalities in Alzheimer Disease. *Journal of Neuro-Ophthalmology*. 2006;26(1):18-24. doi:10.1097/01.wno.0000204645.56873.26
270. 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. *Neuroscience Letters*. 2007;420(2):97-99. doi:10.1016/j.neulet.2007.02.090
271. 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. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2013;34(3):659-664. doi:10.3233/JAD-121975
272. M Moschos M, Markopoulos I, Chatziralli I, et al. Structural and Functional Impairment of the Retina and Optic Nerve in Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*. 2012;9(7):782-788. doi:10.2174/156720512802455340
273. Kirbas S, Turkyilmaz K, Anlar O, Tufekci A, Durmus M. Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Patients With Alzheimer Disease. *Journal of Neuro-Ophthalmology*. 2013;33(1):58-61. doi:10.1097/WNO.0b013e318267fd5f
274. Marziani E, Pomati S, Ramolfo P, et al. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer and Ganglion Cell Layer Thickness in Alzheimer's Disease Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013;54(9):5953. doi:10.1167/iovs.13-12046
275. Bambo MP, Garcia-Martin E, Pinilla J, et al. Detection of retinal nerve fiber layer degeneration in patients with Alzheimer's disease using optical coherence tomography: searching new biomarkers. *Acta Ophthalmologica*. 2014;92(7):e581-e582. doi:10.1111/aos.12374
276. Larrosa JM, Garcia-Martin E, Bambo MP, et al. Potential New Diagnostic Tool for Alzheimer's Disease Using a Linear Discriminant Function for Fourier Domain Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2014;55(5):3043. doi:10.1167/iovs.13-13629

277. 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. *Frontiers in Psychiatry*. 2014;5. doi:10.3389/fpsy.2014.00022
278. Shen Y, Liu L, Cheng Y, et al. Retinal Nerve Fiber Layer Thickness is Associated with Episodic Memory Deficit in Mild Cognitive Impairment Patients. *Current Alzheimer Research*. 2014;11(3):259-266. doi:10.2174/1567205011666140131114418
279. Gharbiya M, Trebbastoni A, Parisi F, et al. Choroidal Thinning as a New Finding in Alzheimer's Disease: Evidence from Enhanced Depth Imaging Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014;40(4):907-917. doi:10.3233/JAD-132039
280. Polo V, Garcia-Martin E, Bambo MP, et al. Reliability and validity of Cirrus and Spectralis optical coherence tomography for detecting retinal atrophy in Alzheimer's disease. *Eye*. 2014;28(6):680-690. doi:10.1038/eye.2014.51
281. Garcia-Martin ES, Rojas B, Ramirez AI, et al. Macular Thickness as a Potential Biomarker of Mild Alzheimer's Disease. *Ophthalmology*. 2014;121(5):1149-1151.e3. doi:10.1016/j.ophtha.2013.12.023
282. Ascaso FJ, Cruz N, Modrego PJ, et al. Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an optical coherence tomography study. *Journal of Neurology*. 2014;261(8):1522-1530. doi:10.1007/s00415-014-7374-z
283. ERASLAN M, ÇERMAN E, ÇEKİÇ O, et al. Neurodegeneration in ocular and central nervous systems: optical coherence tomography study in normal-tension glaucoma and Alzheimer disease*. *TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES*. 2015;45:1106-1114. doi:10.3906/sag-1406-145
284. GÜNEŞ A, DEMİRCİ S, TÖK L, TÖK Ö, DEMİRCİ S. Evaluation of retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer disease usingspectral-domain optical coherence tomography. *TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES*. 2015;45:1094-1097. doi:10.3906/sag-1405-114
285. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, et al. Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: A potential new biomarker. *Clinical Neurology and Neurosurgery*. 2015;132:68-73. doi:10.1016/j.clineuro.2015.02.016
286. Oktem EO, Derle E, Kibaroglu S, Oktem C, Akkoyun I, Can U. The relationship between the degree of cognitive impairment and retinal nerve fiber layer thickness. *Neurological Sciences*. 2015;36(7):1141-1146. doi:10.1007/s10072-014-2055-3
287. Salobar-Garcia E, Hoyas I, Leal M, et al. Analysis of Retinal Peripapillary Segmentation in Early Alzheimer's Disease Patients. *BioMed Research International*. 2015;2015:1-8. doi:10.1155/2015/636548
288. Cheung CY Iui, Ong YT, Hilal S, et al. Retinal Ganglion Cell Analysis Using High-Definition Optical Coherence Tomography in Patients with Mild Cognitive Impairment

- and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2015;45(1). doi:10.3233/JAD-141659
289. Gao L, Liu Y, Li X, Bai Q, Liu P. Abnormal retinal nerve fiber layer thickness and macula lutea in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2015;60(1):162-167. doi:10.1016/j.archger.2014.10.011
 290. Liu D, Zhang L, Li Z, et al. Thinner changes of the retinal nerve fiber layer in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *BMC Neurology*. 2015;15(1):14. doi:10.1186/s12883-015-0268-6
 291. Pillai JA, Bermel R, Bonner-Jackson A, et al. Retinal Nerve Fiber Layer Thinning in Alzheimer's Disease. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*. 2016;31(5):430-436. doi:10.1177/1533317515628053
 292. Garcia-Martin E, Bambo MP, Marques ML, et al. Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients with Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmologica*. 2016;94(6):e454-e459. doi:10.1111/aos.12977
 293. Cunha LP, Lopes LC, Costa-Cunha LVF, et al. Macular Thickness Measurements with Frequency Domain-OCT for Quantification of Retinal Neural Loss and its Correlation with Cognitive Impairment in Alzheimer's Disease. *PLOS ONE*. 2016;11(4):e0153830. doi:10.1371/journal.pone.0153830
 294. Knoll B, Simonett J, Volpe NJ, et al. Retinal nerve fiber layer thickness in amnesic mild cognitive impairment: Case-control study and meta-analysis. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2016;4(1):85-93. doi:10.1016/j.dadm.2016.07.004
 295. Choi SH, Park SJ, Kim NR. Macular Ganglion Cell -Inner Plexiform Layer Thickness Is Associated with Clinical Progression in Mild Cognitive Impairment and Alzheimers Disease. *PLOS ONE*. 2016;11(9):e0162202. doi:10.1371/journal.pone.0162202
 296. Trebbastoni A, D'Antonio F, Bruscolini A, et al. Retinal nerve fibre layer thickness changes in Alzheimer's disease: Results from a 12-month prospective case series. *Neuroscience Letters*. 2016;629:165-170. doi:10.1016/j.neulet.2016.07.006
 297. Snyder PJ, Johnson LN, Lim YY, et al. Nonvascular retinal imaging markers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2016;4(1):169-178. doi:10.1016/j.dadm.2016.09.001
 298. Polo V, Rodrigo MJ, Garcia-Martin E, et al. Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Alzheimer's disease. *Eye*. 2017;31(7):1034-1041. doi:10.1038/eye.2017.23
 299. Mutlu U, Bonnemaier PWM, Ikram MA, et al. Retinal neurodegeneration and brain MRI markers: the Rotterdam Study. *Neurobiology of Aging*. 2017;60:183-191. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2017.09.003

300. Casaletto KB, Ward ME, Baker NS, et al. Retinal thinning is uniquely associated with medial temporal lobe atrophy in neurologically normal older adults. *Neurobiology of Aging*. 2017;51:141-147. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2016.12.011
301. Kwon JY, Yang JH, Han JS, Kim DG. Analysis of the Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. *Korean Journal of Ophthalmology*. 2017;31(6). doi:10.3341/kjo.2016.0118
302. Ferrari L, Huang SC, Magnani G, Ambrosi A, Comi G, Leocani L. Optical Coherence Tomography Reveals Retinal Neuroaxonal Thinning in Frontotemporal Dementia as in Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2017;56(3):1101-1107. doi:10.3233/JAD-160886
303. Golzan SM, Goozee K, Georgevsky D, et al. Retinal vascular and structural changes are associated with amyloid burden in the elderly: ophthalmic biomarkers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2017;9(1). doi:10.1186/s13195-017-0239-9
304. Cunha JP, Proença R, Dias-Santos A, et al. OCT in Alzheimer's disease: thinning of the RNFL and superior hemiretina. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2017;255(9). doi:10.1007/s00417-017-3715-9
305. Poroy C, Yücel A. Optical coherence tomography: Is really a new biomarker for alzheimer's disease? *Ann Indian Acad Neurol*. 2018;21(2):119. doi:10.4103/aian.AIAN_368_17
306. 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. *Scientific Reports*. 2018;8(1):16345. doi:10.1038/s41598-018-34577-3
307. Haan J, Janssen SF, Kreeke JA, Scheltens P, Verbraak FD, Bouwman FH. Retinal thickness correlates with parietal cortical atrophy in early-onset Alzheimer's disease and controls. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2018;10(1):49-55. doi:10.1016/j.dadm.2017.10.005
308. Lad EM, Mukherjee D, Stinnett SS, et al. Evaluation of inner retinal layers as biomarkers in mild cognitive impairment to moderate Alzheimer's disease. *PLOS ONE*. 2018;13(2):e0192646. doi:10.1371/journal.pone.0192646
309. Shao Y, Jiang H, Wei Y, et al. Visualization of Focal Thinning of the Ganglion Cell–Inner Plexiform Layer in Patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;64(4):1261-1273. doi:10.3233/JAD-180070
310. Santos CY, Johnson LN, Sinoff SE, Festa EK, Heindel WC, Snyder PJ. Change in retinal structural anatomy during the preclinical stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2018;10(1):196-209. doi:10.1016/j.dadm.2018.01.003

311. Almeida ALM, Pires LA, Figueiredo EA, et al. Correlation between cognitive impairment and retinal neural loss assessed by swept-source optical coherence tomography in patients with mild cognitive impairment. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2019;11(1):659-669. doi:10.1016/j.dadm.2019.08.006
312. Querques G, Borrelli E, Sacconi R, et al. Functional and morphological changes of the retinal vessels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Scientific Reports*. 2019;9(1):63. doi:10.1038/s41598-018-37271-6
313. Hadoux X, Hui F, Lim JKH, et al. Non-invasive in vivo hyperspectral imaging of the retina for potential biomarker use in Alzheimer's disease. *Nature Communications*. 2019;10(1):4227. doi:10.1038/s41467-019-12242-1
314. Kim JI, Kang BH. Decreased retinal thickness in patients with Alzheimer's disease is correlated with disease severity. *PLOS ONE*. 2019;14(11):e0224180. doi:10.1371/journal.pone.0224180
315. Haan J, Kreeke JA, Konijnenberg E, et al. Retinal thickness as a potential biomarker in patients with amyloid-proven early- and late-onset Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2019;11(1). doi:10.1016/j.dadm.2019.05.002
316. Salobrar-García E, de Hoz R, Ramírez AI, et al. Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. *PLOS ONE*. 2019;14(8):e0220535. doi:10.1371/journal.pone.0220535
317. Yoon SP, Grewal DS, Thompson AC, et al. Retinal Microvascular and Neurodegenerative Changes in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment Compared with Control Participants. *Ophthalmology Retina*. 2019;3(6):489-499. doi:10.1016/j.oret.2019.02.002
318. Yoon SP, Thompson AC, Polascik BW, et al. Correlation of OCTA and Volumetric MRI in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 2019;50(11):709-718. doi:10.3928/23258160-20191031-06
319. Zabel P, Kaluzny JJ, Wilkosc-Debczynska M, et al. Comparison of Retinal Microvasculature in Patients With Alzheimer's Disease and Primary Open-Angle Glaucoma by Optical Coherence Tomography Angiography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2019;60(10):3447. doi:10.1167/iov.19-27028
320. Zabel P, Kałużny JJ, Wilkość-Dębczyńska M, et al. Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Patients with Alzheimer's Disease: A Comparison of Eyes of Patients with Alzheimer's Disease, Primary Open-Angle Glaucoma, and Preperimetric Glaucoma and Healthy Controls. *Medical Science Monitor*. 2019;25:1001-1008. doi:10.12659/MSM.914889
321. Zhang YS, Zhou N, Knoll BM, et al. Parafoveal vessel loss and correlation between peripapillary vessel density and cognitive performance in amnesic mild cognitive

- impairment and early Alzheimer's Disease on optical coherence tomography angiography. *PLOS ONE*. 2019;14(4):e0214685. doi:10.1371/journal.pone.0214685
322. Zhang YS, Onishi AC, Zhou N, et al. Characterization of Inner Retinal Hyperreflective Alterations in Early Cognitive Impairment on Adaptive Optics Scanning Laser Ophthalmoscopy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2019;60(10):3527. doi:10.1167/iovs.19-27135
 323. Kreeke JA, Nguyen H, Haan J, et al. Retinal layer thickness in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmologica*. 2019;97(8):798-804. doi:10.1111/aos.14121
 324. Marquié M, Valero S, Castilla-Martí M, et al. Association between retinal thickness and β -amyloid brain accumulation in individuals with subjective cognitive decline: Fundació ACE Healthy Brain Initiative. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2020;12(1):37. doi:10.1186/s13195-020-00602-9
 325. Szegedi S, Dal-Bianco P, Stögmänn E, et al. Anatomical and functional changes in the retina in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Acta Ophthalmologica*. 2020;98(7). doi:10.1111/aos.14419
 326. Asanad S, Fantini M, Sultan W, et al. Retinal nerve fiber layer thickness predicts CSF amyloid/tau before cognitive decline. *PLOS ONE*. 2020;15(5). doi:10.1371/journal.pone.0232785
 327. Haan J, Verbraak FD, Visser PJ, Bouwman FH. Retinal thickness in Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2017;6(1):162-170. doi:10.1016/j.dadm.2016.12.014
 328. Bayhan HA, Aslan Bayhan S, Celikbilek A, Tanik N, Gürdal C. Evaluation of the chorioretinal thickness changes in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2015;43(2):145-151. doi:10.1111/ceo.12386
 329. Ge YJ, Xu W, Ou YN, et al. Retinal biomarkers in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*. 2021;69:101361. doi:10.1016/j.arr.2021.101361
 330. Mwanza JC, Durbin MK, Budenz DL, et al. Glaucoma Diagnostic Accuracy of Ganglion Cell–Inner Plexiform Layer Thickness: Comparison with Nerve Fiber Layer and Optic Nerve Head. *Ophthalmology*. 2012;119(6):1151-1158. doi:10.1016/j.ophtha.2011.12.014
 331. Choma M, Sarunic M, Yang C, Izatt J. Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*. 2003;11(18):2183. doi:10.1364/OE.11.002183
 332. Uchida A, Pillai JA, Bermel R, et al. Outer Retinal Assessment Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography in Patients With Alzheimer's and Parkinson's Disease.

- Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2018;59(7):2768. doi:10.1167/iov.17-23240
333. Liu S, Ong YT, Hilal S, et al. The Association Between Retinal Neuronal Layer and Brain Structure is Disrupted in Patients with Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2016;54(2):585-595. doi:10.3233/JAD-160067
 334. Jiang H, Liu Y, Wei Y, et al. Impaired retinal microcirculation in patients with Alzheimer's disease. *PLOS ONE*. 2018;13(2):e0192154. doi:10.1371/journal.pone.0192154
 335. Asanad S, Ross-Cisneros FN, Barron E, et al. The retinal choroid as an oculo-vascular biomarker for Alzheimer's dementia: A histopathological study in severe disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2019;11(1):775-783. doi:10.1016/j.dadm.2019.08.005
 336. Snyder PJ, Johnson LN, Lim YY, et al. Nonvascular retinal imaging markers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2016;4(1). doi:10.1016/j.dadm.2016.09.001
 337. Giménez Castejón D, Dudekova M, Gómez Gallego M, Lajara Blesa J. Macular Thickness in Subjective Memory Complaints and Mild Cognitive Impairment: A Non-Invasive Biomarker. *Neuro-Ophthalmology*. 2016;40(1):16-22. doi:10.3109/01658107.2015.1118516
 338. den Haan J, Csinscik L, Parker T, et al. Retinal thickness as potential biomarker in posterior cortical atrophy and typical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2019;11(1):62. doi:10.1186/s13195-019-0516-x
 339. Bulut M, Yaman A, Erol MK, et al. Choroidal Thickness in Patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Type Dementia. *Journal of Ophthalmology*. 2016;2016:1-7. doi:10.1155/2016/7291257
 340. Trebbastoni A, Marcelli M, Mallone F, et al. Attenuation of Choroidal Thickness in Patients With Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders*. 2017;31(2):128-134. doi:10.1097/WAD.0000000000000176
 341. Cunha JP, Proença R, Dias-Santos A, et al. Choroidal thinning: Alzheimer's disease and aging. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2017;8(1):11-17. doi:10.1016/j.dadm.2017.03.004
 342. Robbins CB, Grewal DS, Thompson AC, et al. Choroidal Structural Analysis in Alzheimer Disease, Mild Cognitive Impairment, and Cognitively Healthy Controls. *American Journal of Ophthalmology*. 2021;223:359-367. doi:10.1016/j.ajo.2020.09.049
 343. Lee EJ, Kim TW, Lee DS, et al. Increased CSF tau level is correlated with decreased lamina cribrosa thickness. *Alzheimer's Research & Therapy*. 2016;8(1):6. doi:10.1186/s13195-015-0169-3
 344. de la Torre JC. Alzheimer Disease as a Vascular Disorder. *Stroke*. 2002;33(4):1152-1162. doi:10.1161/01.STR.0000014421.15948.67

345. Jiang H, Wei Y, Shi Y, et al. Altered Macular Microvasculature in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease. *Journal of Neuro-Ophthalmology*. 2018;38(3):292-298. doi:10.1097/WNO.0000000000000580
346. Lahme L, Esser EL, Mihailovic N, et al. Evaluation of Ocular Perfusion in Alzheimer's Disease Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2018;66(4):1745-1752. doi:10.3233/JAD-180738
347. Bulut M, Kurtuluş F, Gözkaya O, et al. Evaluation of optical coherence tomography angiographic findings in Alzheimer's type dementia. *British Journal of Ophthalmology*. 2018;102(2):233-237. doi:10.1136/bjophthalmol-2017-310476
348. Cabrera DeBuc D, Gaca-Wysocka M, Grzybowski A, Kanclerz P. Identification of Retinal Biomarkers in Alzheimer's Disease Using Optical Coherence Tomography: Recent Insights, Challenges, and Opportunities. *Journal of Clinical Medicine*. 2019;8(7):996. doi:10.3390/jcm8070996
349. Song A, Johnson N, Ayala A, Thompson AC. Optical Coherence Tomography in Patients with Alzheimer's Disease: What Can It Tell Us? *Eye and Brain*. 2021;Volume 13:1-20. doi:10.2147/EB.S235238
350. Alber J, Goldfarb D, Thompson LI, et al. Developing retinal biomarkers for the earliest stages of Alzheimer's disease: What we know, what we don't, and how to move forward. *Alzheimer's & Dementia*. 2020;16(1):229-243. doi:10.1002/alz.12006
351. Ge YJ, Xu W, Ou YN, et al. Retinal biomarkers in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*. 2021;69:101361. doi:10.1016/j.arr.2021.101361
352. Kwon JY, Yang JH, Han JS, Kim DG. Analysis of the Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. *Korean Journal of Ophthalmology*. 2017;31(6). doi:10.3341/kjo.2016.0118
353. Nunes A, Silva G, Duque C, et al. Retinal texture biomarkers may help to discriminate between Alzheimer's, Parkinson's, and healthy controls. *PLOS ONE*. 2019;14(6):e0218826. doi:10.1371/journal.pone.0218826
354. Haan J, Kreeke JA, Berckel BN, et al. Is retinal vasculature a biomarker in amyloid proven Alzheimer's disease? *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2019;11(1):383-391. doi:10.1016/j.dadm.2019.03.006
355. Jindahra P, Hengsiri N, Witoonpanich P, et al. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer and Ganglion Cell Layer Thickness in Alzheimer's Disease Using Optical Coherence Tomography. *Clinical Ophthalmology*. 2020;Volume 14:2995-3000. doi:10.2147/OPTH.S276625
356. Carazo-Barrios L, Archidona-Arranz A, Claros-Ruiz A, et al. Correlation between retinal nerve fibre layer thickness and white matter lesions in Alzheimer's disease. *International Journal of Geriatric Psychiatry*. 2021;36(6):935-942. doi:10.1002/gps.5496

357. Cheng DL, Thompson L, Snyder PJ. A Potential Association Between Retinal Changes, Subjective Memory Impairment, and Anxiety in Older Adults at Risk for Alzheimer's Disease: A 27-Month Pilot Study. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2019;11. doi:10.3389/fnagi.2019.00288
358. Ong YT, Hilal S, Cheung CY, et al. Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neuroscience Letters*. 2015;584. doi:10.1016/j.neulet.2014.10.010
359. Méndez-Gómez JL, Pelletier A, Rougier MB, et al. Association of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness With Brain Alterations in the Visual and Limbic Networks in Elderly Adults Without Dementia. *JAMA Network Open*. 2018;1(7):e184406. doi:10.1001/jamanetworkopen.2018.4406
360. Mejia-Vergara AJ, Karanjia R, Sadun AA. OCT parameters of the optic nerve head and the retina as surrogate markers of brain volume in a normal population, a pilot study. *Journal of the Neurological Sciences*. 2021;420. doi:10.1016/j.jns.2020.117213
361. More SS, Beach JM, McClelland C, Mokhtarzadeh A, Vince R. In Vivo Assessment of Retinal Biomarkers by Hyperspectral Imaging: Early Detection of Alzheimer's Disease. *ACS Chemical Neuroscience*. 2019;10(11):4492-4501. doi:10.1021/acscchemneuro.9b00331
362. Frost S, Kanagasingam Y, Macaulay L, et al. O3-13-01: RETINAL AMYLOID FLUORESCENCE IMAGING PREDICTS CEREBRAL AMYLOID BURDEN AND ALZHEIMER'S DISEASE. *Alzheimer's & Dementia*. 2014;10(4S_Part_4). doi:10.1016/j.jalz.2014.04.341
363. Kayabasi U. Retinal Examination for the Diagnosis of Alzheimer's Disease. *International Journal of Ophthalmic & Pathology*. 2014;03(04). doi:10.4172/2324-8599.1000145
364. Alber J, Arthur E, Sinoff S, et al. A recommended "minimum data set" framework for SD-OCT retinal image acquisition and analysis from the Atlas of Retinal Imaging in Alzheimer's Study (ARIAS). *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2020;12(1). doi:10.1002/dad2.12119
365. Reisberg B, Ferris SH, de Leon MJ, Crook T. The Global Deterioration Scale for assessment of primary degenerative dementia. *American Journal of Psychiatry*. 1982;139(9). doi:10.1176/ajp.139.9.1136
366. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state." *Journal of Psychiatric Research*. 1975;12(3). doi:10.1016/0022-3956(75)90026-6
367. Pena-Casanova J, Gramunt-Fombuena N, Quinones-Ubeda S, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): Norms for the Rey-Osterrieth Complex Figure (Copy and Memory), and Free and Cued Selective Reminding Test. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2009;24(4). doi:10.1093/arclin/acp041

368. Pena-Casanova J. *Test Barcelona: Normalidad, Semiología y Patología*. 2nd ed. (Pena-Casanova J, ed.). Masson; 2005.
369. Pena-Casanova J, Quintana-Aparicio M, Quinones-Ubeda S, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): Norms for the Visual Object and Space Perception Battery-Abbreviated, and Judgment of Line Orientation. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2009;24(4). doi:10.1093/arclin/acp040
370. Pena-Casanova J, Quinones-Ubeda S, Quintana-Aparicio M, et al. Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): Norms for Verbal Span, Visuospatial Span, Letter and Number Sequencing, Trail Making Test, and Symbol Digit Modalities Test. *Archives of Clinical Neuropsychology*. 2009;24(4). doi:10.1093/arclin/acp038
371. Jiménez-Bonilla JF, Banzo I, de Arcocha-Torres M, et al. Amyloid Imaging With 11C-PIB in Patients With Cognitive Impairment in a Clinical Setting. *Clinical Nuclear Medicine*. 2016;41(1). doi:10.1097/RLU.0000000000000934
372. Dulku S. Generating a Random Sequence of Left and Right Eyes for Ophthalmic Research. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012;53(10). doi:10.1167/iovs.12-10737
373. Schachar AP, Wilkinson CP, Hinton DR, Saddy SR, Wiedemann P. *Ryan's Retina*. 6th ed. Elsevier; 2018.
374. Choma M, Sarunic M, Yang C, Izatt J. Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography. *Optics Express*. 2003;11(18). doi:10.1364/OE.11.002183
375. Cruz-Herranz A, Balk LJ, Oberwahrenbrock T, et al. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology*. 2016;86(24). doi:10.1212/WNL.0000000000002774
376. Považay B, Hofer B, Hermann B, et al. Minimum distance mapping using three-dimensional optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. *Journal of Biomedical Optics*. 2007;12(4). doi:10.1117/1.2773736
377. Chauhan BC, Danthurebandara VM, Sharpe GP, et al. Bruch's Membrane Opening Minimum Rim Width and Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in a Normal White Population. *Ophthalmology*. 2015;122(9). doi:10.1016/j.ophtha.2015.06.001
378. Mandrekar JN. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010;5(9). doi:10.1097/JTO.0b013e3181ec173d
379. Danthurebandara VM, Sharpe GP, Hutchison DM, et al. Enhanced Structure-Function Relationship in Glaucoma With an Anatomically and Geometrically Accurate Neuroretinal Rim Measurement. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2015;56(1):98-105. doi:10.1167/iovs.14-15375

380. Rebolleda G, Casado A, Oblanca N, Muñoz-Negrete F. The new Bruch's membrane opening- minimum rim width classification improves optical coherence tomography specificity in tilted discs. *Clinical Ophthalmology*. 2016;Volume 10:2417-2425. doi:10.2147/OPTH.S120237
381. Ngolab J, Honma P, Rissman RA. Reflections on the Utility of the Retina as a Biomarker for Alzheimer's Disease: A Literature Review. *Neurology and Therapy*. 2019;8(S2):57-72. doi:10.1007/s40120-019-00173-4
382. Liu Y, Hsieh Y, Chen T, et al. Retinal ganglion cell-inner plexiform layer thickness is nonlinearly associated with cognitive impairment in the community-dwelling elderly. *Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring*. 2019;11(1):19-27. doi:10.1016/j.dadm.2018.10.006
383. Moschos MM, Tagaris G, Markopoulos L, et al. Morphologic Changes and Functional Retinal Impairment in Patients with Parkinson Disease without Visual Loss. *European Journal of Ophthalmology*. 2011;21(1):24-29. doi:10.5301/EJO.2010.1318
384. Birkeldh U, Manouchehrinia A, Hietala MA, et al. The Temporal Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Is the Most Important Optical Coherence Tomography Estimate in Multiple Sclerosis. *Frontiers in Neurology*. 2017;8. doi:10.3389/fneur.2017.00675
385. Jindahra P, Hedges TR, Mendoza-Santiesteban CE, Plant GT. Optical coherence tomography of the retina: applications in neurology. *Current Opinion in Neurology*. 2010;23(1):16-23. doi:10.1097/WCO.0b013e328334e99b
386. Parisi V. Correlation between morphological and functional retinal impairment in patients affected by ocular hypertension, glaucoma, demyelinating optic neuritis and Alzheimer's disease. *Seminars in Ophthalmology*. 2003;18(2):50-57. doi:10.1076/soph.18.2.50.15855
387. Margolis R, Spaide RF. A Pilot Study of Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography of the Choroid in Normal Eyes. *American Journal of Ophthalmology*. 2009;147(5). doi:10.1016/j.ajo.2008.12.008
388. Usui S, Ikuno Y, Akiba M, et al. Circadian Changes in Subfoveal Choroidal Thickness and the Relationship with Circulatory Factors in Healthy Subjects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012;53(4). doi:10.1167/iovs.11-8383
389. Casado A, López-de-Eguileta A, Gaitán J, Fonseca S, Gordo-Vega MA. Peripapillary and macular choroidal thickness before and after phenylephrine instillation. *Eye*. 2019;33(11). doi:10.1038/s41433-019-0478-z
390. Zeger SL, Liang KY, Albert PS. Models for longitudinal data: a generalized estimating equation approach. *Biometrics*. 1988;44(4):1049-1060.
391. Fan Q, Teo YY, Saw SM. Application of Advanced Statistics in Ophthalmology. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011;52(9). doi:10.1167/iovs.10-7108

392. Mandrekar JN. Receiver Operating Characteristic Curve in Diagnostic Test Assessment. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010;5(9). doi:10.1097/JTO.0b013e3181ec173d
393. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *Journal of Chiropractic Medicine*. 2016;15(2). doi:10.1016/j.jcm.2016.02.012
394. Ravi Teja KV, Berendschot TJM T, Steinbusch H, Webers AB C, Murthy R P, PS M. Cerebral and Retinal Neurovascular Changes: A Biomarker for Alzheimer's Disease. *Journal of Gerontology & Geriatric Research*. 2017;06(04). doi:10.4172/2167-7182.1000447
395. Mrejen S, Spaide RF. Optical coherence tomography: Imaging of the choroid and beyond. *Survey of Ophthalmology*. 2013;58(5):387-429. doi:10.1016/j.survophthal.2012.12.001
396. Ning A, Cui J, To E, Ashe KH, Matsubara J. Amyloid- β Deposits Lead to Retinal Degeneration in a Mouse Model of Alzheimer Disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008;49(11):5136. doi:10.1167/iovs.08-1849
397. Hoh Kam J, Lenassi E, Jeffery G. Viewing Ageing Eyes: Diverse Sites of Amyloid Beta Accumulation in the Ageing Mouse Retina and the Up-Regulation of Macrophages. *PLoS ONE*. 2010;5(10):e13127. doi:10.1371/journal.pone.0013127
398. Casado A, López-de-Eguileta A, Gaitán J, Fonseca S, Gordo-Vega MA. Peripapillary and macular choroidal thickness before and after phenylephrine instillation. *Eye*. 2019;33(11). doi:10.1038/s41433-019-0478-z
399. Chakraborty R, Read SA, Collins MJ. Diurnal Variations in Axial Length, Choroidal Thickness, Intraocular Pressure, and Ocular Biometrics. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2011;52(8):5121. doi:10.1167/iovs.11-7364
400. Shao L, Xu L, Chen CX, et al. Reproducibility of Subfoveal Choroidal Thickness Measurements with Enhanced Depth Imaging by Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2013;54(1):230. doi:10.1167/iovs.12-10351
401. Glassman AR, Melia M. Randomizing 1 Eye or 2 Eyes. *JAMA Ophthalmology*. 2015;133(1):9. doi:10.1001/jamaophthalmol.2014.3600
402. Böhm P, Peña-Casanova J, Aguilar M, Hernández G, Sol JM, Blesa R. Clinical Validity and Utility of the Interview for Deterioration of Daily Living in Dementia for Spanish-Speaking Communities. *International Psychogeriatrics*. 1998;10(3):261-270. doi:10.1017/S1041610298005377
403. Alcolea D, Pegueroles J, Muñoz L, et al. Agreement of amyloid PET and CSF biomarkers for Alzheimer's disease on Lumipulse. *Annals of Clinical and Translational Neurology*. 2019;6(9). doi:10.1002/acn3.50873

404. Ségonne F, Dale AM, Busa E, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004;22(3). doi:10.1016/j.neuroimage.2004.03.032
405. Fischl B, Salat DH, Busa E, et al. Whole Brain Segmentation. *Neuron*. 2002;33(3). doi:10.1016/S0896-6273(02)00569-X
406. Sled JG, Zijdenbos AP, Evans AC. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in MRI data. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 1998;17(1). doi:10.1109/42.668698
407. Fischl B, Liu A, Dale AM. Automated manifold surgery: constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 2001;20(1). doi:10.1109/42.906426
408. Menke MN, Dabov S, Knecht P, Sturm V. Reproducibility of Retinal Thickness Measurements in Healthy Subjects Using Spectralis Optical Coherence Tomography. *American Journal of Ophthalmology*. 2009;147(3). doi:10.1016/j.ajo.2008.09.005
409. Cruz-Herranz A, Balk LJ, Oberwahrenbrock T, et al. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology*. 2016;86(24). doi:10.1212/WNL.0000000000002774
410. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: a practical and powerful approach to multiple testing. . *J Royal Stat Soc Ser B*. 1995;57(1):289-300.
411. Bevan RJ, Hughes TR, Williams PA, Good MA, Morgan BP, Morgan JE. Retinal ganglion cell degeneration correlates with hippocampal spine loss in experimental Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica Communications*. 2020;8(1). doi:10.1186/s40478-020-01094-2
412. Spires TL. Dendritic Spine Abnormalities in Amyloid Precursor Protein Transgenic Mice Demonstrated by Gene Transfer and Intravital Multiphoton Microscopy. *Journal of Neuroscience*. 2005;25(31). doi:10.1523/JNEUROSCI.1879-05.2005
413. Luo J, Agboola F, Grant E, et al. Sequence of Alzheimer disease biomarker changes in cognitively normal adults. *Neurology*. 2020;95(23). doi:10.1212/WNL.00000000000010747

Listado de figuras

Figura 1	Estimación del número de personas con demencia en países con bajos ingresos y en países con ingresos altos hasta el año 2050	7
Figura 2	Modelo dinámico de aparición de biomarcadores y progresión de la EA propuesto por Jack et al.	18
Figura 3	Representación anatómica e histológica de las partes del nervio óptico en su salida del globo ocular	22
Figura 4	Representación del fondo de ojo	24
Figura 5	Esquema de las capas de la retina	25
Figura 6	Representación gráfica del área macular	26
Figura 7	División en sectores de la papila óptica	29
Figura 8	Distribución de los axones de la CFNR en la retina y en el nervio óptico	30
Figura 9	Representación de las capas de la retina en un corte de tomografía coherencia óptica y su correspondiente corte histológico	44

Figura 10	Segmentación automática de las capas retinianas obtenidas mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral (Spectralis)	47
Figura 11	Imágenes de tomografía por emisión de positrones/tomografía axial computarizada usando el compuesto B ¹¹C-Pittsburgh	89
Figura 12	Segmentación de la capa de células ganglionares de la retina	92
Figura 13	Análisis del nervio óptico mediante el protocolo “Glaucoma Module Premium Edition” de Spectralis	93
Figura 14	Análisis de la capa de fibras nerviosas de la retina mediante Spectralis	94
Figura 15	Representación de las mediciones manuales de la profundidad de la superficie anterior de la lámina cribosa y el grosor del tejido preliminar	95
Figura 16	Representación de los cambios de las capas de la retina en la enfermedad de Alzheimer mediante tomografía de coherencia óptica (OCT) en un hombre de 67 años	99
Figura 17	Representación de la medición del grosor coroideo mediante tomografía de coherencia óptica con imágenes de profundidad mejorada en el ojo derecho	122

Figura 18	Área bajo la curva del grosor coroideo en el scan inferior a 1500μm (I1500μm) y en el scan inferior a 1000μm (I1000μm)	130
Figura 19	Diagrama de barras que muestra el área bajo la curva del grosor coroideo en el scan inferior a 1000μm de la fovea en pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL), en pacientes con demencia por enfermedad de Alzheimer (EA) y en controles sanos (CS)	131
Figura 20	Tomografía de coherencia óptica que muestra el análisis del polo posterior de la capa de células ganglionares de la retina	151
Figura 21	Representación de los resultados del análisis univariante en gráficos de barras	158
Figura 22	Representación del adelgazamiento de la capa de células ganglionares de la retina en relación con los niveles en líquido cefalorraquídeo de pTau, tTau y el volumen del hipocampo	164

Listado de tablas

Tabla 1	Sistema de clasificación AT(N)	16
Tabla 2	Perfil y categorización de enfermedad de Alzheimer según los biomarcadores	17
Tabla 3	Revisión bibliográfica de artículos publicados hasta 2021, utilizando los términos de búsqueda "Alzheimer" y "OCT".	57
Tabla 4	Características demográficas y clínicas de los participantes (63 ojos de 34 individuos con EA versus CS)	94
Tabla 5	Comparación de los diferentes análisis de la tomografía de coherencia óptica entre pacientes Aβ+ y ojos de control	98
Tabla 6	Comparación de diferentes análisis de tomografía de coherencia óptica entre ojos con deterioro cognitivo leve y demencia por enfermedad de Alzheimer	100
Tabla 7	Coeficiente de correlación intraclase para determinar la reproducibilidad interobservador de las mediciones cuantificadas manualmente	101
Tabla 8	Área bajo la curva de la Característica Operativa del Receptor	102

Tabla 9	Comparación del grosor coroideo entre el total de pacientes con Alzheimer y ojos de control, entre los pacientes con deterioro cognitivo leve y ojos de control, y entre los pacientes con demencia y ojos de control	121
Tabla 10	Comparación del análisis del grosor coroideo entre pacientes con deterioro cognitivo leve y demencia por enfermedad de Alzheimer y el total de controles sanos, utilizando un modelo de ecuaciones de estimación generalizadas univariadas	123
Tabla 11	Comparación del análisis del grosor coroideo entre pacientes con deterioro cognitivo leve y demencia debido a la enfermedad de Alzheimer utilizando un modelo de ecuaciones de estimación generalizadas univariadas	124
Tabla 12	Coeficiente de correlación intraclase utilizado para determinar la reproducibilidad interobservador de medidas cuantificadas manualmente y los intervalos de confianza asociados	127
Tabla 13	Correlación del Mini Mental test con cada medida del grosor coroideo	128
Tabla 14	Características demográficas y clínicas, rendimiento neuropsicológico y resultados de los biomarcadores	147

Tabla 15	Análisis de las variables oftalmológicas como posibles factores de confusión	148
Tabla 16	Análisis multivariante entre los datos de OCT y los biomarcadores core de LCR y el volumen del hipocampo	153

Publicaciones surgidas del presente trabajo

Las publicaciones que surgen de esta tesis se enumeran a continuación:

1. López-de-Eguileta A, Lage C, López-García S, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierczak M, Bravo M, de Arcocha-Torres M, Banzo I, Jimenez-Bonilla J, Cerveró A, Rodríguez-Rodríguez E, Sánchez-Juan P, Casado A. **Ganglion cell layer thinning in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET**. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2019 Oct 9;5:570-578. doi: 10.1016/j.trci.2019.08.008.
2. López-de-Eguileta A, Cerveró A, Ruiz de Sabando A, Sánchez-Juan P, Casado A. **Ganglion Cell Layer Thinning in Alzheimer's Disease**. *Medicina (Kaunas)*. 2020 Oct 21;56(10):553. doi: 10.3390/medicina56100553.
3. López-de-Eguileta A, Lage C, López-García S, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierczak M, Bravo M, de Arcocha-Torres M, Banzo I, Jimenez-Bonilla J, Cerveró A, Goikoetxea A, Rodríguez-Rodríguez E, Sánchez-Juan P, Casado A. **Evaluation of choroidal thickness in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET**. *PLoS One*. 2020 Sep 21;15(9):e0239484. doi: 10.1371/journal.pone.0239484.
4. López-de-Eguileta A, López-García S, Lage C, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierczak M, Bravo M, de Arcocha-Torres M, Banzo I, Irure J, López-Hoyos M, Muñoz-Cacho P, Rodríguez-Pérez N, Tordesillas-Gutiérrez D, Goikoetxea A, Nebot C, Rodríguez-Rodríguez E, Casado A, Sánchez-Juan P. **The retinal ganglion cell layer reflects neurodegenerative changes in cognitively unimpaired individuals**. *Alzheimers Res Ther*. 2022 Apr 21;14(1):57. doi: 10.1186/s13195-022-00998-6.



Featured Article

Ganglion cell layer thinning in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET

Alicia López-de-Eguileta^a, Carmen Lage^b, Sara López-García^b, Ana Pozueta^b,
María García-Martínez^b, Martha Kazimierczak^b, María Bravo^b, María de Arcocha-Torres^c,
Ignacio Banzo^c, Julio Jimenez-Bonilla^c, Andrea Cerveró^a, Eloy Rodríguez-Rodríguez^b,
Pascual Sánchez-Juan^{b,1}, Alfonso Casado^{a,*,1}

^aDepartment of Ophthalmology, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, University of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' (IDIVAL), Santander, Spain

^bNeurology Department and Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, University of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' (IDIVAL), Santander, Spain

^cNuclear Medicine Department, University Hospital Marqués de Valdecilla, University of Cantabria, Molecular imaging Group - IDIVAL, Santander, Spain

Abstract

Introduction: The objective of this study was to investigate and compare optic nerve and retinal layers in eyes of patients with mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's disease (AD) with paired control eyes using optical coherence tomography.

Methods: Sixty-three eyes of 34 subjects, 12 eyes with AD and 51 eyes with MCI, positive to ¹¹C-labeled Pittsburgh Compound-B with positron emission tomography (¹¹C-PiB PET/CT), and the same number of sex- and age-paired control eyes underwent optical coherence tomography scanning analyzing retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), Bruch's membrane opening–minimum rim width (BMO-MRW), inner plexiform layer (IPL), outer nuclear layer, and lamina cribrosa (LC).

Results: Compared with healthy controls, eyes of patients with positive ¹¹C-PiB PET/CT showed a significant thinning of RNFL ($P < .028$) and GCL ($P < .014$). IPL and outer nuclear layer also showed significant thinning in two ($P < .025$) and one location ($P < .010$), respectively. No significant differences were found when optic nerve measurements BMO-MRW and LC were compared ($P > .131$ and $P > .721$, respectively). Temporal sector GCL, average RNFL, and temporal sector RNFL also exhibited significant thinning when MCI and control eyes were compared ($P = .015$, $P = .005$ and $P = .050$, respectively), and also the greatest area under the curve values (0.689, 0.647, and 0.659, respectively). GCL, IPL, and RNFL tend to be thinner in the AD group compared with healthy controls.

Discussion: Our study suggests that RNFL and GCL are useful for potential screening in the early diagnosis of AD. LC and BMO-MRW appear not to be affected by AD.

© 2019 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the Alzheimer's Association. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Keywords:

Alzheimer disease; retinal nerve fiber layer; optical coherence tomography; ganglion; ganglion cell layer; positron emission tomography; mild cognitive impairment; lamina cribrosa; bruch's membrane opening–minimum rim width

This study was not sponsored. A.L.-de-E., C.L., S.L.-G., A.P., M.G.-M., M.K., M.B., M.de.A.-T., J.J.-B., A.C., and E.R.-R. report no disclosures. P.S.-J. was supported by grants from IDIVAL, Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitario, PI08/0139, PI12/02288, PI16/01652), JPND (DEMTEST PI11/03028) and the CIBERNED program,

and Siemens Healthineers (Valdecilla Cohort for Memory and Brain Aging). A.C. was supported by grants from IDIVAL.

¹These authors share senior authorship.

*Corresponding author. Tel.: +34637781505; Fax: +34942202746.

E-mail address: casadorojo@hotmail.es

<https://doi.org/10.1016/j.trci.2019.08.008>

2352-8737/ © 2019 The Authors. Published by Elsevier Inc. on behalf of the Alzheimer's Association. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a complex neurodegenerative disorder and the leading cause of dementia [1]. Well-known neuropathological hallmarks of AD are intracellular neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau protein (p-Tau) and extracellular amyloid β ($A\beta$) protein deposits throughout the brain, which distinctly contribute to a definitive diagnosis of AD [2]. These neuropathological changes are believed to develop 15–20 years before the onset of clinical dementia [3]. Mild cognitive impairment (MCI) is the prodromal phase of AD, during which objective cognitive problems but no functional impairment are observed [4]. Different *in vivo* biomarkers have been studied in the early diagnosis of AD [4], leading to the incorporation of three core cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers for AD into modern diagnostic research criteria: the 42-amino acid form of $A\beta$ ($A\beta_{42}$), total tau (T-tau), and phosphorylated tau (P-tau) [5]. $A\beta$ pathology is detected by decreased $A\beta$ levels in CSF or with positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) imaging using ^{11}C -labeled Pittsburgh Compound-B (^{11}C -PiB) ligand [3], whereas neuronal injury is reflected by either cortical atrophy on magnetic resonance imaging (MRI), hypometabolism on fluorodeoxyglucose-PET/CT (FDG-PET/CT), and other amyloid PET radiotracers, or increased T-tau and/or p-Tau levels in CSF [6,7]. Nevertheless, current diagnostic modalities for AD are restricted by standardization problems and invasiveness in the case of CSF markers, and high costs and limited availability in the case of amyloid PET [8,9]. These factors have prompted the investigation of cheaper and less-invasive AD biomarkers.

It has long been recognized that patients with early AD showed visual function impairments [10]. Moreover, several studies using optical coherence tomography (OCT) [11–17] to analyze different eye structures have reported retinal and optic nerve changes in patients with AD and MCI. Studies in patients with AD have shown retinal nerve fiber layer (RNFL) thinning [11–17], retinal ganglion cell layer (GCL) degeneration [12,15], choroidal thickness changes, and vascular alterations. However, the diagnosis of AD in nearly all studies was made using the Mini-Mental State Examination and was not supported with biomarkers, which might imply a variable degree of case misclassification, affecting statistical power and the interpretation of results.

Lamina cribrosa (LC) has been studied in other neurodegenerative diseases, including Parkinson's disease [18], but until now, LC has not been measured in AD. Similarly, Bruch's membrane opening–minimum rim width (BMO-MRW) has not been previously measured in patients with AD. This parameter measures the neuroretinal rim from the BMO to the nearest point on the internal limiting membrane, and the shortest distance constitutes a measurement that reduces interindividual variation, while providing higher sensitivity and specificity compared with RNFL in patients with glaucoma [19].

The aim of this study was to assess anatomic variations in the optic nerve and retina of amyloid-positive patients defined by ^{11}C -PiB PET/CT and in age- and gender-matched healthy controls (HCs), using OCT analyses, including RNFL, GCL, LC, and BMO-MRW, for a better understanding of the damage this disease causes in the eye, and to determine the best OCT biomarkers in patients with AD and prodromal MCI. To the best of our knowledge, this might be the first report that analyzes OCT changes in individuals with cognitive impairment and positive ^{11}C -PiB PET/CT, and LC and BMO-MRW in patients with AD.

2. Methods

2.1. Patient/subject groups

We conducted a cross-sectional study of Caucasian patients with MCI and AD compared with cognitively healthy age- and gender-matched controls recruited consecutively from the Neurology and Ophthalmology departments of the University Hospital Marqués de Valdecilla (UHMV), between May 2016 and June 2018. HCs were matched with MCI and AD separately and with both groups together. Indeed, AD and MCI were compared.

HCs were volunteers recruited among the family members of patients attending the ophthalmology clinic with a complaint of dry eye. They were not screened with neuropsychological tests or ^{11}C -PiB PET/CT.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the UHMV, and it was performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written consent forms were signed by all participants before the examinations.

2.2. Inclusion and exclusion criteria

All patients met research diagnostic criteria for AD and MCI [20]. Cases were confirmed in the neurology clinic as part of the Valdecilla Cohort for Memory and Brain Aging, a prospective study to evaluate early disease changes in nondemented individuals. Patients older than 55 years with a classic (amnestic) clinical presentation of AD or MCI and positive ^{11}C -PiB PET/CT scan were recruited. Diagnoses were established by a clinical committee of four neurologists (S.L.-G., P.S.-J., E.R.-R., and C.L.) and two neuropsychologists (A.P., M.G.-M.). All patients were assessed by a multidisciplinary team to exclude other neurological or psychiatric etiologies. Structural neuroimaging with CT or MRI was performed. All participants underwent a comprehensive neuropsychological battery conducted by two trained neuropsychologists (A.P., M.G.-M.), that included the main cognitive domains (memory, language, praxis, visual perception, and frontal functions). All patients underwent ^{11}C -PiB PET/CT at the Nuclear Medicine Department of the UHMV. ^{11}C -PiB synthesis and image acquisition have been described elsewhere [21]. PET/CT scans were visually interpreted by two experienced nuclear

medicine specialists (J.J.-B., I.B.) as positive or negative for cortical PiB uptake.

Exclusion criteria included a refractive error >6.0 diopters (D) of spherical equivalent or 3.0 D of astigmatism, any history of ocular surgery, ocular disease, best-corrected visual acuity as poor as 20/40, intraocular pressure (IOP) ≥ 18 mm Hg, past history of raised IOP, neuroretinal rim notching, or optic disc hemorrhages. Similarly, other exclusion criteria included clinically relevant opacities of the optic media and low-quality images due to unstable fixation, or severe cataract (patients with mild to moderate cataract might be enrolled in the study, but only high-quality images were included). Subjects with a history of neurological or psychiatric disorder, any significant systemic illness, poor collaboration due to neurological dementia stage or unstable medical condition (e.g., active cardiovascular disease), and current use of any medications known to affect cognition (e.g., use of sedative narcotics) were also excluded.

2.3. Ophthalmic assessment

All subjects underwent a thorough ophthalmic examination on the day of OCT imaging, including best-corrected visual acuity (Snellen charts), refraction, IOP measurement with Goldmann applanation tonometer, anterior segment biomicroscopy, and dilated fundus examination. The refractive error was recorded using an Autorefractometer Canon RK-F1 (Canon USA Inc., Lake Success, NY, USA). Axial length was measured by Lenstar LS 900 (Haag-Streit AG, Köniz, Switzerland).

Each patient was randomized to decide which eye was to be examined first, using the method described by Dulku [22].

2.4. Optical coherence tomography imaging

A single, well-trained ophthalmologist (A.C.), who was masked to the diagnosis of the patients, performed all OCT examinations. Participants received one drop of tropicamide 1% and phenylephrine per eye for pupil dilation before OCT imaging.

Retinal thickness was measured with spectral-domain (SD) Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) using the images obtained by posterior pole analysis scan. Using this protocol, the OCT instrument automatically delineates a line joining the center of the fovea and the center of the optic disc as a reference line. Thereupon, 61-line scans (1024 A scans/line) parallel to the central reference line are recorded. The quality of the scans is indicated on a color scale at the bottom of the scanned images. Only scans in the green range were considered of sufficiently good quality for inclusion in this study. The automatic real-time tracking of these scans was 25. A masked investigator (A.L.-de-E.) examined all images of each eye to identify any segmentation or centered errors in the images. The average retinal layer measurement of each $3^\circ \times 3^\circ$ sector was determined, which made up the 4 sectors

(superior, temporal, inferior, and nasal). Segmentation analysis was performed using Heidelberg segmentation software (version 1.10.2.0) to calculate thickness of the GCL, inner plexiform layer (IPL), and outer nuclear layer (ONL) (Fig. 1A) considering APOSTEL recommendations [23].

The new GMP Edition provided by Spectralis 6.0c version was used, including 24 radial and 3 circular scans. BMO-based MRW is automatically centered at the optic nerve head, and 24 radial B-scans were acquired over a 15° area. The shortest distance from each identified BMO point to the internal limiting membrane (Fig. 1B) was measured. After image acquisition, the BMO segmentation was reviewed and confirmed by a trained examiner (A.C.). RNFL thickness measurements of each individual eye were normalized for anatomic orientation of the fovea to optic nerve to an accurate and consistent positioning of the RNFL thickness measurement across eyes (automatic real-time tracking mean 100). Although the new module includes 3 circle scans (inner circle: 3.5 mm, middle circle: 4.1 mm, and outer circle: 4.7 mm), we registered only the figures provided by the inner circle scan (standard) (Fig. 1C). Six sector areas (superotemporal, superior, superonasal, inferonasal, inferior, and inferotemporal) and the average were measured in both analyses.

LC was measured by performing one vertical scan closest to the optic nerve head center, at the point where the visibility of the anterior LC surface was as complete as possible, by excluding the main vessels using enhanced depth image technology, with an average of over 100 scans using the automatic averaging mode. A reference line connecting the two Bruch's membrane end points was drawn, and three equidistant points (inferior, middle, and superior), corresponding to one-third and one-half of this reference, were matched to the anterior prelaminar tissue surface and anterior LC surface (Fig. 1D). Prelaminar tissue thickness (PTT) and anterior LC surface depth were measured at the three aforementioned points. PTT was defined as the distance between the anterior prelaminar tissue surface and anterior LC surface. Anterior LC surface depth was determined by measuring the distance from the reference line to the level of the anterior LC surface. Measurements were made using the SPECTRALIS software manual caliper tool by the aforementioned masked investigators (A.L.-de-E., A.C.).

2.5. Statistical analysis

Student's t-test for dependent samples was used to compare RNFL, BMO-MRW, and GCL between patients with AD and healthy gender- and age-matched controls. The intraclass correlation coefficient (ICC) was used to evaluate interobserver reproducibility in LC measurements and consequently the reliability of the results of the measurements that were manually quantified.

A receiver operating characteristic curve was used to assess the discrimination value of the OCT analyses. We used the area under the receiver operating characteristic

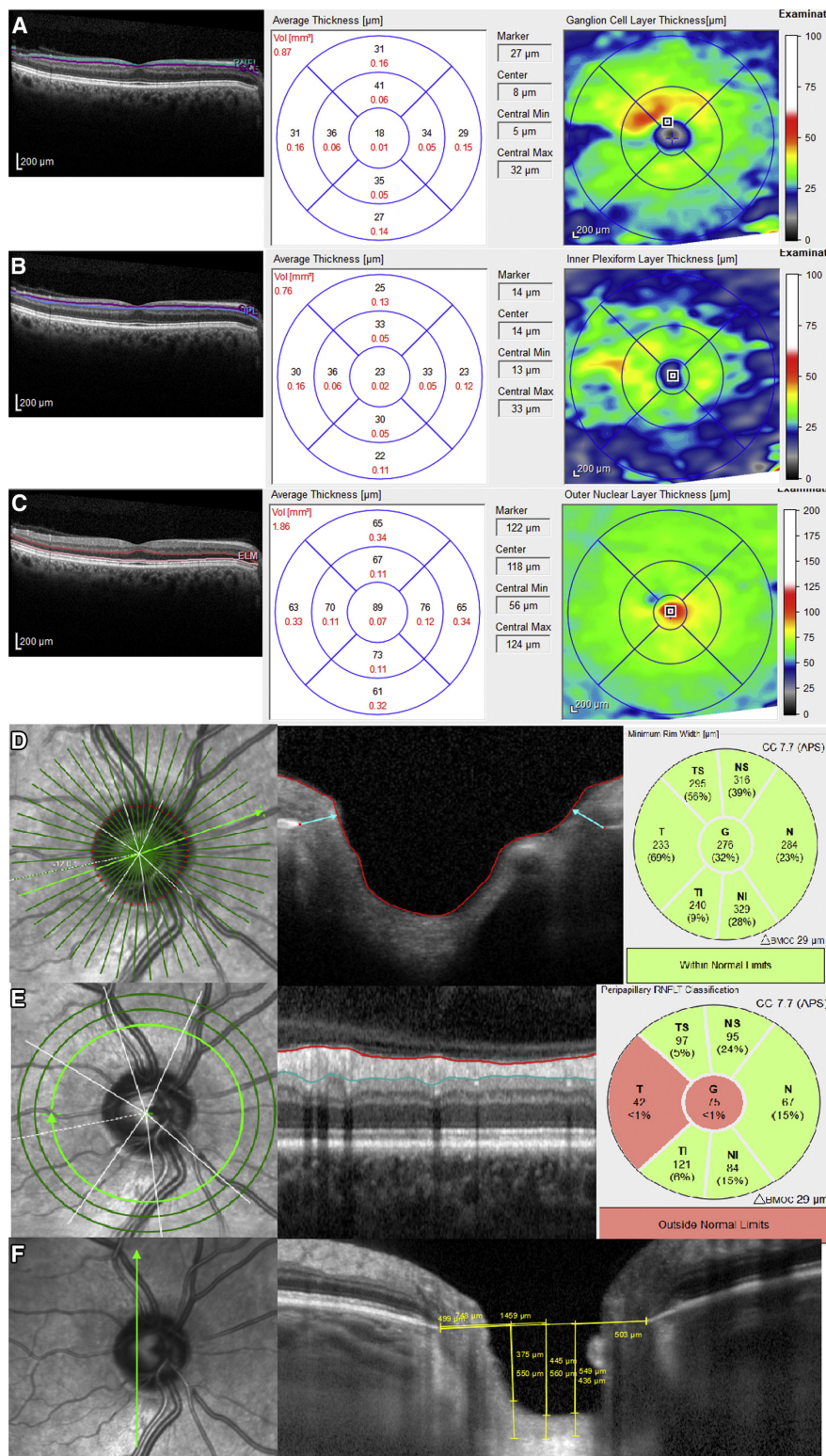


Fig. 1. A representation of retinal layers and optic nerve changes that could be depicted in AD by optical coherence tomography (OCT) in a 67-year-old man. The software automatically marked the following layers in a single horizontal foveal scan: (A) ganglion cell layer (GCL) analysis showing a diffuse decrease in

curves (AUCs) to assess the ability of GCL and RNFL thicknesses to discriminate AD, MCI, and AD/MCI from HC [24]. All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics V.20.0 (International Business Machine Corporation, Armonk, NY, USA).

2.6. Data availability

All data generated or analyzed during this study are included in the main manuscript and its supplementary information files.

3. Results

In total, 51 MCI eyes and 12 AD eyes from 34 patients, and 63 eyes from 32 HCs were included in the final analysis on the basis of inclusion and exclusion criteria. Five PiB+ eyes were omitted because of poor collaboration.

The demographic and clinical characteristics of patients with AD and controls showed no significant differences between both groups, see Table 1. Mean age was 73.5 ± 6.0 years (age range: 57–85 years). All eyes included were phakic.

Table 2 shows the relationship of RNFL, BMO-MRW, ONL, IPL, and GCL with PiB+, MCI, AD, and the cognitively healthy control group (HC).

GCL thickness showed a significant reduction across the MCI group in the temporal sector compared with the HC group ($42.2 \pm 8.4 \mu\text{m}$ in MCI and $46.1 \pm 6.1 \mu\text{m}$ in HC; $P = .015$). Compared with HCs, patients with AD had GCL thickness reduction significantly in the superior sector ($44.3 \pm 14.9 \mu\text{m}$ in AD and $55.2 \pm 5.4 \mu\text{m}$ in HC; $P = .050$). More significant differences were identified when both groups (MCI and AD) were compared with controls, including significant thinning of GCL in all locations ($P < .014$).

IPL was significantly reduced in the superior and nasal regions in the PiB+ group ($P = .011$ and $P = .025$, respectively) and in all superior, inferior, temporal, and nasal sectors in the AD group ($P = .026$, $P = .007$, $P = .044$, $P = .009$; respectively), whereas the results in the MCI group were not significant.

ONL showed significant changes in the superior sector in the MCI group ($63.3 \pm 11.6 \mu\text{m}$ in MCI and $68.1 \pm 11.3 \mu\text{m}$ in HC; $P = .048$) and in the PiB+ group ($P = .010$).

Average RNFL thickness and temporal-inferior quadrant and temporal quadrant RNFL thickness were significantly reduced in MCI compared with control eyes ($P = .005$, $P = .018$, $P = .050$; respectively). Once more, the comparison between the PiB+ group (MCI and AD subjects) and control eyes supports the aforementioned outcomes, but with greater statistical power (average RNFL $P = .004$, temporal $P = .028$, temporal inferior $P = .004$) and provides new

Table 1
Demographic and clinical participant's characteristics (63 eyes of 34 individuals)

Variables	Patients (N = 63)	Controls (N = 63)	P
Age (years)	73.5 (6.0)	73.28 (6.0)	.998
Male eyes (%)	31 (49.2)	31 (49.2)	1
Spherical equivalent (Diopters)	0.53 (1.10)	0.58 (1.22)	.797
BCVA	20/29 (0.34)	20/26 (0.17)	.259
Axial length (mm)	23.2 (0.8)	23.2 (0.9)	.816
IOP	13.7 (3.9)	12.8 (2.8)	.154

NOTE. Data for quantitative variables are shown as mean (standard deviation).

Sex differences were assessed with Fisher's test. Rest of analysis was performed using paired Student's t-test for dependent samples. Patients means mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's disease (AD) patients altogether.

Abbreviations: BCVA, best-corrected visual acuity; IOP, intraocular pressure.

information with regard to a significant thinning of temporal superior sector RNFL ($P = .019$).

Average BMO-MRW was significantly reduced in MCI ($P = .027$) and also thinner in PiB+ subjects ($290.3 \pm 54.1 \mu\text{m}$) than in HCs ($303.5 \pm 54.6 \mu\text{m}$). Nevertheless, no statistical significance was found in the latter group or in average BMO-MRW ($P = .263$), even when the 6 BMO-MRW sectors were compared ($P > .131$).

The study revealed no statistically significant differences in LC parameters between the PiB+ and control group.

ICCs were 0.974, 0.993, and 0.978 for superior, central, and inferior LC surface depth, respectively. Similarly, ICCs were >0.992 for PTT measurements, as depicted in Table 3.

We also analyzed OCT results comparing MCI and AD subjects (see Table 4). Although no significant differences were found, the measurements tended to be thinner in the AD group than in the MCI group, GCL in particular.

Table 5 shows the receiver operating characteristic AUC analysis of different OCT measurements with 95% confidence limits for sensitivity and specificity. Higher AUC values correlating with a diagnosis of MCI were observed for average, temporal, and temporal superior RNFL (0.652, 0.660, and 0.666; respectively) and temporal sector GCL (0.699).

4. Discussion

In vivo anatomical studies have provided further evidence of direct involvement of the retina, choroid, and optic nerve head in patients with AD [12]. For this reason, we used SD-OCT to compare RNFL, GCL, LC, and rim analysis between patients with brain amyloid accumulation PiB+ (MCI and

all sectors, (B) reduced inner plexiform layer (IPL) thicknesses, and (C) outer nuclear layer (ONL) thinning. (D) Bruch's membrane opening–minimum rim width (BMO-MRW) showing neither diffuse damage nor sector decrease. (E) Reduced retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness; in this case, diffuse RNFL thinning is supported, due in particular to temporal sector damage. (F) The anterior surface of the lamina cribrosa (LC), performed by vertical scan next to the optic nerve head center, is not damaged. Abbreviation: AD, Alzheimer's disease.

Table 2

Comparison of different optical coherence tomography analysis between patients and control eyes; mild cognitive impairment (MCI) patients and control eyes and Alzheimer's disease (AD) patients and controls

Variables	Patients (N = 63)	Controls (N = 63)	P	MCI (N = 51)	Controls (N = 51)	P	AD (N = 12)	Controls (N = 12)	P
Average RNFL thickness	97.7 (11.6)	99.9 (8.2)	.004*	93.7 (12.5)	99.5 (8.1)	.005*	99.4 (5.1)	102.0 (9.3)	.482
RNFL temporal	66.5 (9.0)	71.3 (10.2)	.028*	65.9 (9.4)	70.9 (10.7)	.050*	70.0 (6.2)	74.1 (5.8)	.312
RNFL temporal-superior	118.8 (16.6)	127.4 (17.4)	.019*	119.5 (16.3)	127.3 (17.3)	.062	115.0 (19.0)	128.3 (19.1)	.080
RNFL temporal-inferior	139.4 (20.8)	149.8 (15.8)	.004*	139.5 (22.0)	149.0 (15.1)	.018*	138.7 (10.4)	153.7 (19.6)	.062
RNFL nasal	80.5 (17.8)	81.7 (15.2)	.673	79.6 (18.3)	80.1 (15.5)	.875	85.2 (14.4)	90.4 (10.5)	.386
RNFL nasal-superior	111.3 (22.6)	117.3 (25.8)	.201	108.9 (22.1)	117.4 (25.5)	.090	124.3 (22.1)	166.6 (20.1)	.571
RNFL nasal-inferior	105.5 (29.6)	114.0 (18.0)	.062	109.7 (27.4)	114.5 (16.8)	.275	83.0 (33.1)	111.4 (24.9)	.100
Average BMO-MRW	290.3 (54.1)	303.5 (54.6)	.263	281.9 (49.9)	309.4 (54.9)	.027*	326.8 (58.8)	278.8 (47.3)	.106
BMO-MRW temporal	208.9 (49.9)	203.3 (43.5)	.649	207.7 (52.8)	205.4 (46.1)	.878	214.2 (27.6)	193.8 (30.5)	.012*
BMO-MRW temporal-superior	272.4 (64.2)	291.9 (49.8)	.231	272.2 (70.1)	295.2 (53.6)	.240	273.3 (28.8)	276.8 (24.7)	.848
BMO-MRW temporal-inferior	286.2 (67.5)	315.6 (64.6)	.131	277.6 (69.7)	317.4 (64.9)	.091	324.6 (41.2)	307.6 (68.8)	.267
BMO-MRW nasal	319.8 (65.5)	325.2 (60.4)	.735	305.5 (55.2)	327.3 (61.7)	.202	383.6 (74.9)	315.5 (58.7)	.095
BMO-MRW nasal-superior	328.0 (75.0)	347.2 (54.7)	.323	322.4 (74.9)	348.1 (53.2)	.237	353.0 (76.3)	343.3 (66.5)	.845
BMO-MRW nasal-inferior	348.3 (63.6)	371.0 (59.1)	.138	342.2 (61.8)	372.6 (61.3)	.089	375.6 (69.8)	363.8 (52.0)	.657
GCL superior	47.5 (9.1)	51.8 (5.6)	.006*	48.3 (7.1)	51.0 (5.5)	.057	44.3 (14.9)	55.2 (5.4)	.050*
GCL inferior	46.5 (9.8)	50.9 (6.0)	.008*	47.1 (8.5)	50.2 (6.1)	.052	44.2 (14.4)	53.7 (4.5)	.078
GCL temporal	41.7 (9.5)	46.7 (5.8)	.002*	42.2 (8.4)	46.1 (6.1)	.015*	39.6 (13.4)	49.1 (4.3)	.074
GCL nasal	46.5 (9.3)	50.5 (6.4)	.014*	47.3 (7.8)	50.1 (6.6)	.089	43.3 (14.2)	52.7 (5.1)	.078
IPL superior	39.0 (4.3)	41.1 (3.6)	.011*	39.1 (4.4)	40.5 (3.2)	.097	38.8 (4.1)	44.0 (3.9)	.026*
IPL inferior	38.6 (4.3)	40.1 (3.7)	.066	38.5 (4.5)	39.6 (3.7)	.268	38.8 (2.9)	42.4 (2.5)	.007*
IPL temporal	39.6 (4.1)	40.8 (3.6)	.111	39.6 (4.1)	40.3 (3.3)	.421	39.2 (3.8)	43.0 (4.1)	.044*
IPL nasal	39.8 (3.9)	41.4 (3.5)	.025*	39.7 (4.1)	41.0 (3.4)	.138	39.7 (3.3)	43.3 (3.0)	.009*
ONL superior	63.4 (11.7)	68.9 (10.7)	.010*	63.3 (11.6)	68.1 (11.3)	.048*	63.5 (12.3)	72.7 (5.8)	.058
ONL inferior	60.7 (15.2)	63.5 (12.2)	.344	60.3 (14.5)	63.5 (12.7)	.296	62.5 (18.4)	63.1 (10.0)	.947
ONL temporal	69.4 (10.2)	72.7 (10.3)	.072	68.6 (10.5)	72.2 (10.8)	.100	72.9 (7.8)	75.0 (6.7)	.442
ONL nasal	68.3 (15.3)	72.2 (11.8)	.156	68.2 (15.1)	72.2 (11.6)	.166	68.3 (16.9)	72.0 (13.2)	.676

NOTE. Data for quantitative variables are shown as mean (standard deviation). Analysis was performed using paired Student's t-test for dependent samples.

Patients means mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer disease (AD) patients altogether.

Abbreviations: RNFL, retinal nerve fiber layer; GCL, ganglion cell layer; BMO-MRW, Bruch's membrane opening–minimum rim width; IPL, inner plexiform layer; ONL, outer nuclear layer.

*P value < .005.

AD) and HC. Our study included highly characterized patients with detailed neurocognitive testing and PET imaging with ¹¹C-PiB ligand analysis that could readily differentiate between participants with normal cognition from dementia due to AD, as previously reported [6,7]. PiB imaging has many potential clinical benefits, such as preclinical detection of AD and an accurate differentiation of AD from dementias of other etiologies.

In our study, RNFL and GCL were significantly thinner in MCI and AD subjects compared with HC assessed by SD-OCT. Our results strongly suggest that retinal ganglion cells and optic nerve axonal damage can be clinically detected in prodromal AD.

Several studies have previously reported a significant decrease in mean overall RNFL thickness in patients with AD, generating interest in the use of this parameter as a biomarker for early detection of AD. Initially, evidence of average RNFL thinning in patients with AD was demonstrated with time domain OCT [17,25] and has subsequently been confirmed by several independent groups using various modern OCT devices, such as spectral-domain (SD) OCT [14–16,26,27]. Findings were supported by three meta-analyses [26,28]. Differences in

the most affected peripapillary quadrants, such as superior sector RNFL [19,29] and both superior and inferior sector RNFL [29], were later reported. Our findings agreed with previous clinical studies that reported a lower average RNFL in the PiB+ group, particularly in the superior and inferior quadrant, compared with HC.

However, den Haan et al. [30] have recently reported that neither macular nor RNFL thicknesses are reduced in patients with AD. We believe that this might be due to the exclusion criteria used by these authors, as they excluded patients with optic nerve anomalies assessed with Heidelberg Retinal Tomography, to avoid enrolling patients with glaucoma. However, patients with optic nerve damage due to AD may also have been ruled out by these criteria. The criterion we used to exclude patients with glaucoma was IOP >18 mm Hg or patients receiving glaucoma treatment, similar to other publications [27,30,31].

Average RNFL reduction was recently shown not only in AD subjects but also in MCI compared with controls, and some authors found that RNFL thickness was significantly lower in AD than MCI [32], whereas other groups did not observe statistical significant differences between MCI and AD patients [17,33]. In our study, we found no

Table 3

Intraclass correlation coefficient (ICC) used to determine interobserver reproducibility of manually quantified measurements

Variables	ICC
LCD S	.974
LCD C	.993
LCD I	.978
PTT S	.992
PTT C	.996
PTT I	.995

Abbreviations: S, superior; I, inferior; PTT, prelaminar tissue thickness; LCD, anterior LC surface depth.

statistical differences between AD and MCI patients, but interestingly, the study revealed GCL reduction in all sectors in AD compared to MCI, supporting the idea of correlation between the duration of the disease and macular thinning and optic nerve disease.

If optic nerve damage, displayed as RNFL thinning, is assumed in PiB+ patients and might begin there, we hypothesized that BMO-MRW or LC optic nerve structures should be thinned in those patients. In glaucoma, OCT-derived BMO-MRW analysis provides significantly greater sensitivity [34] and specificity [19] than RNFL, so by this argument, we presumed that BMO-MRW analysis might also be more sensitive in assessing optic nerve damage in AD. We found a significant reduction in average BMO-MRW in the MCI group compared with HC, but no significant thinning was described either in PiB+ or in AD patients compared with HC. Similarly, we found no significant reductions in LC thickness.

We therefore presume that ocular damage might start in the GCL [35]. Macular GCL-IPL reflects the thickness of retinal ganglion cell bodies and dendrites in the retina. In 1986, Hinton et al. [13] provided histopathological evidence of optic neuropathy and degeneration of retinal ganglion cells in AD subjects, and later, in a postmortem study, substantial GCL degeneration was demonstrated in the foveal/parafoveal region in AD. OCT imaging *in vivo* first showed decreased total macular thickness in AD subjects [16,31] and later, when macular segmentation was available, Marziani et al. reported significant reductions in combined RNFL and GCL thickness (RNFL+GCL+IPL) in the macular region [15]. Nevertheless, Cheung et al. [33] suggested that including the RNFL in the GCL analysis in the macular area may influence the sensitivity for revealing GCL abnormalities, so they measured GCL-IPL without including the RNFL and found significant GCL-IPL thinning in AD and MCI patients compared with HC. In accordance with the latest reviews, our study revealed that PiB+ patients had significant GCL thickness reduction, mainly in the temporal sector ($P < .014$) and adds the knowledge that GCL is more affected by thinning than RNFL in MCI subjects. We also found significant IPL thinning in all sectors in AD subjects compared with HC.

Recently, Koronyo et al. [36] described classic plaques of extracellular A β deposits in the retina of patients with AD

Table 4

Comparison of different optical coherence tomography analysis between mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's disease (AD) eyes

Variables	MCI (N = 51)	AD (N = 12)	P
Average RNFL thickness	93.7 (12.5)	99.4 (5.1)	.155
RNFL temporal	65.9 (9.4)	70.0 (6.2)	.411
RNFL temporal-superior	119.5 (16.3)	115.0 (19.0)	.793
RNFL temporal-inferior	139.5 (22.0)	138.7 (10.4)	.774
RNFL nasal	79.6 (18.3)	85.2 (14.4)	.653
RNFL nasal-superior	108.9 (22.1)	124.3 (22.1)	.060
RNFL nasal-inferior	109.7 (27.4)	83.0 (33.71)	.045*
Average BMO-MRW	281.9 (49.9)	326.8 (58.8)	.016*
BMO-MRW temporal	207.7 (52.8)	214.2 (27.6)	.740
BMO-MRW temporal-superior	272.2 (70.1)	273.3 (28.8)	.984
BMO-MRW temporal-inferior	277.6 (69.7)	324.6 (41.2)	.126
BMO-MRW nasal	305.5 (55.2)	383.6 (74.9)	.006*
BMO-MRW nasal-superior	322.4 (74.9)	353.0 (76.3)	.392
BMO-MRW nasal-inferior	342.2 (61.8)	375.6 (69.8)	.245
GCL superior	48.3 (7.1)	44.3 (14.9)	.174
GCL inferior	47.1 (8.5)	44.2 (14.4)	.365
GCL temporal	42.2 (8.4)	39.6 (13.4)	.384
GCL nasal	47.3 (7.8)	43.3 (14.2)	.185
IPL superior	39.1 (4.4)	38.8 (4.1)	.852
IPL inferior	38.5 (4.5)	38.8 (2.9)	.890
IPL temporal	39.6 (4.1)	39.2 (3.8)	.740
IPL nasal	39.7 (4.1)	39.7 (3.3)	.944
ONL superior	63.3 (11.6)	63.5 (12.3)	.086
ONL inferior	60.3 (14.5)	62.5 (18.4)	.652
ONL temporal	68.6 (10.5)	72.9 (7.8)	.203
ONL nasal	68.2 (15.1)	68.3 (16.9)	.923

NOTE. Data for quantitative variables are shown as mean (standard deviation). Analysis was performed using paired Student's t-test for dependent samples.

Abbreviations: RNFL, retinal nerve fiber layer; GCL, ganglion cell layer; BMO-MRW, Bruch's membrane opening–minimum rim width; IPL, inner plexiform layer; ONL, outer nuclear layer.

*P value < .005.

in vitro and marked GCL, INL, and ONL loss in the retinas of patients with AD compared with retinas of matched controls. Our results reflect these findings, as we found significant GCL thinning in the four sectors. On the contrary, some *in vivo* studies displayed controversial GCL measurements using SD-OCT, reporting that RNFL and GCL thickness were unable to distinguish AD dementia from MCI and normal controls in clinically well-characterized series [37,38]. The authors themselves hypothesized that a larger series would be necessary to delineate significant differences between the groups studied. In our opinion, their study has methodological limitations. Although PET imaging was performed as an inclusion criterion for AD, neither the ligand used nor the imaging result are detailed. Furthermore, patients with glaucoma were excluded, but the criteria for exclusion are not clearly or correctly described.

Our study has several limitations. The number of patients is small and the design is cross-sectional. Future studies should include more subjects with early-stage AD and late-stage AD, longitudinal measurements, and disease-specific imaging aimed at detecting retinal amyloid. Correlation with volumetric MRI data (e.g., hippocampus, optical

Table 5
Area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic curve (ROC)

Variables	AUC	P
Average RNFL thickness	.652	.015
RNFL Temporal	.660	.010
RNFL Temporal-superior	.666	.008
RNFL Temporal-inferior	.641	.024
RNFL Nasal	.554	.382
RNFL Nasal-superior	.570	.264
RNFL Nasal-inferior	.488	.844
Average BMO-MRW	.616	.063
GCL superior	.668	.007
GCL inferior	.677	.005
GCL temporal	.699	.001
GCL nasal	.660	.010
IPL superior	.666	.008
IPL inferior	.629	.039
IPL temporal	.612	.072
IPL nasal	.662	.010
ONL superior	.668	.007
ONL inferior	.554	.369
ONL temporal	.670	.006
ONL nasal	.539	.634

NOTE. Analysis with 95% confidence limits for sensitivity and specificity of different optical coherence tomography parameter analysis in mild cognitive impairment (MCI).

Bold values represent the high AUC result.

Abbreviations: RNFL, retinal nerve fiber layer; GCL, ganglion cell layer; BMO-MRW, Bruch's membrane opening–minimum rim width; IPL, inter plexiform layer; ONL, outer nuclear layer.

tract, cortical thickness) may add to the understanding of the relationship between retinal and cerebral neuronal loss. Furthermore, one single vertical optical nerve head scan was selected for the morphometric analysis, whereas the remaining peripheral scans were not evaluated. However, only the highest-quality images and the most centered vertical scan without retinal vasculature, in which borders were more clearly visible, were evaluated. Finally, LC thickness was not evaluated because the contour delineation of the posterior LC surface was broadly less accurate than the other structures.

A potential strength of the study is that the research protocol was undertaken in a real clinical setting, so observations from the present study very likely represent day-to-day clinical practice.

This study confirmed RNFL and GCL damage in AD and MCI patients (enrolled with ^{11}C -PiB measurement) leading us to hypothesize that retinal damage is due to A β deposition within the retina. It is interestingly reported that macular GCL neuronal loss is more strongly related with MCI than RNFL loss, suggesting that RNFL thinning may not occur until severe stages of AD as a consequence of GCL loss in the macula due to a dense population of those cells in this region. However, more evidence of RNFL thinning in patients with AD exists in the literature, but this might be because RNFL analysis was available before GCL measurement.

Larger, longitudinal studies comparing retinal thickness with biomarkers for amyloid and neuronal injury are

required to elucidate the utility of retinal and optic nerve thickness as a screening test and/or prognostic biomarker in early-onset AD.

Acknowledgments

P.S.J. was supported by grants from IDIVAL, Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitario, PI08/0139, PI12/02288, PI16/01652), JPND (DEMTEST PI11/03028) and the CIBERNED program and Siemens Healthineers (Valdecilla Cohort for Memory and Brain Aging).

A.C. conducted the statistical analysis.

The authors would like to thank all the patients and relatives for their generous collaboration.

RESEARCH IN CONTEXT

1. Systematic review: The authors reviewed the literature using traditional (e.g., PubMed). Although several studies using optical coherence tomography (OCT) to analyze eye structures have reported retinal and optic nerve changes in Alzheimer's disease (AD), to the best of our knowledge, this might be the first report that analyzes OCT changes in individuals with cognitive impairment and positive ^{11}C -PiB PET/CT. Even more, this study assessed lamina cribrosa and Bruch's membrane opening–minimum rim width in patients with AD.
2. Interpretation: Our findings confirm OCT damage in patients with AD and led to an integrated hypothesis describing the pathophysiology of AD.
3. Future directions: The article hypothesizes that retinal damage is due to A β deposition within the retina and proposes a framework for the generation of new hypotheses and the conduct of additional studies. It is interestingly reported that macular neuronal loss is more strongly related with early AD than retinal nerve fiber layer loss.

References

- [1] Alzheimer's Association. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement* 2016;12:459–509.
- [2] 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* 2011;7:263–9.
- [3] Kang S, Jeong H, Baek JH, Lee SJ, Han SH, Cho HJ, et al. PiB-PET imaging-based serum proteome profiles predict mild cognitive

- impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2016; 53:1563–76.
- [4] Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011;7:280–92.
 - [5] Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius Erik, Bjerke E, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 2016;15:673–84.
 - [6] De Souza LC, Chupin M, Lamari F, Jardel C, Leclercq D, Colliot O, et al. CSF tau markers are correlated with hippocampal volume in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2012;33:1253–7.
 - [7] Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, et al. Cerebrospinal fluid β -amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the brain. *Arch Neurol* 2009;66:382–9.
 - [8] Khan TK, Alkon DL. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid and neuroimaging biomarkers: diagnostic accuracy and relationship to drug efficacy. *J Alzheimers Dis* 2015;46:817–36.
 - [9] Tu P, Fu H, Cui M. Compounds for imaging amyloid- β deposits in an Alzheimer's brain: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2015; 25:413–23.
 - [10] Hart NJ, Koronyo Y, Black KL, Koronyo-Hamaoui M. Ocular indicators of Alzheimer's: exploring disease in the retina. *Acta Neuropathol* 2016;132:767–87.
 - [11] Bayhan HA, Aslan Bayhan S, Celikbilek A, Tanik N, Gürdal C. Evaluation of the chorioretinal thickness changes in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography. *Clin Exp Ophthalmol* 2015;43:145–51.
 - [12] Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, Porrello KV, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging* 1996;17:385–95.
 - [13] Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-nerve degeneration in Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 1986;315:485–7.
 - [14] Kirbas S, Turkyilmaz K, Anlar O, Tufekci A, Durmus M. Retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer disease. *J Neuroophthalmol* 2013;33:58–61.
 - [15] Marziani E, Pomati S, Ramolfo P, Cigada M, Giani A, Mariani C, 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* 2013; 54:5953–8.
 - [16] Moschos MM, Markopoulos I, Chatziralli I, Rouvas A, Papageorgiou SG, Ladas I, et al. Structural and functional impairment of the retina and optic nerve in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2012;9:782–8.
 - [17] 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;420:97–9.
 - [18] Eraslan M, Cerman E, Yildiz Balci S, Celiker H, Sahin O, Temel A, et al. The choroid and lamina cribrosa is affected in patients with Parkinson's disease: enhanced depth imaging optical coherence tomography study. *Acta Ophthalmol* 2016;94:e68–75.
 - [19] Rebolledo G, Casado A, Oblanca N, Muñoz-Negrete FJ. The new Bruch's membrane opening-minimum rim width classification improves optical coherence tomography specificity in tilted discs. *Clin Ophthalmol* 2016;10:2417–25.
 - [20] Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol* 2007; 6:734–46.
 - [21] Jimenez-Bonilla JF, Banzo I, De Arcocha-Torres M, Quirce R, Martínez-Rodríguez I, Sánchez-Juan P, et al. Amyloid imaging with 11C-PIB in patients with cognitive impairment in a clinical setting: a visual and semiquantitative analysis. *Clin Nucl Med* 2016; 41:e18–23.
 - [22] Dulku S. Generating a random sequence of left and right eyes for ophthalmic research. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53:6301–2.
 - [23] Oberwahrenbrock T, Saidha S, Martínez-Lapiscina EH, Lagreze WA, Albrecht P. The APOSTEL recommendations for reporting quantitative optical coherence tomography studies. *Neurology* 2016; 86:2303–9.
 - [24] Mandrekar J. Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment. *J Thorac Oncol* 2010;5:1315–6.
 - [25] Parisi V, Restuccia R, Fattapposta F, Mina C, Bucci MG, Pierelli F. Morphological and functional retinal impairment in Alzheimer's disease patients. *Clin Neurophysiol* 2001;112:1860–7.
 - [26] Zabel P, Kałużny JJ, Wilkość-Dębczyńska M, Gębska-Tołoczko M, Suwała K, Kucharski R, et al. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in Patients with Alzheimer's disease: a comparison of eyes of patients with Alzheimer's disease, primary open-angle glaucoma, and preperimetric glaucoma and healthy controls. *Med Sci Monit* 2019;25:1001–8.
 - [27] Kwon JY, Yang JH, Han JS, Kim DG. Analysis of the retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Korean J Ophthalmol* 2017;31:548–56.
 - [28] He X-F, Liu Y-T, Peng C, Zhang F, Zhuang S, Zhang JS, et al. Optical coherence tomography assessed retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Int J Ophthalmol* 2012;5:401–5.
 - [29] Lu Y, Li Z, Zhang X, Ming B, Jia J, Wang R, et al. Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: evidence in optical coherence tomography. *Neurosci Lett* 2010;480:69–72.
 - [30] den Haan J, Janssenb SF, van de Kreekeb JA, Scheltensa P, Verbraakb FD, Bouwman FH. Retinal thickness correlates with parietal cortical atrophy in early-onset Alzheimer's disease and controls. *Alzheimers Dement (Amst)* 2017;10:49–55.
 - [31] Cunha JP, Proença R, Dias-Santos A, Almeida R, Águas H, Alves M, et al. OCT in Alzheimer's disease: thinning of the RNFL and superior hemiretina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017; 255:1827–35.
 - [32] Ascaso F, Cruz N, Modrego P, 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;261:1522–30.
 - [33] Cheung CYL, Ong YT, Hilal S, Ikram MK, Low S, Ong YL, et al. Retinal ganglion cell analysis using high-definition optical coherence tomography in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2015;5:45–56.
 - [34] Danthurebandara VM, Sharpe GP, Hutchison DM, Denniss J, Nicoleta MT, McKendrick AM, et al. Enhanced structure-function relationship in glaucoma with an anatomically and geometrically accurate neuroretinal rim measurement. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;56:98–105.
 - [35] Vidinova CN, Gouguchkova PT, Vidinov KN. Ganglion cell complex map for detecting early damage in high tension and normal tension glaucoma. *Klin Monbl Augenheilkd* 2016;233:72–8.
 - [36] Koronyo Y, Biggs D, Barron E, Boyer DS, Pearlman JA, Au WJ. Retinal amyloid pathology and proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI Insight* 2017;2.
 - [37] Pillai JA, Bermel R, Bonner-Jackson A, Rae-Grant A, Fernandez H, Bena J, et al. Retinal nerve fiber layer thinning in Alzheimer's disease: a case-control study in comparison to normal aging, Parkinson's disease, and non-Alzheimer's dementia. *Am J Alzheimers Dis Other Dement* 2016;31:430–6.
 - [38] Lad EM, Mukherjee D, Stinnett SS, Cousins SW, Potter GG, Burke JR. Evaluation of inner retinal layers as biomarkers in mild cognitive impairment to moderate Alzheimer's disease. *PLoS One* 2018; 13:e0192646.



Review

Ganglion cell layer thinning in Alzheimer's Disease

Alicia López-de-Eguileta, MD¹, Andrea Cerveró, MD¹, Ainara Ruiz de Sabando, MD², Pascual Sánchez-Juan, MD, PhD³, Alfonso Casado MD and PhD^{1*}.

*These authors share senior authorship

1. Department of Ophthalmology, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, University of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' (IDIVAL), Santander, Spain.

2. Navarrabiomed, Pamplona, Spain.

3. Neurology Department and Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, University of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' (IDIVAL), Santander, Spain.

Correspondence to: Dr Alfonso Casado, Ophthalmology Department, Hospital Marqués de Valdecilla. Av. Valdecilla, 25, 39008 Santander, Cantabria. Phone number: +34637781505; e-mail: casadorojo@hotmail.es.

Dr. Casado reports was supported by grants from IDIVAL.

Dr. López-de-Eguileta reports no disclosures.

Dr. Sánchez-Juan was supported by grants from IDIVAL, Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitario, PI08/0139, PI12/02288, PI16/01652, JPND (DEMTEST PI11/03028) and the CIBERNED program and Siemens Healthineers (Valdecilla Cohort for Memory and Brain Aging).

Received: date; Accepted: date; Published: date

Abstract: The main advantages of optical retinal imaging may allow researchers to achieve deeper analysis of retinal ganglion cells (GC) *in vivo* using optical coherence tomography (OCT). Using this device to elucidate the impact of Alzheimer's disease (AD) on retinal health with the aim to identify a new AD biomarker, a large amount of studies have analysed GC in different stages of the disease. Our review highlight recent knowledge into measuring retinal morphology in AD making distinctive between whether those studies included patients with clinical dementia stage or also mild cognitive impairment (MCI), which selection criteria were applied to diagnosed patients included and which device of OCT was employed. Despite several differences, previous works found a significant thinning of GC layer in patients with AD and MCI. In the long-term, an important future direction is to achieve a specific ocular biomarker with enough sensitivity to reveal preclinical AD disorder and to monitor progression.

Keywords: Ganglion cells; optical coherence tomography; Alzheimer's disease; mild cognitive impairment

1. Introduction

Optical coherence tomography (OCT) is the most widely imaging device used in ophthalmic clinical practice (1). This non-invasive, fast and inexpensive technology employs retroreflected light to achieved cross-sectional structure images of the retina and the anterior eye chamber with high resolution. OCT imaging reveals individual neuronal layers of the retina, including ganglion cell layer (GCL) (2). Initially, the main utility of GCL assessment was the diagnosis and treatment of ocular diseases such as glaucoma (2, 3). There is growing evidence to incorporate OCT imaging into clinical diagnosis managing neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease (AD),

Parkinson's disease, multiple sclerosis (4-7). The aim of this review is to analyze the use of ganglion cell layer measurement in AD.

AD is a the most prevalent neurodegenerative disorder and the leading cause of dementia in the elderly (8). Definitive diagnosis of AD is given by pathological features like intracellular neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau protein (p-Tau) and extracellular beta amyloid (A β) protein deposits throughout the brain (9,10). These well-known neuropathological hallmarks of AD initiated decades before it is clinically expressed, where there might be a window to treat AD (11,12). Current diagnostic modalities for AD biomarkers are restricted by high costs and limited availability such as the use of magnetic resonance imaging (MRI) or positron emission tomography (PET), as well as standardization problems and invasiveness of cerebrospinal fluid (CSF) biomarkers), or suboptimal specificity and sensitivity (genetic markers, serum amyloid) (13-15). These limitations are the leading cause of the investigation of new AD biomarkers involving the evaluation of the eye.

It has long been demonstrated that patients with early AD suffer impairments in visual acuity (16), contrast sensitivity (17), color perception (18), visual field (19) and motion perception (20). Initially, visual disorders in AD were thought to be exclusively due to parietal and primary visual cortex pathology. However, increasing evidence showed that the anterior visual pathway degeneration also plays a role in AD pathology. As previously stated, OCT is able to provide a morphological assessment of the retinal layers and optic nerve structures, and several studies have been performed to assess differences between AD and control patients. GCL reduction might be the most common finding in the literature, although the assessment of this retinal layer is recently feasible.

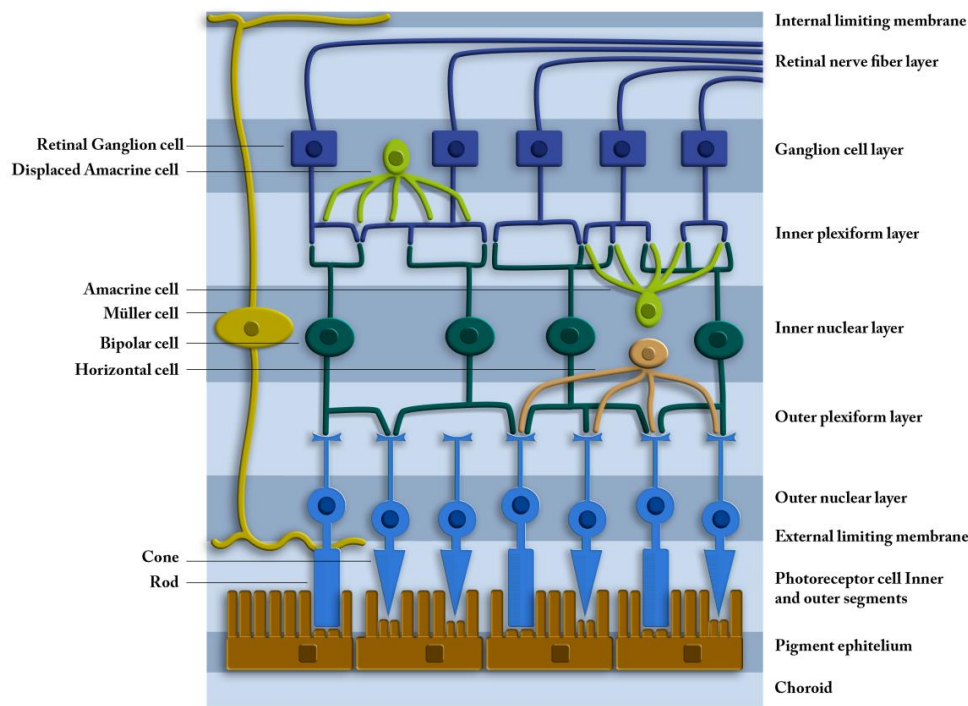
2. MATERIAL AND METHODS

A systematic review was performed. The authors reviewed the literature using PubMed. The online citation index service PubMed was searched using the keywords optical coherence tomography and mild cognitive impairment or Alzheimer's disease. Manuscripts including those keywords with available OCT technology published in peer-reviewed publications were considered for this review.

We identified 24 eligible studies, involving 808 probable AD patients, all of which were cross-sectional studies. Neither retrospective meta-analyses nor OCT angiography studies were included in this review. In original research articles, the revisions considered the structures of the retina investigated, the significance of the results, the use of AD biomarkers, which OCT device was employed, the design of the study, demographics, groups sizes and amount of eyes included and the characteristics of the different groups of the studies.

3. RESULTS

OCT constitutes an important advancement and powerful tool to evaluate alterations of the optic nerve and the retina and provides an opportunity for objective quantitative measurements and in vivo real-time images of ocular structures related with neurological diseases. This review included 24 most important AD and OCT studies that focused in retinal GCL in order to present clear results easy to be understood. As it could be depicted in Table 1, most of these studies found a significant thinning of the retinal nerve fiber layer (RNFL) and GCL between probable AD patients and healthy controls (HC), using both Cirrus and Spectralis HD-OCT. Figure 1 illustrates the structure of the retina that is analysed with OCT. Different densities of nuclear layers due to neuron bodies are reflected in OCT images and allows this devices to perform the layers' segmentation.



88

89 **Figure 1.** Schematic view of the retina. The upper layers are the innermost layers, in contact with
 90 vitreous humor. The lower layers of the scheme are those that are in contact with the choroid. From
 91 the innermost to the outermost, the layers of the retina are: retinal nerve fiber layer, ganglion cell
 92 layer, inner plexiform layer, inner nuclear layer, outer plexiform layer, outer nuclear layer, external
 93 limiting membrane and photoreceptor layer.

94 Table 1. Studies evaluating retinal biomarkers in Alzheimer's disease using optical coherence
 95 tomography. Optical coherence tomography (OCT), ganglion cell layer (GCL), Alzheimer's disease
 96 (AD), mild cognitive impairment (MCI), Subjective Memory Complaints (SMC), Healthy controls
 97 (HC), Normotensive glaucoma (NTG), Retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL),
 98 ganglion cell inner plexiform layer (GCIPL), Bruch's membrane opening-minimum rim width
 99 (BMO-MRW), inner plexiform layer (IPL), outer nuclear layer (ONL), inner nuclear layer (INL), outer
 100 plexiform layer (OPL), lamina cribrosa (LC), magnetic resonance imaging (MRI), positron emission
 101 tomography (PET), computed tomography (CT). Significant results are showed as (%), P).

Source	OCT exam: layers	Macular or GCL results	AD biomarkers	OCT platform	Cross-sectional	Subjects	Sample size (eyes)
Iseri et al 2006	RNFL and macula	Thinner (23%, $P < 0.001$)	No	Zeiss Stratus	Yes	AD HC	AD 28 eyes ($n = 14$) HC 30 eyes ($n = 15$) Age-matched
Moschos et al 2012	RNFL and macula	Thinner (7%, $P = 0.034$)	No	Zeiss Stratus	Yes	AD HC	AD ($n = 30$) HCs ($n = 30$) Age and sex matched
Marziani et al 2013	RNFL+GCL combined	Thinner (12.8%, $P = 0.008$)	No	RTVue100 and Heidelberg	Yes	AD HC	AD ($n = 21$) HC ($n = 21$) Age-matched

g Spectralis							
<i>Garcia-Martin et al. 2014</i>	RNFL and macula	Mild AD had a significant decrease in RNFL (9.24%, $P=0.015$), of some macular regions and in the total macular volume (9.34%, $P=0.024$).	No	Topcon 3D OCT-100	Yes	Mild AD HC	mildAD ($n=20$) HC ($n=28$) Age-matched
<i>Ascaso et al. 2014</i>	RNFL and macula	RNFL was thinner in -MCI vs HC (8.5%, $P=0.001$) -AD vs MCI (24.8%, $P=0.001$) -AD vs HC (37.5%, $P=0.001$) Macular volume in mm ³ : - HC had greater macular volume vs AD (12.4%, $P=0.001$)	No	Zeiss Stratus	Yes	AD MCI HC	AD ($n=18$) MCI ($n=21$) HC ($n=41$)
<i>Eraslan et al. 2015</i>	RNFL and GCL	-RNFL Thinner in AD and NTG vs HC (8%, $P=0.004$). -GCL (8.8%, $P=0.001$) - No difference between AD and NTG.	No	RTVue 100	Yes	NTG AD HC	NTG ($n=18$) AD ($n=20$) HC ($n=20$)
<i>Bayhan et al. 2015</i>	GCL and choroid	Reduced choroidal (12.1%, $P=0.01$) and macular GCL (5.9%, $P=0.001$) thicknesses in AD - AD had GCIPL thinning in all sectors (AVG 5.4%, $P=0.039$) and RNFL in Superior quadrant vs HC (6.5%, $P=0.001$) - GCIPL reduction in MCI (5.1%, $P=0.009$)	CT or MRI	Zeiss Stratus	Yes	AD HC	AD ($n=31$) HC ($n=30$) Age matched
<i>Cheung et al. 2015</i>	RNFL and GCIPL		CT or MRI	Zeiss Cirrus	Yes	MCI AD HC	AD ($n=100$) MCI ($n=41$) HC ($n=123$)
<i>Pillai et al. 2016</i>	RNFL, macula GCL	No differences ($P=0.35$ and $P=0.17$)	MRI	Zeiss Cirrus	Yes	AD MCI NoAD Dementia Parkinson HC	AD ($n=21$) MCI ($n=21$) no AD dementia ($n=20$) PD ($n=20$) HC ($n=34$) Age-/sex-matched
<i>Garcia Martin et al. 2016</i>	RNFL, GCL, INL, IPL, ONL, OPL	Thinner RNFL (5.6%, $P=0.004$), GCL (2.8%, $P=0.04$) and IPL (2.3%, $P=0.018$)	No	Heidelberg Spectralis	Yes	AD HC	AD ($n=150$) HC ($n=75$) Age-matched
<i>Cunha et al. 2016</i>	RNFL and GCIPL	Thinner (8.1%, $P=0.001$) (8.4%, $P=0.003$)	Yes	Topcon 3D OCT-2000	Yes	AD HC	AD 45 eyes ($n=24$) HC 48 eyes ($n=24$) Age-matched
<i>Liu et al. 2016</i>	GCIPL	Thinner (2.1%, $P=0.003$)	Yes. MRI	Zeiss Cirrus	Yes	MCI AD HC	MCI ($n=68$) AD ($n=47$) HC ($n=65$)

<i>Choi et al. 2016</i>	RNFL and GCIPL	-RNFL thinner in temporal sector (14.9%, $P=0.04$). -GCIPL thinner in inferior sector (14.5%, $P=0.004$).	Yes	Zeiss cirrus	Yes	MCI AD HC	AD ($n = 42$) MCI ($n = 26$) HC ($n = 66$) Age-matched, age as a covariate
<i>Giménez Castejon et al. 2016</i>	Macula	Macular thickness reduction in MCI (5.7%, $P=0.05$) vs HC and in SMC vs HC (4.9%, $P=0.05$)	No	Zeiss cirrus	Yes	SMC MCI HC	SMC $n=24$ MCI $n=33$ HC $n=25$
<i>Snyder et al. 2016</i>	IPL	Thicker (5.8%, $P=0.029$)	Yes (Florbetapir PET imaging)	Heidelberg Spectralis	Yes	SMC	SMC ($n = 63$) Age-matched, age as a covariate
<i>Kwon et al. 2017</i>	RNFL and macula	RNFL average thinner in AD vs MCI (7.8%, $P=0.011$). Macular thickness was thinner from HC to MCI and to AD, but no significant.	Yes (MRI)	Zeiss Cirrus	Yes	Gender and Race unknown	AD ($n=15$) MCI ($n=15$) HC ($n=15$)
<i>Ferrari et al. 2017</i>	RNFL and GCIPL	Thinning (6.4%, $P=0.023$) (15.9%, $P=0.009$)	No	Heidelberg Spectralis	Yes	MCI AD HC	AD ($n=39$) MCI ($n=27$) HC ($n=49$) Age-matched, age as a covariate
<i>Golzan et al. 2017</i>	RNFL and GCL	GCL thinner (5.2%, $P=0.02$) No RNFL differences	Yes (MRI, Florbetapir PET imaging)	Heidelberg Spectralis	Yes	AD HC	AD $n=73$ HC $n=28$ Age-matched, age as a covariate
<i>Poroy et al. 2018</i>	RNFL and macula	Foveal thickness and volume were higher in AD (5.5%, $P=0.023$). RNFL and other macular region not different.	No	Zeiss Stratus	Yes	AD HC	AD ($n = 21$) HC ($n = 25$) Age-matched
<i>den Haan et al. 2018</i>	RNFL and macula	No differences	Yes (MRI, PET, CSF)	Heidelberg Spectralis	Yes	AD HC	Early onset AD ($n=15$) HC ($n = 15$)
<i>Lad et al. 2018</i>	RNFL, GCIPL	No differences	No	Heidelberg Spectralis	Yes	MCI AD HC	MCI ($n = 15$) AD ($n = 15$) HC ($n = 18$)
<i>Uchida et al. 2018</i>	ONL	No differences	Yes (MRI)	Zeiss Cirrus	Yes	AD MCI non-AD Dementia HC	AD ($n = 24$) MCI ($n = 22$) non-AD dementia ($n = 20$) HC ($n = 36$)
<i>Santos et al. 2018</i>	RNFL, GCL, OPL, ONL, IPL, INL	RNFL volume ($P=0.05$), OPL temporal ($P=0.04$), ONL ($P=0.026$) and IPL volume ($P=0.020$) and inferior thinner over a 27-month follow-up	Yes (Florbetapir PET imaging, head CT)	Heidelberg Spectralis	No, 27 months	Preclinical AD HC	Preclinical AD ($n = 56$) Age-matched
<i>López de Eguileta et al. 2019</i>	RNFL, GCL, BMO-MRW, IPL, ONL, LC	RNFL (2.8%, $P=0.004$), GCL (8.7%, $P=0.006$), IPL (5.2%, $P=0.011$) & ONL (7.9%, $P=0.010$) showed significant thinning in eyes of	Yes (11C-labeled Pittsburgh Compound -B PET)	Heidelberg Spectralis	Yes	MCI AD HC	MCI ($n = 51$) AD ($n = 12$) HC ($n = 63$)

patients with positive 11C-PiB PET/CT	imaging, head CT)
--	----------------------

Currently, two main OCT devices are used in the clinical practice and they performed the retinal segmentation analysis differently, as it can be appreciated in Figure 2. Figure 2A represents the OCT imaging with Cirrus spectral domain SD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA), whereas Figure 2B shows the OCT imaging with Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Cirrus SD-OCT segmented GCL including the inner plexiform layer (IPL) whilst Spectralis accomplish retinal segmentation including GCL solely. Studies made using OCT Cirrus refers to GCL as ganglion cell-inner plexiform layer (GCIPL) and those using Spectralis label it as GCL. This fact elucidate why GCL and GCIPL thickness measurements should not be compared between them. Along this text and in Table 1, GCIPL or GCL are differently used according to Cirrus or Spectralis OCT respectively. Figure 3 and Figure 4 represent OCT images of a healthy control (HC) and an AD patient respectively, with Cirrus OCT assessment in the top of both figures and Spectralis OCT assessment in the bottom. At the top of both figures, Cirrus OCT images showed segmentation lines ("Horizontal tomography") and deviation maps. In Figure 3 no damage was demonstrated. However, in Figure 4, three and two sectors of color map can be appreciated in right and left eye, respectively. Similarly, deviation and thickness maps are exhibited also damaged. Similarly, in the bottom of both figures, Spectralis OCT exhibit a complete red circle for a HC and yellow-red colors for a AD patient. Currently, this OCT device did not have a normative database to compare GCL with normal population. For this reason, studies using Spectralis OCT must include HC. Nevertheless, Spectralis OCT yields 64 values of GCL of the entire macula.

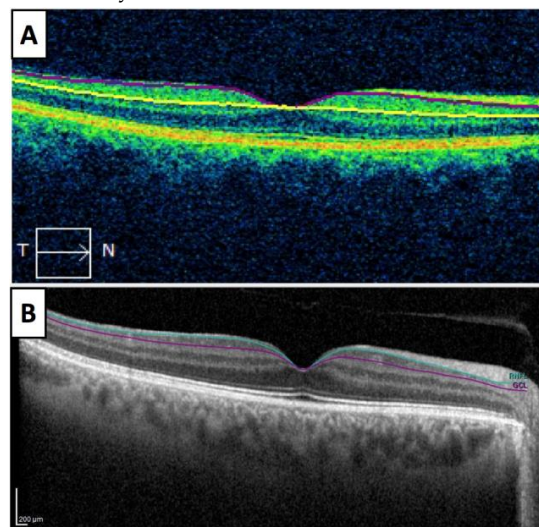


Figure 2. Horizontal scans of Cirrus optical coherence tomography (OCT) (A) and Spectralis OCT (B). A: Segmentation of ganglion cell layer (GCL) with Cirrus OCT includes GCL and inner plexiform layer: GCIPL, between purple and yellow lines. B: Segmentation of GCL using Spectralis OCT includes GCL in an exclusive manner, between blue and purple lines.

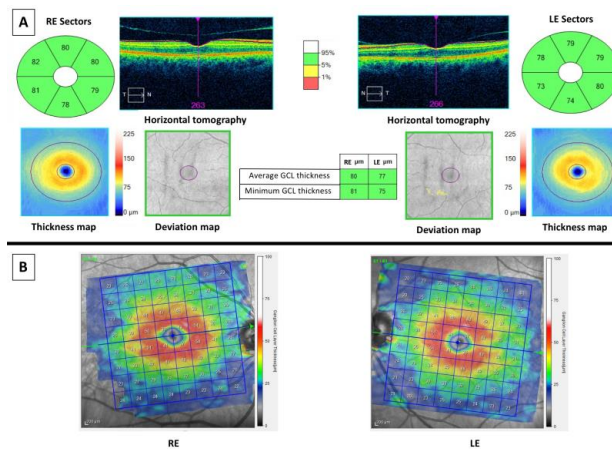


Figure 3. OCT results of a 67 years-old male healthy control. At left: images of the Right eye. At right: images of the Left eye. A: Cirrus optical coherence tomography (OCT) results. Top middle (horizontal tomography): images of horizontal scans to confirm correct segmentation of ganglion cell-inner plexiform layer (GCIPL). Green color values (in microns): Sectors of GCIPL compared with normative database. The thickness map shows the thickness in a color map (the caption of the colors is at right of the maps) whereas the deviation map showed with yellow or red color if a pixel of GCIPL is low of fifth or first percentile, respectively. Middle columns showed the average and the minimum values (in microns) of GCIPL of both eyes, colored with green if they are thicker than fifth percentile. B: Spectralis OCT showed a color map (the caption of the colors is at right of the maps) and values of thicknesses (in microns) of GCL.

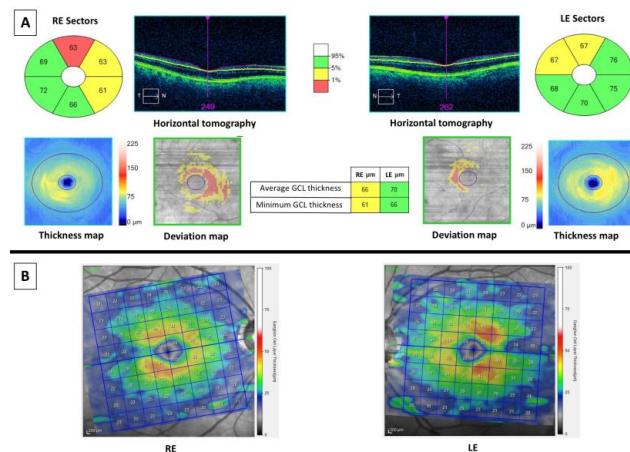


Figure 4. OCT results of a 67 years-old male MCI patient. At left: images of the Right eye (RE). At right: images of the Left eye (LE). A: Cirrus optical coherence tomography (OCT) results. Top middle (horizontal tomography): images of horizontal scans to confirm correct segmentation of ganglion cell-inner plexiform layer (GCIPL). Six sectors color values: Sectors of GCIPL compared with normative database. Three and two sectors were thinner than fifth percentile in RE and LE respectively. The thickness map shows the thickness in a color map (the caption of the colors is at right of the map) whereas the deviation map showed with yellow or red color if a pixel of GCIPL is low of fifth or first percentile, respectively. Middle columns showed the average and the minimum values of GCIPL of both eyes, colored with yellow for the RE as they are thinner than fifth percentile. B: Spectralis OCT showed a color map (the caption of the colors is at right of the maps) and values of

150 thicknesses (in microns) of GCL. Comparing with Figure 3B, where a red ring could be appreciated,
 151 the RE of this patient is no red colored and LE is little red colored.

152 In recent years, increasing efforts have been made to discover new biomarkers with the aim to
 153 improve AD diagnosis in early stages. Hinton et al stated the feasible damage of the eye due to AD
 154 and provided histopathological evidence of optic neuropathy and degeneration of retinal GCL in
 155 AD subjects (21). Some years later, post-mortem studies showed that degeneration of the GCL
 156 occurs preferentially in superior and inferior sectors, as well as in the central retina, particularly in
 157 the temporal foveal region (22, 23). Lately, both A β and neurofibrillary tangles were detected in some
 158 parts of the visual system in probable AD patients, including the retina (24,25). Interestingly, in a
 159 mouse model of AD, A β deposits were specifically in the GCL (26). In assent with this finding,
 160 Koronyo et al demonstrated histopathologically that GCL damage due to AD might be related with
 161 intracellular neurofibrillary tangles of p-Tau and extracellular A β protein deposits throughout the
 162 retina and not related with other etiologies of dementia (27). Extensive loss of ganglion cells and
 163 their axons has been reported by histopathologic studies in eyes from probable AD patients and AD
 164 animal models (28). There might be two mechanisms which explain GCL damage. The first
 165 proposed that cerebral pathologic features of AD may affect the visual pathway and cause
 166 retrograde degeneration of the optic nerve (29), and subsequently damage of the GCL, because AD
 167 pathologic features can be found in subcortical visual centers, including the lateral geniculate
 168 nucleus and superior colliculus (30). In agreement with this hypothesis, GC abnormalities also were
 169 associated with non-AD dementias (31-33), strokes (34,35) and other neurodegenerative diseases
 170 including multiple sclerosis (36-38), neuromyelitis optica (37), and cerebral atrophy (39).
 171 Alternatively, it is also possible that AD pathologic features occur simultaneously both in the brain
 172 and the retina, leading to thinning of the retinal neuronal layers. A β pathologic characteristics,
 173 including A β plaques and specific signs of neuroinflammation, have been identified in ocular tissues
 174 of both probable AD patients (24,40) and animal models of AD (27, 41-45).

175 Several studies reported retinal and optic nerve changes in patients with AD using OCT
 176 imaging *in vivo*, generating interest in the use of these parameters as a biomarkers for early detection
 177 of AD (46-48). Retinal changes may be an early event in the course of AD, and retinal OCT may
 178 provide insights for assessing neurodegeneration in the brain (29). As previously stated, OCT is a
 179 reliable non-invasive, trans-pupillary technique that provides high-resolution cross-sectional images
 180 of RNFL and macular volume (49-52). RNFL thickness is believed to inform about axonal loss,
 181 whereas macular volume reflects neuronal loss of GCL, since the neuronal bodies and dendrites are
 182 located in the GCL, mostly in the macula (49).

183 Initially, evidence of total macular thickness decreased in patients with AD was demonstrated
 184 with time domain OCT (TD-OCT) (53) and stratus OCT (49,54). Subsequently it was confirmed by
 185 several independent groups using modern OCT devices, such as spectral-domain OCT (55-59).

186 Spectral-domain OCT (SD-OCT), a Fourier domain OCT technique, provided dramatically
 187 increased scanning speed and higher axial resolution when compared to TD-OCT technology
 188 allowing the study of GCL and analysis of the GCIPL layers (52, 60). The classical site of GCIPL
 189 measurement in the studies is macula lutea, where GCL has more than one cell layer (53). As a
 190 consequence of macular segmentation program development, Marziani et al reported significant
 191 reductions in combined RNFL and GCL thickness (RNFL+GCL+IPL) in the macular region (60).
 192 However, the authors were not able to determinate which layer was most affected by AD due to
 193 poor segmentation OCT system. Lately, a number of studies suggested including RNFL in the
 194 GCIPL analysis in the macular area may influence the sensitivity for revealing GCL damage, so they
 195 measured GCIPL without including the RNFL, and found significant GCIPL thinning in AD
 196 (52,61-64,67-69) and MCI patients compared to HC (61,64).

197 On the contrary, some *in vivo* studies displayed controversial GCL measurements using
 198 SD-OCT reporting that RNFL and GCL thickness might not be unable to distinguish AD dementia
 199 from MCI and normal controls in clinically well-characterized series (65,66). The authors themselves
 200 hypothesized that a larger series would be necessary to delineate significant differences between the
 201 groups studied. In our opinion, their study has methodological limitations. Although PET imaging

was performed as an inclusion criterion for AD, neither the ligand used nor the imaging result are detailed. Furthermore, patients with glaucoma were excluded, but the criteria for exclusion are not clearly or correctly described.

Another controversial study is from Ferrari et al (69). They described significant group differences regarding GCIPL, being reduced in moderate AD versus mild AD and versus MCI. However, non-significant GCIPL thinning was detected in MCI compared with HC. One explanation may be that they explored GCIPL in the peripapillary area, and this is not ideal site to detect early GCL loss due to the poor representation of ganglion cells at this location. Macular GCIPL thinning may be a more sensitive marker of earlier neurodegeneration in MCI and AD than evaluation of the RNFL.

Recently, our group have published an investigation about retinal damage in AD assessed by Spectralis OCT, reporting promising results. The study included highly characterized patients with detailed neurocognitive testing and positive to ^{11}C -labeled Pittsburgh Compound-B with positron emission tomography (64) analysis that could readily differentiate between participants with normal cognition from dementia due to AD. AD and MCI patients were recruited and compared among them and HC. The investigation reported a significant thinning of RNFL, GCL, IPL and outer nuclear layer (ONL). Interestingly, temporal sector of GCL showed the greatest area under the curve value.

Aforementioned studies have some design limitations. One significant gap could be that the thinning of GCL might be due to other eye conditions such as glaucoma, arteritic or non-arteritic optic neuropathy, or other neurological disease. For this reason, results of GCL thinning might be used to understand the pathophysiology of AD, but they should be carefully interpreted. Future techniques might provide more specific information about retinal ganglion cell degeneration in AD. Besides, definition of MCI was used meeting research diagnostic criteria for probable AD MCI or with evidence of the AD pathophysiological process (in most cases defined by a positive amyloid-PET) following the recommendations of the National Institute on Aging-Alzheimer's Association (70), but criteria should be consistent. In addition, all studies screened the eyes with the OCT technology after pupil dilation, except one (64), which might constitute a limitation. Finally, it is important to focus that his review revealed that limited research had focused exclusively on screening the eyes of study subjects with and with no cognitive decline using optical coherence tomography, neuropsychological tests, and in vivo neuroimaging techniques. Besides, few studies used MRI, PET or AD biomarkers for the diagnosis in the AD group.

4. CONCLUSIONS

The investigation of eye biomarkers in AD using OCT assessment remains an area of active research. Reviewing literature about this subject, it is feasible to find a large amount of studies, and several of them show significant damage of the GCL or GCIPL in probable AD patients, even during the early stage of the disease and using different OCT devices such as Cirrus and Spectralis. We consider these results might provide more detailed information about the physiopathology of AD and the relevance of GCL in neurological diseases. In terms of diagnosis, current available techniques show temporal region thinning of GCL might be the most reliable indicator of a possible MCI or AD patient. It is necessary to be aware that this thinning could be consequence of other ocular or neurological circumstance. However, today might be soon to consider optic nerve or retinal biomarkers as a reliable biomarkers of AD, as a limited number of studies have compared OCT retinal measures with neuroimaging biomarkers and very few longitudinal within-subject studies of retinal structural changes in AD are published.

REFERENCES

1. Puliafito, C.A. OCT Angiography: The next era of OCT technology emerges. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retina* 2014, 45, 360.

- 251 2. Levkovitch-Verbin H. Retinal ganglion cell apoptotic pathway in glaucoma: Initiating and
252 downstream mechanisms. *Prog Brain Res.* 2015;220:37-57.
- 253 3. Casado A, Cerveró A, López-de-Eguileta A, Fernández R, Fonseca S, González JC, et al.
254 Topographic correlation and asymmetry analysis of ganglion cell layer thinning and the retinal
255 nerve fiber layer with localized visual field defects. *PLoS One.* 2019;14(9):e0222347.
- 256 4. Martinez-Lapiscina EH, Arnow S, Wilson JA, Saidha S, Preiningerova JL, Oberwahrenbrock T, et
257 al. Retinal thickness measured with optical coherence tomography and risk of disability worsening
258 in multiple sclerosis: a cohort study. *The Lancet Neurology.* 2016; 15(6):574–84.
- 259 5. Cabrera DeBuc D, Somfai GM, Koller A. Retinal microvascular network alterations: Potential
260 biomarkers of cerebrovascular and neural diseases. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*
261 2017;312:201-212.
- 262 6. Živković M, Dayanir V, Stamenović J, Ljubisavljević S, Pražić A, Zlatanović M, et al. Retinal
263 ganglion cell/inner plexiform layer thickness in patients with Parkinson's disease. *Folia*
264 *Neuropathol.* 2017;55:168-173.
- 265 7. Cerveró A, Casado A, Riancho J. Retinal changes in amyotrophic lateral sclerosis: looking at the
266 disease through a new window. *J Neurol.* 2019;2. [Epub ahead of print]
- 267 8 Alzheimer's Association. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*
268 2016;12:459–509.
- 269 9. Tapiola T, Alafuzoff I, Herukka SK, Parkkinen L, Hartikainen P, Soininen H, et al. Cerebrospinal
270 fluid b-amyloid 42 and tau proteins as biomarkers of Alzheimer-type pathologic changes in the
271 brain. *Arch Neurol* 2009;66:382–9.
- 272 10. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke E, et al. CSF and blood
273 biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*
274 *Neurol* 2016;15:673-684.
- 275 11. Goedert, M.; Spillantini, M.G. A century of Alzheimer's disease. *Science* 2006;314,777–781.
- 276 12. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the
277 preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on
278 Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease.
279 *Alzheimers Dement* 2011;7:280–92.

- 280 13. Khan TK, Alkon DL. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid and neuroimaging biomarkers:
281 diagnostic accuracy and relationship to drug efficacy. *J Alzheimers Dis* 2015;46:817–836.
- 282 14. Tu P, Fu H, Cui M. Compounds for imaging amyloid- β deposits in an Alzheimer's brain: a patent
283 review. *Expert Opin Ther Pat* 2015;25:413–423.
- 284 15. Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, Klunk WE, Weiner MW, Zetterberg H, et al. The role of
285 biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. *Alzheimer disease and associated disorders*.
286 2006;20:6–15.
- 287 16. Uhlmann RF, Larson EB, Koepsell TD, Rees TS, Duckert LG. Visual impairment and cognitive
288 dysfunction in Alzheimer's disease. *J Gen Intern Med*. 1991;6:126–32.
- 289 17. Cronin-Golomb A, Corkin S, Rizzo JF, Cohen J, Growdon JH, Banks KS. Visual dysfunction in
290 Alzheimer's disease: relation to normal aging. *Ann Neurol*. 1991; 29:41–52
- 291 18. Pache M, Smeets CH, Gasio PF, Savaskan E, Flammer J, Wirz-Justice A, et al. Colour vision
292 deficiencies in Alzheimer's disease. *Age Ageing*. 2003; 32:422–6.
- 293 19. Trick GL, Trick LR, Morris P, Wolf M. Visual field loss in senile dementia of the Alzheimer's type.
294 *Neurology*. 1995;45:68–74.
- 295 20. Gilmore GC, Wenk HE, Naylor LA, Koss E. Motion perception and Alzheimer's disease. *J*
296 *Gerontol*. 1994;49:52–7.
- 297 21. Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-nerve degeneration in Alzheimer's disease. *N*
298 *Engl J Med* 1986;315:485–487.
- 299 22. Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, et al. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional
300 neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging* 1996;17:385e395.
- 301 23. Blanks JC, Torigoe Y, Hinton DR, Blanks RHI. Retinal pathology in Alzheimer's disease. I.
302 Ganglion cell loss in foveal/parafoveal retina. *Neurobiol Aging* 1996;17:377e384.
- 303 24. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov AV, Miller CA, Ko MK, Black KL, et al.
304 Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo
305 optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *NeuroImage* 2011;4:204–217.
- 306 25. Parnell M, Guo L, Abdi M, Cordeiro MF. Ocular manifestations of Alzheimer's disease in animal
307 models. *International Journal of Alzheimer's Disease* 2012;2012:786494.

- 308 26. Ning A, Cui J, To E, Ashe KH, Matsubara J. Amyloid-beta deposits lead to retinal degeneration in
309 a mouse model of Alzheimer disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:5136-43.
- 310 27. Koronyo Y, Biggs D, Barron E, Boyer DS, Pearlman JA, Au WJ. Retinal amyloid pathology and
311 proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI Insight* 2017;2.
- 312 28. Williams PA, Thirgood RA, Oliphant H, Frizzati A, Littlewood E, Votruba M, et al. Retinal
313 ganglion cell dendritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.*
314 2013;34:1799-806.
- 315 29. Ascaso FJ, Cruz N, Modrego PJ, Lopez-Anton R, Santabárbara J, Pascual LF, et al. Retinal
316 alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an optical coherence tomography
317 study. *J Neurol.* 2014;261:1522-30.
- 318 30. Leuba G, Saini K. Pathology of subcortical visual centres in relation to cortical degeneration in
319 Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 1995;21:410e422.
- 320 31. Moreno-Ramos T, Benito-León J, Villarejo A, Bermejo- Pareja F. Retinal nerve fiber layer thinning
321 in dementia associated with Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and Alzheimer's
322 disease. *J Alzheimers Dis.* 2013;34:659e664.
- 323 32. Moschos MM, Tagaris G, Markopoulos I, Margetis I, Tsapakis S, Kanakis M, et al. Morphologic
324 changes and functional retinal impairment in patients with Parkinson disease without visual loss.
325 *Eur J Ophthalmol.* 2011;21:24-9.
- 326 33. Garcia-Martin E, Satue M, Fuertes I, Otin S, Alarcia R, Herrero R, et al. Ability and
327 reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomog- raphy to detect retinal nerve fiber layer
328 atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmology.* 2012;119:2161-7.
- 329 34. Wang D, Li Y, Wang C, Xu L, You QS, Wang YX, et al. Localized retinal nerve fiber layer defects
330 and stroke. *Stroke.* 2014;45:1651-6.
- 331 35. Kalesnykas G, Tuulos T, Uusitalo H, Jolkkonen J. Neurodegeneration and cellular stress in the
332 retina and optic nerve in rat cerebral ischemia and hypoperfusion models. *Neuroscience.*
333 2008;155:937-47.
- 334 36. Frohman EM, Fujimoto JG, Frohman TC, Calabresi PA, Cutter G, Balcer LJ. Optical coherence
335 tomography: a window into the mechanisms of multiple sclerosis. *Nat Clin Pract Neurol.*
336 2008;4:664-75.

- 337 37. Monteiro MLR, Fernandes DB, Apóstolos-Pereira SL, Callegaro D. Quantification of retinal
338 neural loss in patients with neuromyelitis optica and multiple sclerosis with or without optic neuritis
339 using Fourier-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:3959-66.
- 340 38. Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, et al. Relation of
341 visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. *Ophthalmology.*
342 2006;113:324-32.
- 343 39. Ong YT, Hilal S, Cheung CY, Venketasubramanian N, Niessen WJ, Vrooman H, et al. Retinal
344 neurodegeneration on optical coherence tomograph y and cerebral atrophy. *Neurosci Lett.*
345 2015;584:12-6.
- 346 40. 38.131. Goldstein LE, Muffat JA, Cherny RA, et al. Cytosolic b- amyloid deposition and
347 supranuclear cataracts in lenses from people with Alzheimer's disease. *Lancet.* 2003;361: 1258e1265.
- 348 41. Grimaldi A, Brighi C, Peruzzi G, Ragozzino D, Bonanni V, Limatola C, et al. Inflammation,
349 neurodegeneration and protein aggregation in the retina as ocular biomarkers for Alzheimer's
350 disease in the 3xTg-AD mouse model. *Cell Death Dis.* 2018;9:685.
- 351 42. Cohen RM, Rezai-Zadeh K, Weitz TM, Rentsendorj A, Gate D, Spivak I, et al. A transgenic
352 Alzheimer rat with plaques, tau pathology, behavioral impairment, oligomeric ab, and frank
353 neuronal loss. *J Neurosci.* 2013;33:6245-56.
- 354 43. Schön C, Hoffmann NA, Ochs SM, Burgold S, Filser S, Steinbach S, et al. Long-term in vivo
355 imaging of fibrillar tau in the retina of P301S transgenic mice. *PLoS One.* 2012;7:e53547.
- 356 44. Liu B, Rasool S, Yang Z, Glabe CG, Schreiber SS, Ge J, et al. Amyloid-peptide vaccinations
357 reduce {beta}-amyloid plaques but exacerbate vascular deposition and inflammation in the retina of
358 Alzheimer's transgenic mice. *Am J Pathol.* 2009;175:2099-110.
- 359 45. Perez SE, Lumayag S, Kovacs B, Mufson EJ, Xu S. Beta-amyloid deposition and functional
360 impairment in the retina of the APPswe/ PS1DeltaE9 transgenic mouse model of Alzheimer's
361 disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50:793-800.
- 362 46. Zabel P, Kałużny JJ, Wiłkość-Dębczyńska M, Gębska-Tołoczko M, Suwała K, Kucharski R, et al.
363 Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in Patients with Alzheimer's disease: a comparison
364 of eyes of patients with Alzheimer's disease, primary open-angle glaucoma, and preperimetric
365 glaucoma and healthy controls. *Med Sci Monit.* 2019;25:1001-8.

- 366 47. Paquet C, Boissonnot M, Roger F, Dighiero P, Gil R, Hugon J. Abnormal retinal thickness in
367 patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2007;420:97–9.
- 368 48. Parisi V, Restuccia R, Fattaposta F, Mina C, Bucci MG, Pierelli F. Morphological and functional
369 retinal impairment in Alzheimer's disease patients. *Clin Neurophysiol.* 2001;112:1860–1867.
- 370 49. Rebolleda G, Díez-Alvarez L, Casado A, Sánchez-Sánchez C, de Dompablo E, González-López JJ,
371 et al. OCT: New perspectives in neuro-ophthalmology. *Saudi J Ophthalmol.* 2015;29:9-25.
- 372 50. Kromer R, Serbecic N, Hausner L, Froelich L, Beutelspacher SC. Comparison of visual evoked
373 potentials and retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer's disease. *Front Neurol.* 2013;4:203.
- 374 51. Lu Y, Li Z, Zhang X, Ming B, Jia J, Wang R, et al. Retinal nerve fiber layer structure abnormalities
375 in early Alzheimer's disease: evidence in optic coherence tomography. *Neurosci Lett.*
376 2010;480:69–72.
- 377 52. Singh SR, Lupidi M, Mishra SB, Paez-Escamilla M, Querques G, Chhablani J. Unique optical
378 coherence tomographic features in age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* 2020;21.
- 379 53. Iseri PK, Altinas O, Tokay T, Yuksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal
380 morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *J Neuroophthalmol.*
381 2006;26:18–24
- 382 54. Moschos MM, Markopoulos I, Chatziralli I, Rouvas A, Papageorgiou SG, Ladas I, et al. Structural
383 and functional impairment of the retina and optic nerve in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*
384 2012;9:782–788.
- 385 55. Cunha JP, Proença R, Dias-Santos A, Almeida R, Águas H, Alves M, et al. OCT in Alzheimer's
386 disease: thinning of the RNFL and superior hemiretina. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*
387 2017;255:1827-1835.
- 388 56. Gupta VB, Chitranshi N, Haan JD, Mirzaei M, You Y, et al. Retinal changes in Alzheimer's
389 disease-integrated prospects of imaging, functional and molecular advances. *Prog Retin Eye Res.*
390 2020;2:100899.
- 391 57. Chan VTT, Sun Z, Tang S, Chen LJ, Wong A, Tham CC, et al. Spectral-Domain OCT
392 Measurements in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology.*
393 2019;126:497-510.

- 394 58. den Haan J, Verbraak FD, Visser PJ, Bouwman FH. Retinal thickness in Alzheimer's disease: A
395 systematic review and meta-analysis. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2017;6:162-170.
- 396 59. Wu SZ, Masurkar AV, Balcer LJ. Afferent and Efferent Visual Markers of Alzheimer's Disease: A
397 Review and Update in Early Stage Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* 2020.
- 398 60. Marziani E, Pomati S, Ramolfo P, Cigada M, Giani A, Mariani C, et al. Evaluation of retinal nerve
399 fiber layer and ganglion cell layer thickness in Alzheimer's disease using spectral- domain optical
400 coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5953–5958.
- 401 61. Cheung CYL, Ong YT, Hilal S, Ikram MK, Low S, Ong YL, et al. Retinal ganglion cell analysis
402 using high-definition optical coherence tomography in patients with mild cognitive impairment and
403 Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2015;5:45–56.
- 404
- 405 62. Cheung CY, Ong YT, Ikram MK, Ong SY, Li X, Hilal S, et al. Microvascular network alterations in
406 the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2014;10:135–142.
- 407 63. Cheung CY, Ong YT, Ikram MK, Chen C, Wong TY. Retinal microvasculature in Alzheimer's
408 disease. *J Alzheimers Dis*. 2014;42:339–352.
- 409 64. López-de-Eguileta A, Lage C, López-García S, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierczak M,
410 et al. Ganglion cell layer thinning in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid
411 PET. *Alzheimers Dement (NY)*. 2019;5:570-578.
- 412 65. Pillai JA, Bermel R, Bonner-Jackson A, Rae-Grant A, Fernandez H, Bena J, et al. Retinal Nerve
413 Fiber Layer Thinning in Alzheimer's Disease: A Case-Control Study in Comparison to Normal
414 Aging, Parkinson's Disease, and Non-Alzheimer's Dementia. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*.
415 2016;31:430-6
- 416 66. Lad EM, Mukherjee D, Stinnett SS, Cousins SW, Potter GG, Burke JR. Evaluation of inner retinal
417 layers as biomarkers in mild cognitive impairment to moderate Alzheimer's disease. *PLoS One* 2018;
418 13:e0192646.
- 419 67. Garcia-Martin E, Bambo MP, Marques ML, Satue M, Otin S, Larrosa JM, Polo V, Pablo LE.
420 Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients
421 with Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol*. 2016;94:e454-9.

- 422 68. Bayhan HA, Aslan Bayhan S, Celikbilek A, Tanik N, Gurdal C. Evaluation of the chorioretinal
423 thickness changes in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography. Clin
424 Experiment Ophthalmol. 2015;43, 145-151.
- 425 69. Ferrari C, Lombardi G, Polito C, Lucidi G, Bagnoli S, Piaceri I, et al. Alzheimer's Disease
426 Progression: Factors Influencing Cognitive Decline. J Alzheimers Dis. 2018;61:785–791.
- 427 70. McKhanna GM, Knopmanc DS, Chertkowd H, Hymanf BT, Jack Jr CR, Kawas CH, et al. The
428 diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on
429 Aging- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease.
430 Alzheimers Dement. 2011;7: 263–269.

431



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms
and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license
(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

432

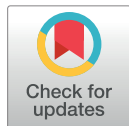
RESEARCH ARTICLE

Evaluation of choroidal thickness in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET

Alicia López-de-Eguileta^{1*}, Carmen Lage², Sara López-García², Ana Pozueta², María García-Martínez², Martha Kazimierczak², María Bravo², María de Arcocha-Torres³, Ignacio Banzo³, Julio Jimenez-Bonilla³, Andrea Cerveró¹, Alexander Goikoetxea⁴, Eloy Rodríguez-Rodríguez², Pascual Sánchez-Juan², Alfonso Casado^{1*}

1 Department of Ophthalmology, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, University of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla', Santander, Spain, **2** Neurology Department and Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, University of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla', Santander, Spain, **3** Nuclear Medicine Department, University Hospital Marqués de Valdecilla, University of Cantabria, Molecular Imaging Group—IDIVAL, Santander, Spain, **4** Department of Anatomy, University of Otago, Dunedin, New Zealand

* alicialeguileta@gmail.com (ALE); casadorojo@hotmail.es (AC)



OPEN ACCESS

Citation: López-de-Eguileta A, Lage C, López-García S, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierczak M, et al. (2020) Evaluation of choroidal thickness in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. PLoS ONE 15(9): e0239484. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484>

Editor: Demetrios G. Vavvas, Massachusetts Eye & Ear Infirmary, Harvard Medical School, UNITED STATES

Received: June 3, 2020

Accepted: September 7, 2020

Published: September 21, 2020

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484>

Copyright: © 2020 López-de-Eguileta et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Abstract

Objective

To assess and compare the involvement of choroidal thickness (CT) in patients with mild cognitive impairment (MCI) and dementia due to Alzheimer's disease (AD) defined by amyloid PET and healthy controls (HC).

Methods

Sixty-three eyes from 34 AD patients [12 eyes (19.0%) with dementia and 51 eyes (80.9%) with MCI], positive to ¹¹C-labelled Pittsburgh Compound-B with positron emission tomography (¹¹C-PiB PET/CT), and the same number of sex- and age-paired HC were recruited. All participants underwent enhanced depth imaging optical coherence tomography (EDI-OCT) assessing CT at 14 measurements from 2 B-scans. Paired Student t-test was used to compare CT measurements between MCI, dementia and sex- and age-paired HC. A univariate generalized estimating equations model (GEE) test was performed to compare MCI and dementia individually with all HC included.

Results

Compared with HC, eyes from patients with positive ¹¹C-PiB PET/CT showed a significant CT thinning in 5 selected locations (in foveal thickness in vertical scan, in temporal scan at 1500μm, in superior scan at 500μm and in inferior scan at 1000μm and 1500μm, $p = 0.020$ – 0.045) whilst few significant CT reduction data was reported in MCI or dementia individually versus HC. However, the GEE test identified significant CT thinning in AD compared with all HC included ($p = 0.015$ – 0.046).

Data Availability Statement: All relevant data are within the manuscript and its Supporting Information files.

Funding: Dr. Sánchez-Juan was supported by grants from IDIVAL, Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitario, PI08/0139, PI12/02288, PI16/01652, JPND (DEMTEST PI11/03028) and the CIBERNED program and Siemens Healthineers (Valdecilla Cohort for Memory and Brain Aging). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: Dr. Sánchez-Juan received funding from Siemens Healthineers. This does not alter our adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

Conclusions

To our knowledge, the present study is the first measuring CT in eyes from MCI and dementia eyes positive to ^{11}C -PiB PET/CT reporting a significant trend towards CT thinning in MCI patients which became more pronounced in dementia stage. We support further investigation involving larger and prospective OCT studies in AD population characterized with available biomarkers to describe whether choroidal vascular damage occurs specifically in prodromal stages of AD.

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder and is the most common cause of dementia and one of the leading sources of morbidity and mortality in the aging population [1]. Globally, an estimated 47 million people are affected by dementia and the incidence doubles every 10 years after age 60 years approximately [2].

The hallmark neuropathologic changes of AD are extracellular beta amyloid beta plaques and neurofibrillary tangles (NFT) comprised of intracellular hyperphosphorylated tau protein (p-tau). These neuropathological changes are believed to start 15–20 years before the onset of clinical symptoms of dementia [3]. A definitive diagnosis of AD requires histopathologic post-mortem examination.

Clinical criteria for the diagnosis of AD have evolved over time and current criteria have been established by the National Institute on Aging and the Alzheimer's Association (NIA-AA) updated in 2011 [4, 5]. The ability to accurately diagnosis AD has improved with the emergence of new laboratory biomarkers and imaging techniques to measure such neuropathologic damage in vivo [6]. A β protein brain deposition is detected by decreased 42-amino acid form of A β (A β -42) levels in cerebrospinal fluid (CSF) and positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) imaging using ^{11}C -labeled Pittsburgh Compound-B (^{11}C -PiB) ligand [3, 7], which is the most studied and validated PET marker of A β . A proper application of ^{11}C -PiB PET/CT would be useful to predict the conversion of MCI to AD. The sensitivity and specificity of ^{11}C -PiB-PET for predicting conversion to AD ranged from 83.3% to 100% and 41.1% to 100%, respectively [8]. Besides, biomarkers of tau deposition (a component of NFT) include increased CSF total tau (T-tau) and phosphorylated tau (P-tau). In addition to the molecular biomarkers, there are several topographic biomarkers used to assess brain changes that correlate with the regional distribution of neuronal dysfunction associated with AD [9]. Neurodegeneration is related to cortical atrophy on magnetic resonance imaging (MRI) and hypometabolism on fluorodeoxyglucose-PET/CT (FDG-PET/CT) [10]. In fact, AD biomarkers have shown many potential clinical benefits, such as preclinical detection of AD and an accurate differentiation of AD from dementias of other etiologies [11, 12]. However, restrictions still exist in clinical practice (such as standardization problems and invasiveness in the case of CSF markers, and high costs and limited availability in the case of amyloid PET) and they are not yet recommended for routine diagnostic purposes [10, 13].

Nowadays, research is focused on the diagnosis of AD at early stages in an effort to define properly prodromal and preclinical forms of AD for design early-intervention clinical trials in order to apply potential treatments before the damage is established. Mild cognitive impairment (MCI) is an intermediate stage between normal aging and early dementia characterized by cognitive deficits primarily affecting memory with preserved overall cognitive and

functional abilities and the absence of a dementia [3, 14]. The specific designation of MCI due to AD is used when a biomarker associated with AD is present [15].

Investigation of new biomarkers has involved the evaluation of the eye, as AD pathogenesis is associated with impairments in visual function [16]. Several evidence indicates that AD also affects the retina, a developmental outgrowth of the brain [17–19], possibly causing these symptoms. Among the characteristics it shares with the brain, the retina contains neurons, astroglia, microglia, microvasculature with similar morphological and physiological properties [17–20].

Optical coherence tomography (OCT) is a non-invasive imaging device used clinically to evaluate a variety of ophthalmic and systemic diseases, as glaucoma or multiple sclerosis [21, 22]. Hence, several reports demonstrated retinal nerve fiber layer (RNFL) thinning [23, 24], retinal ganglion cell layer (RGCL) degeneration [24, 25] and choroidal thinning [26–30] in patients with dementia or MCI due to AD. The choroid is a vascular structure lying under retinal pigmentary epithelium (RPE) and is regulated by the autonomic nervous system. The choroidal blood nourishes the outer layers of the retina (photoreceptors) and the RPE which maintains the outer blood-retinal barrier [31]. Several researchers observed A β deposits in choroidal vascular tissue in a mouse model of AD and in post-mortem analysis of the eyes from AD patients. Based on these findings, they proposed that accumulation of A β in the choroid may cause vascular damage in accordance with the development of angiopathy in the brain due to A β deposits [32, 33]. It is currently possible to investigate *in vivo* the involvement of CT in AD. It could be assessed using spectral-domain OCT (SD-OCT), with the enhanced depth imaging modality (EDI) technology [34]. Choroidal thinning was reported in dementia patients [26–29] and in MCI patients [30] through spectral-domain OCT (SD-OCT) using EDI technology. However, these previous studies suffered some limitations. Firstly, they only used neuropsychological tests (mainly MMSE) for AD diagnosis among their inclusion criteria. Besides, all these studies were performed in patients with dementia due to AD, except one of them which included MCI patients [30].

For this reason, we conducted a study to assess anatomical variations in the CT in patients with MCI and dementia due to AD defined by positive ¹¹C-PiB PET/CT, to determine whether CT is reduced compared with control subjects.

Methods

Patient/subject groups

We conducted a cross-sectional study including patients in the AD continuum (MCI and dementia) with positive ¹¹C-PiB PET/CT (MCI and AD) compared with cognitively healthy age- and gender-matched controls recruited consecutively from the Neurology and Ophthalmology departments of the University Hospital Marqués de Valdecilla (UHMV), between May 2016 and June 2018. The study cohort of the present submission overlaps with our previous work [25].

Healthy control subjects (HC) were volunteers recruited among family members of patients attending the ophthalmology clinic with a complaint of dry eye.

The study protocol and the written consent was approved by the Ethics Committee of the UHMV, and it was performed in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki. Written consent forms were signed by all participants prior to examinations. All patients enrolled were able to understand the information contained in the written consent and they were not legally incompetent.

Inclusion and exclusion criteria. All were outpatients that met research diagnostic criteria for probable AD MCI or AD dementia with evidence of the AD pathophysiological process

(in our case defined by a positive amyloid-PET) following the recommendations of the National Institute on Aging-Alzheimer's Association [35]. Clinical diagnoses as MCI or dementia were established by a committee of four neurologists (SLG, PSJ, ERR, and CL). The differentiation of dementia from MCI rests on the determination of whether or not there is significant interference in the ability to function at work or in usual daily activities.

All patients were assessed to exclude other neurological or psychiatric etiologies and they underwent a comprehensive neuropsychological battery conducted by two trained neuropsychologists (AP, MGM), that included the main cognitive domains (memory, language, praxis, visual perception, and frontal functions). Besides, all patients underwent ^{11}C -PiB PET/CT at the Nuclear Medicine Department of the UHMV. ^{11}C -PiB synthesis and image acquisition have been described elsewhere [36]. PET/CT scans were visually interpreted by two experienced nuclear medicine and radiology specialists (JJB, IB) as positive or negative for cortical PiB uptake (Fig 1).

All participants underwent a thorough ophthalmic examination on the day of OCT imaging, by order of eye assessments: best-corrected visual acuity (Snellen charts), anterior segment biomicroscopy, refraction, OCT measurements, axial length (AL) assessment, IOP quantification with Goldmann applanation tonometer (GAT) and dilated fundus examination. Participants received one drop of tropicamide 1% and phenylephrine per eye for pupil dilation after IOP measurement to avoid modifications in choroidal thickness due to phenylephrine instillation as it has been previously reported [37]. The refractive error was recorded using an autorefractometer Canon RK-F1 (Canon USA Inc., Lake Success, NY, USA). Axial length (AL) was measured by Lenstar LS 900 (Haag Streit AG, Koeniz, Switzerland). Each individual was randomised to decide which eye was to be examined first, using the method described by Dulku [38].

Exclusion criteria included a refractive error > 6.0 or < -6.0 diopters (D) of spherical equivalent or 3.0 D of astigmatism, any history or showing evidence of ocular surgery, ocular disease such as central serous chorioretinopathy, pachychoroid spectrum, uveitis and related macular degeneration, best corrected visual acuity as poor as 20/40, intraocular pressure (IOP) ≥ 18 mmHg, past history of raised IOP, neuroretinal rim notching, or optic disc hemorrhages. Similarly, other exclusion criteria included clinically relevant opacities of the optic media and

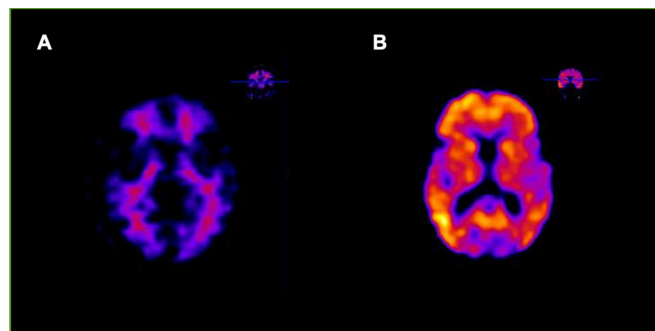


Fig 1. Positron emission tomography/computed tomography imaging using ^{11}C -labeled Pittsburgh Compound-B ligand. Positron emission tomography/computed tomography (PET/CT) imaging tracers provide a quantitative in vivo measure of the insoluble cortical beta amyloid ($A\beta$) load. ^{11}C -Pittsburgh compound B (^{11}C -PiB) shows a nanomolar affinity for the extracellular and intravascular fibrillar deposits of $A\beta$ and a low affinity toward the amorphous amyloid deposits, soluble $A\beta$, and intracellular NFTs. Negative amyloid-PET (A) and positive amyloid-PET (B).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.g001>

low-quality images due to unstable fixation, or severe cataract. Patients with mild to moderate cataract might be enrolled in the study, but only high-quality images were included. All acquired spectral domain-OCT data sets had a quality score(Q)>25. Subjects with a history of neurological or psychiatric disorder, any significant systemic illness or other serious chronic systemic diseases such as diabetes, nephrological diseases and hemodialysis, poor collaboration due to neurological dementia stage (some patients could not complete the evaluation because they became fatigued or they were not able to follow the instructions) or unstable medical condition (e.g., active cardiovascular disease), and current use of any medications known to affect cognition (e.g. sedative narcotics) were also excluded.

Optical coherence tomography assessment

OCT measurements were taken using Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Dossenheim, Germany). OCT examinations were performed by an ophthalmologist (AC), who was blinded to neurological status. The examinations included one horizontal and vertical non-isotropic scans, that measures 8741 μm , resulting in 8741 x 8741 μm^2 dimensions. CT measurements were taken between 5 and 6 p.m. hours in all subjects [39]. Participants were asked not to consume caffeine for at least 12h before examination.

CT was measured by two raters (AL, AC). The border of CT was defined as extending from the outer portion of the hyperreflective line (corresponding to the RPE) to the inner surface of the sclera. CT was measured at 14 different locations (Fig 2): at the fovea (with horizontal and vertical scan: F_H and F_V , respectively), and at 500, 1000 and 1500 μm from the fovea in the nasal ($N_{500\mu\text{m}}$, $N_{1000\mu\text{m}}$ and $N_{1500\mu\text{m}}$, respectively), temporal ($T_{500\mu\text{m}}$, $T_{1000\mu\text{m}}$ and $T_{1500\mu\text{m}}$, respectively), superior ($S_{500\mu\text{m}}$, $S_{1000\mu\text{m}}$ and $S_{1500\mu\text{m}}$, respectively), and inferior ($I_{500\mu\text{m}}$, $I_{1000\mu\text{m}}$ and $I_{1500\mu\text{m}}$, respectively) quadrants, as published previously [37].

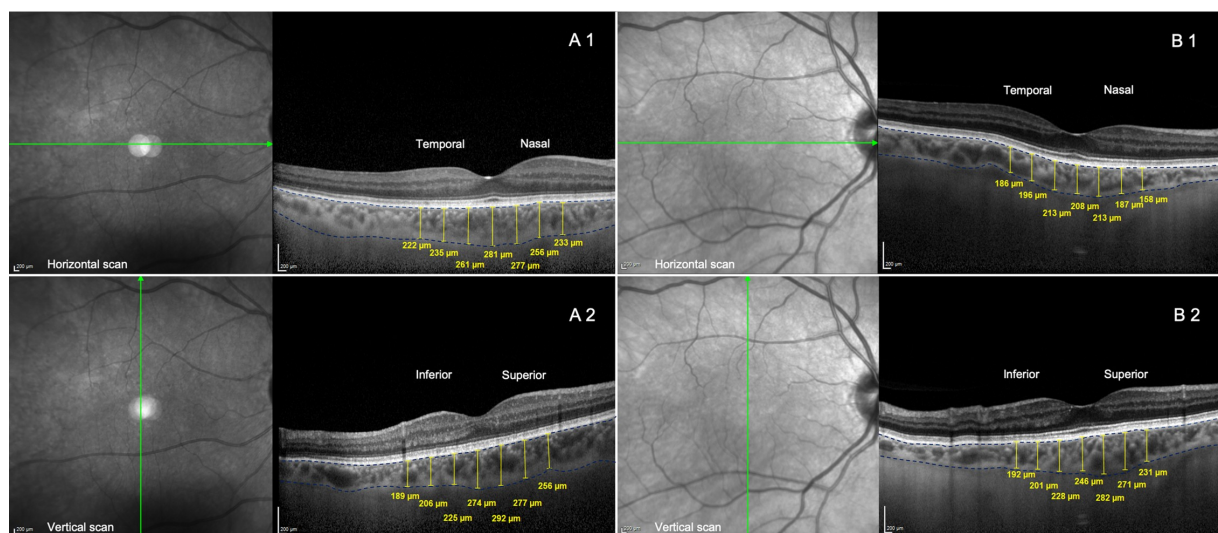


Fig 2. Choroidal thickness measurements by EDI-OCT. A representation of choroidal thickness (CT) measurements in the right eye that could be depicted in a patient with Alzheimer disease (A) and in the sex- and age-paired control eye (B) by optical coherence tomography. (1) CT measurements performed in the horizontal scan: subfoveal and at 500 μm , 1000 μm and 1500 μm from the fovea to nasal and temporal area. (2) CT assessment in the vertical scan: subfoveal and at 500 μm , 1000 μm and 1500 μm from the fovea to superior and inferior area.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.g002>

Statistical analysis

A 1-sample Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the normality of data distribution. All tested data were normally distributed, except for sex. Paired Student t-test was used to compare different sectors of CT. The Demographic and clinical participants' characteristics differences were assessed with Wilcoxon test. The correlation between the OCT findings and the severity of cognitive impairment through MMSE was analyzed by Pearson correlation coefficients.

As both eyes from some patients were included in this study, a univariate generalized estimating equations model (GEE) was used to adjust for these within-patient inter-eye correlations [40, 41]. It was non-viable to include both eyes in some cases due to dementia stage (both eyes assessment was hampered by severe dementia symptoms). Intraclass correlation coefficient (ICC) was used to determine the interobserver reproducibility of manually quantified measurements of CT.

A receiver operating characteristic curve was used to assess the discrimination value of the OCT analyses. We used the area under the receiver operating characteristic curves (AUCs) to assess the ability of CT to discriminate AD/MCI from HC [42].

All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics V.20.0 (International Business Machine Corporation, Armonk, NY, USA). The level of statistical significance was set at p value less than 0.05.

Results

Overall, 51 MCI eyes (80.9%) and 12 dementia (19.0%) eyes from 34 patients (from 28 and 6 patients respectively) and 63 eyes from 32 HC were consecutively evaluated in the final analysis based on inclusion and exclusion criteria.

Demographic and clinical characteristics of patients and controls are summarized in Table 1. There were no significant differences among the two groups regarding age, sex, best-corrected visual acuity, intraocular pressure, and axial length measurements. Mean age was 73.1 ± 6.0 years (age range: 57–85 years). All eyes included were phakic.

Table 2 shows the comparison of CT analysis between PiB+ patients and control eyes. Firstly, MCI and dementia patients were compared altogether with HC. CT showed significant reduction across PiB+ compared to HC in vertical scans in foveal thickness ($244.9 \pm 87.3 \mu\text{m}$ in PiB+ and $279.9 \pm 113.5 \mu\text{m}$ in HC, $p = 0.040$), superior scan at $S_{500\mu\text{m}}$ ($230.5 \pm 85.9 \mu\text{m}$ in PiB+ and $267.8 \pm 116.8 \mu\text{m}$ in HC, $p = 0.026$) and inferior scan at $I_{1000\mu\text{m}}$ ($243.5 \pm 77.8 \mu\text{m}$ in PiB+ and $281.8 \pm 108.9 \mu\text{m}$ in HC, $p = 0.020$) and at $I_{1500\mu\text{m}}$ ($239.7 \pm 76.9 \mu\text{m}$ in PiB+ and $273.4 \pm 109.7 \mu\text{m}$ in HC, $p = 0.045$). We found a significant thinning of the CT in horizontal

Table 1. Demographic and clinical participant's characteristics of Alzheimer disease eyes and control eyes (126 eyes of 66 individuals).

	Patients ^a (N = 63)	Controls (N = 63)	P	MCI (N = 51)	Dementia (N = 12)
Age (years)	73.5 (6.0)	73.28 (6.0)	0.998	73.2 (6.2)	73.6 (5.5)
Male eyes (%)	31 (49.2)	31 (49.2)	1	27 (52.9)	4 (33.3)
Spherical equivalent (Diopters)	0.53 (1.10)	0.58 (1.22)	0.797	0.61 (1.22)	0.41 (0.62)
BCVA	20/29 (0.34)	20/26 (0.17)	0.259	20/28 (0.35)	20/33 (0.32)
Axial length (mm)	23.2 (0.8)	23.2 (0.9)	0.816	23.2 (0.8)	22.9 (0.7)
IOP	13.7 (3.9)	12.8 (2.8)	0.154	14.0 (4.1)	12.5 (3.2)

BCVA, best corrected visual acuity; IOP, intraocular pressure; MCI, mild cognitive impairment; AD, Alzheimer disease.

^a Patients means MCI and dementia patients due to AD altogether.

Data for quantitative variables are shown as mean (standard deviation). Sex differences were assessed with Fisher's test. Rest of analysis was performed using Wilcoxon test.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.t001>

Table 2. Comparison of choroidal thickness analysis between Alzheimer PiB+ patients altogether and control eyes, mild cognitive impairment patients and control eyes and Alzheimer disease patients and controls.

	Patients ^a (n = 63)	HCS (n = 63)	P	MCI (n = 51)	HCS (n = 51)	P	Dementia (n = 12)	HCS (n = 12)	P [*]
CT T 1500μm	235.4 (18.6)	266.9 (100.3)	0.037*	240.5 (75.0)	263.6 (85.6)	0.151	213.5 (92.5)	280.6 (152.0)	0.104
CT T 1000μm	242.8 (83.9)	272.7 (109.1)	0.056	248.4 (81.6)	270.7 (93.2)	0.178	218.9 (93.0)	281.5 (165.8)	0.164
CT T 500μm	250.5 (88.1)	287.4 (140.2)	0.058	253.8 (85.8)	285.6 (130.9)	0.145	236.5 (99.7)	295.1 (181.3)	0.195
F H	253.7 (88.7)	279.7 (115.0)	0.121	256.8 (87.6)	277.7 (95.1)	0.233	241.2 (97.4)	288.2 (182.8)	0.333
CT N 500μm	241.1 (88.6)	267.7 (117.9)	0.124	244.0 (87.9)	265.0 (98.4)	0.254	228.5 (94.2)	279.1 (184.8)	0.301
CT N 1000μm	225.9 (90.8)	256.3 (116.9)	0.088	231.3 (91.6)	254.0 (96.9)	0.227	202.8 (87.1)	265.8 (185.0)	0.218
CT N 1500μm	200.9 (88.6)	229.23 (113.7)	0.105	206.5 (90.9)	227.8 (98.4)	0.253	176.9 (77.3)	235.3 (169.6)	0.232
CT S 1500μm	217.0 (84.4)	240.1 (102.4)	0.132	221.6 (80.5)	239.6 (90.4)	0.292	197.9 (100.7)	242.3 (146.5)	0.237
CT S 1000μm	226.9 (87.1)	252.7 (112.9)	0.123	232.2 (83.9)	251.4 (97.4)	0.294	205.3 (100.5)	257.8 (167.8)	0.215
CT S 500μm	230.5 (85.9)	267.8 (116.8)	0.026*	234.2 (83.7)	268.41 (101.9)	0.058	215.5 (97.1)	265.5 (170.8)	0.271
F V	244.9 (87.3)	279.9 (113.5)	0.040*	250.5 (86.0)	279.4 (98.8)	0.116	222.1 (92.7)	282.3 (163.3)	0.193
CT I 500μm	249.2 (84.6)	278.4 (111.9)	0.083	252.1 (82.6)	278.5 (99.7)	0.156	237.7 (95.2)	278.1 (157.6)	0.331
CT I 1000μm	243.5 (77.8)	281.8 (108.9)	0.020*	245.8 (74.2)	283.2 (95.8)	0.040*	233.8 (93.9)	276.0 (155.0)	0.304
CT I 1500μm	239.7 (76.9)	273.4 (109.7)	0.045*	243.6 (75.3)	275.1 (96.9)	0.083	223.8 (84.7)	266.6 (156.9)	0.348

CT, choroidal thickness; MCI, mild cognitive impairment; AD, Alzheimer disease; HCs, healthy controls; T, temporal; N, nasal; S, superior; I, inferior; FH, subfoveal CT in horizontal scan; FV, subfoveal CT in vertical scan.

^a Patients means MCI and dementia patients due to AD altogether.

Data for quantitative variables are shown as mean (standard deviation). Analysis was performed using paired Student's t-test for dependent samples.

* p value < 0.05.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.t002>

scans only in temporal section at I_{1500μm} (235.4 ± 18.6 μm in PiB+ and 266.9 ± 100.3 μm in HC, p = 0.037), while we did not find any significant reduction in nasal locations. Secondly, we analyzed CT differences between MCI and HC, finding a CT significant reduction just in I_{1000μm} scan (245.8 ± 74.2 μm in MCI and 283.2 ± 95.8 μm in HC, p = 0.040). No significant differences in CT measurements were found in foveal, nasal, superior and inferior scans.

GEE was performed to compare MCI and dementia groups individually with all HC included, shown in Table 3. We found significant thinning of CT between MCI and all HC included in I_{1000μm} scan (245.8 ± 74.2 μm in MCI and 281.8 ± 108.9 μm in HC, p = 0.046). Comparing dementia patients with all HC, we found significant thinning in CT T_{1000μm} (218.9 ± 93.0 in dementia and 272.7 ± 109.1 in HC, p = 0.046), S_{1000μm} (205.3 ± 100.5 in dementia and 252.7 ± 112.9 in HC, p = 0.034), S_{500μm} (215.5 ± 97.2 in dementia and 267.8 ± 116.8 in HC, p = 0.034), FV (222.1 ± 92.7 in dementia and 279.9 ± 113.5 in HC, p = 0.037), I_{1000μm} (233.8 ± 93.9 in dementia and 281.8 ± 108.9 in HC p = 0.015) and I_{1500μm} (223.8 ± 84.7 in dementia and 273.4 ± 109.7 in HC, p = 0.045). GEE test was also used to compare CT measurements between dementia and MCI patients, also in Table 3; no significant thickness reduction was achieved. However, the lack of significant differences among dementia and MCI did not avoid to appreciate that CT results at each location may tend to be thinner in MCI than in HC subjects, and these differences increased in dementia stage.

The AUC analysis was calculated for two different CT measurements, CT I_{1500μm} and CT I_{1000μm}, which were statistically significant, with 95% confidence limits for sensitivity and specificity, as shown in Fig 3. The highest AUC value to discriminate MCI and dementia from HC was CT I_{1000μm} (area 0.597, p = 0.062), whereas for I_{1500μm} the area was 0.580, p = 0.122. Fig 4 shows the values of I_{1000μm} CT in HC, MCI and AD; there is significant difference in CT between HC and MCI or dementia, whose CT values are similar. A trend in CT thinning from HC to MCI and dementia is appreciated in Fig 4.

Table 3. Comparison of choroidal thickness analysis between mild cognitive impairment and dementia patients due to Alzheimer disease using a univariate generalized estimating equations model.

	MCI (n = 51)	AD (n = 12)	P	MCI (n = 51)	HCs (n = 63)	P	Dementia (n = 12)	HCs (n = 63)	P*
CT T ₁₅₀₀ μm	240.5 (75.0)	213.5 (92.5)	0.362	240.5 (75.0)	266.9 (100.3)	0.125	213.5 (92.5)	266.9 (100.3)	0.104
CT T ₁₀₀₀ μm	248.4 (81.6)	218.9 (93.0)	0.327	248.4 (81.6)	272.7 (109.1)	0.165	218.9 (93.0)	272.7 (109.1)	0.046*
CT T ₅₀₀ μm	253.8 (85.8)	236.5 (100.0)	0.587	253.8 (85.8)	287.4 (140.2)	0.134	236.5 (99.7)	287.4 (140.2)	0.103
FH	256.7 (87.3)	241.2 (97.4)	0.619	256.7 (87.3)	279.7 (115.0)	0.215	241.2 (97.4)	279.7 (115.0)	0.125
CT N ₅₀₀ μm	244.0 (87.9)	228.5 (94.2)	0.610	244.0 (87.9)	267.7 (117.9)	0.234	228.5 (94.2)	267.7 (117.9)	0.056
CT N ₁₀₀₀ μm	231.3 (91.6)	202.9 (87.1)	0.327	231.3 (91.6)	256.3 (116.9)	0.210	202.8 (87.1)	256.3 (116.9)	0.171
CT N ₁₅₀₀ μm	206.5 (90.0)	176.9 (77.3)	0.264	206.5 (90.0)	229.23 (113.7)	0.218	176.9 (77.3)	229.23 (113.7)	0.125
CT S ₁₅₀₀ μm	221.6 (80.5)	197.9 (101.0)	0.460	221.6 (80.5)	240.1 (102.4)	0.271	197.9 (100.7)	240.1 (102.4)	0.105
CT S ₁₀₀₀ μm	232.2 (83.9)	205.3 (100.5)	0.406	232.2 (83.9)	252.7 (112.9)	0.278	205.3 (100.5)	252.7 (112.9)	0.034*
CT S ₅₀₀ μm	234.2 (83.7)	215.5 (97.2)	0.548	234.2 (83.7)	267.8 (116.8)	0.105	215.5 (97.1)	267.8 (116.8)	0.034*
FV	250.5 (86.0)	222.1 (92.7)	0.348	250.5 (86.0)	279.9 (113.5)	0.098	222.1 (92.7)	279.9 (113.5)	0.037*
CT I ₅₀₀ μm	252.1 (82.6)	237.7 (95.2)	0.637	252.1 (82.6)	278.4 (111.9)	0.123	237.7 (95.2)	278.4 (111.9)	0.121
CT I ₁₀₀₀ μm	245.9 (74.2)	233.8 (93.9)	0.684	245.8 (74.2)	281.8 (108.9)	0.046*	233.8 (93.9)	281.8 (108.9)	0.015*
CT I ₁₅₀₀ μm	243.6 (75.3)	223.8 (84.7)	0.470	243.6 (75.3)	273.4 (109.7)	0.062	223.8 (84.7)	273.4 (109.7)	0.045*

CT, choroidal thickness; MCI, mild cognitive impairment; AD, Alzheimer disease; HCs, healthy controls; T, temporal; N, nasal; S, superior; I, inferior; FH, subfoveal CT in horizontal scan; FV, subfoveal CT in vertical scan.

Data for quantitative variables are shown as mean (standard deviation).

*p value < 0.05.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.t003>

As CT is a subjective measurement, we calculated the intraclass correlation coefficient (ICC), used to determine the interobserver reproducibility of manually quantified measurements in Table 4, showing an excellent reliability [43].

Table 5 shows the correlation between MMSE score and CT at each location. Despite a non-significant and very weak correlation between the parameters ($p > 0.141$), a tendency of CT thinning in association with MMSE decreased was observed in all measurements and we considered it a consistent positive correlation coefficient.

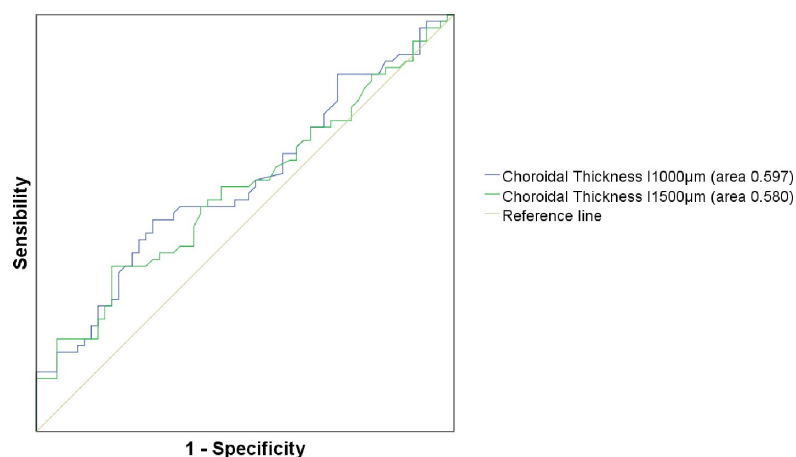


Fig 3. AUC of CT I₁₅₀₀μm and CT I₁₀₀₀μm. The area under the curve (AUC) of choroidal thickness (CT) at 1000 μm in inferior (I) (blue line) and at 1500 μm in inferior (green line) had the highest values under the curve and represented the most sensibility and specificity measurements.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.g003>

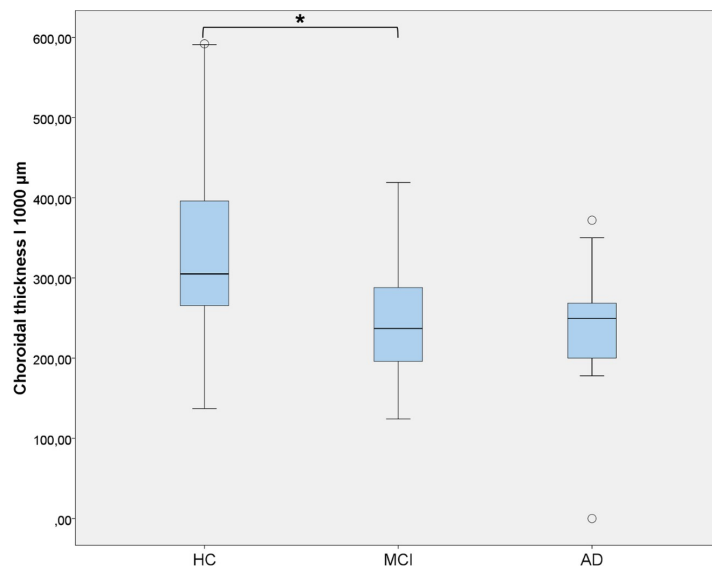


Fig 4. AUC of CT I_{1000μm} in MCI patients, dementia patients and HCs. Choroidal thickness (CT) at 1000 μm in inferior (I) sector in healthy controls (HCs), mild cognitive impairment (MCI) and dementia due Alzheimer's disease (AD) eyes (error bars represent 95% confidence intervals), described on a bar chart.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.g004>

Discussion

Nowadays, the gold standard for diagnosing AD is based on laboratory biomarkers (such as Aβ-42, P-tau, T-tau) and imaging techniques (MRI and PET using amyloid tracers) [6–13].

Table 4. Intraclass correlation coefficient used to determine interobserver reproducibility of manually quantified measurements and the confidence intervals associated.

	ICC	95% CI
CT T _{1500μm}	0.997	0.996–0.999
CT T _{1000μm}	0.976	0.952–0.985
CT T _{500μm}	0.988	0.981–0.994
F _H	0.980	0.973–0.991
CT N _{500μm}	0.979	0.966–0.989
CT N _{1000μm}	0.944	0.915–0.972
CT N _{1500μm}	0.951	0.914–0.972
CT S _{1500μm}	0.957	0.930–0.978
CT S _{1000μm}	0.965	0.940–0.981
CT S _{500μm}	0.966	0.938–0.980
F _V	0.944	0.908–0.971
CT I _{500μm}	0.964	0.944–0.982
CT I _{1000μm}	0.916	0.857–0.954
CT I _{1500μm}	0.905	0.831–0.942

ICC, intraclass correlation coefficient; CT, choroidal thickness; T, temporal; N, nasal; S, superior; I, inferior. FH, subfoveal choroidal thickness in horizontal scan; FV, subfoveal choroidal thickness in vertical scan; CI, confidence intervals.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.t004>

Table 5. Correlation of mini-mental state examination with each measurement of choroidal thickness.

	<i>r value</i>	<i>p value</i> ^a
CT T 1500μm	0.063	0.647
CT T 1000μm	0.055	0.687
CT T 500μm	0.055	0.690
FH	0.055	0.691
CT N 500μm	0.092	0.505
CT N 1000μm	0.079	0.567
CT N 1500μm	0.103	0.453
CT S 1500μm	0.214	0.124
CT S 1000μm	0.205	0.141
CT S 500μm	0.158	0.258
FV	0.159	0.256
CT I 500μm	0.119	0.397
CT I 1000μm	0.108	0.441
CT I 1500μm	0.140	0.317

CT, choroidal thickness; T, temporal; N, nasal; S, superior; I, inferior; FH, subfoveal CT in horizontal scan; FV, subfoveal CT in vertical scan.

Analysis was performed using Pearson's correlation coefficient.

No significant results were achieved regarding CT and Mini-Mental State Examination correlation (* $p > 0.05$)

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239484.t005>

These widely investigated biomarkers for the molecular and degenerative process of AD can be supportive of AD diagnosis but they are not recommended for routine diagnostic purposes just in clinical trials and research studies [4]. Recently, increasing efforts have been made to discover new biomarkers with the aim to improve AD diagnosis in early stages. In an attempt to investigate CT in AD patients, we conducted a study which involved deeply characterized prodromal AD patients with detailed neurocognitive testing and PET imaging with ¹¹C-PiB. The present work is a logical extension of our previous publication about AD biomarkers, in which we suggested RNFL and RGCL as potential AD biomarkers in a near future [25]. Our main outcomes herein were CT thinning in different localizations comparing PiB+ patients (MCI stage and dementia stage) versus HC and a general trend toward CT thinning in MCI patients compared with HC, which became more pronounced in dementia. The choroid is a highly vascularized layer that supplies the outer retina with oxygen, nutrients and growth factors. It also serves as a heat diffuser, protecting the photoreceptors [31]. Growing evidence about the choroidal involvement in AD [26–30] and the development of EDI-OCT technology has provided a chance to identify new visual non-invasive biomarkers [34]. Likely related to cerebral vascular impairment in early AD [44, 45], choroidal thinning may represent a novel biomarker of AD.

To the best of our knowledge, the present work constitutes the first study investigating the thickness of choroidal tissue in MCI subjects positive to ¹¹C-PiB PET/CT. Our findings showed significant differences between CT across PiB+ patients in selected locations (CT T_{1000μm}, CT I_{1000μm} and _{1500μm}, CT S_{1500μm} and foveal thickness in vertical scan) but few statistically significant CT reduction data in MCI or dementia groups individually versus HC. Although our primary finding was the lack of association between CT thinning and MCI or dementia versus age- and sex- matched HC, an interesting observation emerged from a more powerful statistical analysis performed. GEE was performed to compare MCI and dementia patients individually with all HC included, shown in Table 3 and we demonstrated a significant reduction of one choroid measurements in dementia patients. Even more, a general trend

toward the CT thinning in MCI patients, which became more pronounced in dementia, is shown in Table 3. This tendency is slightly appreciated in Fig 3. The inclusion of one eye per subject, randomly selected, is widely spread for statistical purposes, reducing possible bias of side preference. Actually, most studies proceed this way [29]. Nevertheless, there are complex statistical analysis which allow the use of both eyes without bias increasing the sample size [46].

Previous data determined that cerebral vascular damage, due to accumulation of A β [12], plays an important role in early AD progression [44, 45, 47]. In accordance to this, it has been hypothesized that as A β deposition causes angiopathy in the brain, it might cause angiopathy in the choroid; and, subsequently, atrophy of choroidal tissue reflected in a reduction in CT [48, 49]. Supporting this idea, both A β plaques and Tau neurofibrillary tangles (NFTs) have been detected in some parts of the visual system in AD patients, including the retina [50, 51]. Interestingly, in a mouse model of AD, A β deposits were specifically located in the RGCL [48]. Accordingly, Koronyo et al demonstrated histopathologically that RGCL thinning due to AD might be related with intracellular NFTs of Tau and extracellular A β protein deposits throughout the retina and not related with other etiologies of dementia [52]. Similarly, A β accumulation has been detected in choroidal tissue in normal aging mice, in several mouse models of AD and in human post-mortem retina samples from AD donors [47–49]. We assumed choroidal thinning might be related to a series of pathologic events triggered by A β accumulation.

Several OCT studies showed choroidal thinning using EDI technology in mild and moderate dementia-AD [26–29] and one study showed CT thinning in MCI [30]. Every single study, except one [26], performed EDI-OCT examination and measured the perpendicular CT from the outer edge of the hyperreflective retinal pigment epithelium to the inner sclera, getting similar average thickness of the choroid, in agreement with the work hereby presented. However, a different number of CT locations were measured in each study, within 7 [30], 9 [26–28] and 13 [29] measurements. In order to solve this discrepancy, we analyzed CT at 14 locations, 2 of subfoveal thickness in 2 different scans and 12 more separated 1500, 1000 and 500 μ m from these subfoveal locations [37].

Despite the disparity of the analyzed data, all investigations described a significantly thinning of CT measurements at each location, among AD and HC. Bulut et al added significant differences in MCI and Cunha et al showed a significant choroidal thinning in AD versus age matched controls and even when compared with elderly subjects [29, 30]. In addition, Gharbiya's group took measurements at baseline and 12 months later, reporting CT decreased significantly after this time in the AD group whereas no significant reduction was observed in controls [27].

In our study, we did not find a significant correlation between the CT values at all localizations and the MMSE scores. In agreement with our results, Bayhan et al and Gharbiya et al reported no significant correlation between CT and each of the tested psychometric parameters [26, 27]. Trebastoni et al conducted a prospective study which measured CT at baseline and after one year, describing cognitive functions deterioration assessed by MMSE, Alzheimer's Disease Assessment Scale-Cognitive (ADAS-Cog 11), and Clinical Dementia Rating Scale (CDR) at the end of these 12 months ($p < 0.0001$), but no correlations were found between psychometric scores' changes and neither baseline CT nor CT changes [28]. In contrast, Bulut et al observed a significantly positive correlation between MMSE score and CT value [30]. Although current diagnosis of AD is based on cognitive clinical evaluation, such an approach might be insufficient in individuals with much cognitive reserve and we hypothesize that the lack of correlation in our study could reflect MMSE may not be a suitable test to detect subtle and initial changes at early disease stages like MCI or mild dementia.

As far as we are concerned, the aforementioned studies have three main limitations. Firstly, none of them supported their findings with CSF biomarkers or PET exams to diagnose AD

patients. This implies a variable degree of case misclassification affecting statistical power and the interpretation of the outcome. Hence, the use of AD biomarkers cannot be ignored in the design of OCT studies. We emphasize the importance of enrolling patients based AD biomarkers status instead of MMSE-based criteria. Secondly, those OCT studies faced another important limitation concerning their section. Patients' eyes assessment underwent a complete ophthalmologic evaluation, including dilated fundus examination. Nevertheless, they did not mention if OCT analysis was performed before or after pupil dilatation nor did specify which kind of drop was used. This may be of crucial importance, as we have proved that phenylephrine 2.5%, a common drop for pupil dilatation, might cause a significant choroidal thinning thirty minutes after its instillation [37]. Thus, mentioning the use of dilatation drops should be important to reach a conclusion in CT changes, because if they used phenylephrine differently in AD patients and controls, this might be a source of bias. Finally, these studies assessed CT using exclusively 7 to 13 locations. As choroidal analysis was based on subjective and non-automated measurements, we analyzed it in 14 locations in order to reduce bias as we previously reported [37].

The main limitations of the present study are the relatively small sample size and the cross-sectional design. Specifically, our study included few patients with dementia due to AD in order to depict if there was trend of CT to be thinner in worse stages of dementia. However, our sample was characterized by a marked homogeneity in ocular biometric parameters that strengthens the power of our results. Even so, future research should include a higher number of subjects with both early and late stage AD and longitudinal measurements. Another common limitation is the measurement of CT manually using EDI-OCT, providing us a choroidal analysis based on subjective, non-automated measurements. To help overcome this hurdle, the study was designed taking this into account, and a well-trained ophthalmologist (AC) unaware of patients' diagnoses performed the CT measurements. Besides, this manual technique had already been used in previous reports [34] and proved to have high intra-observer and inter-observer reproducibility [53].

One of the major advantages of the present work is that the research protocol was undertaken in a real clinical setting in well characterized MCI patients. Hence, our results represent very likely day-to-day in clinical practice.

In conclusion, our study described CT thinning in selected localizations, but not a statistical significant and general choroidal thinning comparing dementia and MCI versus HC. For this reason, CT might be a promising target to find a biomarker in prodromal stages of AD because there is a general choroidal reduction trend from HC to MCI patients, which become slightly more pronounced in AD. It would be interesting to conduct larger and prospective OCT studies in AD population characterized with available biomarkers to describe whether choroidal vascular damage occurs specifically in prodromal stages of AD.

Author Contributions

Formal analysis: Alfonso Casado.

Investigation: Alicia López-de-Eguileta, Carmen Lage, Sara López-García, Ana Pozueta, María García-Martínez, Martha Kazimierczak, María Bravo, María de Arcocha-Torres, Ignacio Banzo, Julio Jimenez-Bonilla, Andrea Cerveró, Eloy Rodríguez-Rodríguez, Pascual Sánchez-Juan, Alfonso Casado.

Methodology: Alicia López-de-Eguileta, Sara López-García, Pascual Sánchez-Juan, Alfonso Casado.

Project administration: Alicia López-de-Eguileta, Pascual Sánchez-Juan.

Supervision: Sara López-García, Alexander Goikoetxea, Alfonso Casado.

Validation: Pascual Sánchez-Juan.

Writing – original draft: Alicia López-de-Eguileta, Alfonso Casado.

Writing – review & editing: Alicia López-de-Eguileta, Andrea Cerveró, Alexander Goikoetxea, Pascual Sánchez-Juan, Alfonso Casado.

References

1. Alzheimer's Association. Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement*. 2016; 12: 459–509.
2. Prince M, Bryce R, Albanese E, et al. The global prevalence of dementia: a systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's Dement* 2013; 9:63. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2012.11.007> PMID: 23305823
3. Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement*. 2011; 7: 280–92. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.003> PMID: 21514248
4. McKhann GM, Knopman DS, Chertkow H, 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. *Alzheimer's Dement* 2011; 7:263. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005> PMID: 21514250
5. McKhann G, Drachman D, Folstein M, 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* 1984; 34:939. <https://doi.org/10.1212/wnl.34.7.939> PMID: 6610841
6. Olsson B, Lautner R, Andreasson U, Öhrfelt A, Portelius E, Bjerke E, et al. CSF and blood biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Neurol*. 2016; 15: 673–684. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)00070-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)00070-3) PMID: 27068280
7. Kang S, Jeong H, Baek JH, Lee SJ, Han SH, Cho HJ, et al. PiB-PET imaging-based serum proteome profiles predict mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2016; 53: 1563–76. <https://doi.org/10.3233/JAD-160025> PMID: 27392853
8. Ma Y, Zhang S, Li J, Zheng DM, Guo Y, Feng J, et al. Predictive accuracy of amyloid imaging for progression from mild cognitive impairment to Alzheimer disease with different lengths of follow-up: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2014; 93(27):e150.
9. Dubois B, Feldman HH, Jacova C, et al. Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol* 2010; 9:1118. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70223-4](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70223-4) PMID: 20934914
10. Khan TK, Alkon DL. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid and neuroimaging biomarkers: diagnostic accuracy and relationship to drug efficacy. *J Alzheimers Dis*. 2015; 46: 817–836. <https://doi.org/10.3233/JAD-150238> PMID: 26402622
11. Lage C, Suarez AG, Pozueta A, Riancho J, Kazimierczak M, Bravo M. Utility of Amyloid and FDG-PET in Clinical Practice: Differences Between Secondary and Tertiary Care memory Units. *J Alzheimers Dis*. 2018; 63: 1025–1033. <https://doi.org/10.3233/JAD-170985> PMID: 29710706
12. Sánchez-Juan P, Ghosh PM, Hagen J, Gesierich B, Henry M, Grinberg LT, et al. Practical utility of amyloid and FDG-PET in an academic dementia center. *Neurology*. 2014; 82: 230–8. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000000032> PMID: 24353340
13. Tu P, Fu H, Cui M. Compounds for imaging amyloid- β deposits in an Alzheimer's brain: a patent review. *Expert Opin Ther Pat*. 2015; 25: 413–423. <https://doi.org/10.1517/13543776.2015.1007953> PMID: 25746836
14. Petersen RC. Mild cognitive impairment. *N Engl J Med*. 2011; 364: 2227–2234. <https://doi.org/10.1056/NEJMc0910237> PMID: 21651394
15. Vos SJ, Verhey F, Frölich L, et al. Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain* 2015; 138:1327. <https://doi.org/10.1093/brain/awv029> PMID: 25693589
16. Tzekov R, Mullan M. Vision function abnormalities in Alzheimer disease. *Survey of Ophthalmology*. 2014; 59:414–433. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2013.10.002> PMID: 24309127
17. The Retina. In: Purves D, et al, eds. *Neuroscience*. 2nd ed. Chapters 11 and 12. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001.

18. Byerly MS, Blackshaw S. Vertebrate retina and hypothalamus development. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*. 2009; 1 (3):380–389. <https://doi.org/10.1002/wsbn.22> PMID: 20836003
19. Trost A, et al. Brain and Retinal Pericytes: Origin, Function and Role. *Front Cell Neurosci*. 2016; 10:20. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00020> PMID: 26869887
20. Patton N, Aslam T, Macgillivray T, Pattie A, Deary IJ, Dhillion 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; 206 (4):319–348. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7580.2005.00395.x> PMID: 15817102
21. Suda K, Akagi T, Nakanishi H, Noma H, Ikeda HO, Kameda T, et al. Evaluation of Structure-Function Relationships in Longitudinal Changes of Glaucoma using the Spectralis OCT Follow-Up Mode. *Sci Rep* 2018; 8(1):17158. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35419-y> PMID: 30464292
22. Chhablani PP, Ambiya V, Nair AG, Bondalapati S, Chhablani J. Retinal Findings on OCT in Systemic Conditions. *Semin Ophthalmol*. 2018; 33(4):525–546. <https://doi.org/10.1080/08820538.2017.1332233> PMID: 28640657
23. Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, Porrello KV, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging*. 1996; 17: 385–395. [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(96\)00009-7](https://doi.org/10.1016/0197-4580(96)00009-7) PMID: 8725900
24. Eraslan M, Cerman E, Yildiz Balci S, Celiker H, Sahin O, Temel A, et al. The choroid and lamina cribrosa is affected in patients with Parkinson's disease: enhanced depth imaging optical coherence tomography study. *Acta Ophthalmol*. 2016; 94: 68–75.
25. López de Eguileta A, Lage C, López García S, Pozueta A, García Martínez M, Kazimierczak M, et al. Ganglion cell layer thinning in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2019; 5: 570–578.
26. Bayhan HA, Aslan Bayhan S, Celikbilek A, Tanik N, Gürdal C. Evaluation of the chorioretinal thickness changes in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2015; 43: 145–151.
27. Gharbiya M, Trebbastoni A, Parisi F, Manganiell 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. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2014; 40: 907–917. <https://doi.org/10.3233/JAD-132039> PMID: 24577467
28. Trebbastoni A, Marcelli M, Mallone F, D'Antonio F, Imbriano L, Campanelli A, et al. Attenuation of choroidal thickness in patients with Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 2017; 31: 128–134. <https://doi.org/10.1097/WAD.000000000000176> PMID: 27875364
29. Cunha JP, Proença R, Dias-Santos A, Melancia D, Almeida R, Águas H, et al. Choroidal thinning: Alzheimer's disease and aging. *Alzheimers Dement (Amst)*. 2017; 8: 11–17. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2017.03.004> PMID: 28435851
30. Bulut M, Yaman A, Erol MK, Kurtuluş F, Toslak D, Doğan B, et al. Choroidal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's type dementia. *J Ophthalmol*. 2016; 7291257. <https://doi.org/10.1155/2016/7291257> PMID: 26925259
31. Nickla DL, Wallman J. The multifunctional choroid. *Prog Retin Eye Res*. 2010; 29: 144–168. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2009.12.002> PMID: 20044062
32. Tanzi RE, Moir RD, Wagner SL. Clearance of Alzheimer's Aβ peptide: the many roads to perdition. *Neuron*. 2004; 43: 605–608. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.08.024> PMID: 15339642
33. Glassman AR, Melia M. Randomizing 1 eye or 2 eyes: a missed opportunity. *JAMA Ophthalmol*. 2015; 133: 9–10. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2014.3600> PMID: 25256889
34. Margolis R, Spaide RF. A pilot study of enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in normal eyes. *Am J Ophthalmol*. 2009; 147: 811–815. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2008.12.008> PMID: 19232559
35. McKhanna GM, Knopmanc DS, Chertkowd H, Hymanf BT, Jack CR Jr, 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*. 2011; 7: 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2011.03.005> PMID: 21514250
36. Jimenez Bonilla JF, Banzo I, De Arcocha Torres M, Quirce R, Martínez Rodríguez I, Sánchez-Juan P, et al. Amyloid imaging with 11C-PIB in patients with cognitive impairment in a clinical setting: A visual and semiquantitative analysis. *Clin Nucl Med*. 2016; 41: 18–23.
37. Casado A, López-de-Eguileta A, Gaitán J, Fonseca S, Gordo-Vega MA. Peripapillary and macular choroidal thickness before and after phenylephrine instillation. *Eye (Lond)*. 2019; 33: 1741–1747.
38. Dulku S. Generating a random sequence of left and right eyes for ophthalmic research. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012; 53: 6301–2. <https://doi.org/10.1167/iops.12-10737> PMID: 22993249

39. Usui S, Ikuno Y, Akiba M, Maruko I, Sekiryu T, Nishida K, et al. Circadian changes in subfoveal choroidal thickness and the relationship with circulatory factors in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2012;24; 53(4):2300–7. <https://doi.org/10.1167/iops.11-8383> PMID: 22427554
40. Zeger SL, Liang KY, Albert PS. Models for longitudinal data: a generalized estimating equation approach. *Biometrics*. 1988; 44: 1049–1060. PMID: 3233245
41. Fan Q, Teo YY, Saw SM. Application of advanced statistics in ophthalmology. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52: 6059–606516, 17. <https://doi.org/10.1167/iops.10-7108> PMID: 21807933
42. Mandrekar J. Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment. *J Thorac Oncol*. 2010; 5: 1315–6. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3181ec173d> PMID: 20736804
43. Koo TK, Li MY. A Guidline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med*. 2016; 15(2): 155–63. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.02.012> PMID: 27330520
44. Zlokovic BV. Clearing amyloid through the blood-brain barrier. *Journal of Neurochemistry*. 2004; 89: 807–11. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02385.x> PMID: 15140180
45. Tanzi RE, Moir RD, Wagner SL. Clearance of Alzheimer's A β peptide: the many roads to perdition. *Neuron*. 2004; 43: 605–608. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2004.08.024> PMID: 15339642
46. Glassman AR, Melia M. Randomizing 1 eye or 2 eyes: a missed opportunity. *JAMA Ophthalmol*. 2015; 133: 9–10. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2014.3600> PMID: 25256889
47. Tsai Y, Lu B, Ljubimov AV, Girman S, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, et al. Ocular changes in TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 55: 523–34 <https://doi.org/10.1167/iops.13-12888> PMID: 24398104
48. Ning A, Cui J, To E, Ashe KH, Matsubara J. Amyloid- β deposits lead to retinal degeneration in a mouse model of Alzheimer disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008; 49: 5136–43. <https://doi.org/10.1167/iops.08-1849> PMID: 18566467
49. Hoh Kam J, Lenassi E, Jeffery G. Viewing ageing eyes: diverse sites of amyloid beta accumulation in the ageing mouse retina and the up-regulation of macrophages. *PLoS ONE*. 2010; 5 (10): e13127. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013127> PMID: 20957206
50. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov AV, Miller CA, Ko MK, Black KL, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *Neuroimage*. 2011; 54: 204–17.
51. Parnell M, Guo L, Abdi M, Cordeiro MF. Ocular manifestations of Alzheimer's disease in animal models. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2012: 786494. <https://doi.org/10.1155/2012/786494> PMID: 22666623
52. Koronyo Y, Biggs D, Barron E, Boyer DS, Pearlman JA, Au WJ, et al. Retinal amyloid pathology and proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI Insight*. 2017; 2(16): e93621.
53. Shao L, Xu L, Chen CX, Yang LH, Du KF, Wang S, et al. Reproducibility of subfoveal choroidal thickness measurements with enhanced depth imaging by spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013; 54: 230–3. <https://doi.org/10.1167/iops.12-10351> PMID: 23060144

RESEARCH

Open Access



The retinal ganglion cell layer reflects neurodegenerative changes in cognitively unimpaired individuals

Alicia López-de-Eguileta^{1*} , Sara López-García², Carmen Lage², Ana Pozueta², María García-Martínez², Martha Kazimierczak², María Bravo², Juan Irure³, Marcos López-Hoyos³, Pedro Muñoz-Cacho⁴, Noelia Rodríguez-Perez⁵, Diana Tordesillas-Gutiérrez⁵, Alexander Goikoetxea⁶, Claudia Nebot¹, Eloy Rodríguez-Rodríguez², Alfonso Casado¹ and Pascual Sánchez-Juan²

Abstract

Background: To evaluate a wide range of optical coherence tomography (OCT) parameters for possible application as a screening tool for cognitively healthy individuals at risk of Alzheimer's disease (AD), assessing the potential relationship with established cerebrospinal fluid (CSF) core AD biomarkers and magnetic resonance imaging (MRI).

Methods: We studied 99 participants from the Valdecilla Study for Memory and Brain Aging. This is a prospective cohort for multimodal biomarker discovery and validation that includes participants older than 55 years without dementia. Participants received a comprehensive neuropsychological battery and underwent structural 3-T brain MRI, lumbar puncture for CSF biomarkers (phosphorylated-181-Tau (pTau), total Tau (tTau), beta-amyloid 1–42 (Aβ 1–42), and beta-amyloid 1–40 (Aβ 1–40)). All individuals underwent OCT to measure the retinal ganglion cell layer (GCL), the retinal nerve fiber layer (RNFL), the Bruch's membrane opening-minimum rim width (BMO-MRW), and choroidal thickness (CT). In the first stage, we performed a univariate analysis, using Student's *t*-test. In the second stage, we performed a multivariate analysis including only those OCT parameters that discriminated at a nominal level, between positive/negative biomarkers in stage 1.

Results: We found significant differences between the OCT measurements of pTau- and tTau-positive individuals compared with those who were negative for these markers, most notably that the GCL and the RNFL were thinner in the former. In stage 2, our dependent variables were the quantitative values of CSF markers and the hippocampal volume. The Aβ 1–42/40 ratio did not show a significant correlation with OCT measurements while the associations between pTau and tTau with GCL were statistically significant, especially in the temporal region of the macula. Besides, the multivariate analysis showed a significant correlation between hippocampal volume with GCL and RNFL. However, after false discovery rate correction, only the associations with hippocampal volume remained significant.

Conclusions: We found a significant correlation between Tau (pTau) and neurodegeneration biomarkers (tTau and hippocampus volume) with GCL degeneration and, to a lesser degree, with damage in RNFL. OCT analysis constitutes

*Correspondence: alicialeguileta@gmail.com

¹ Department of Ophthalmology, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' Santander, University of Cantabria, Santander, Spain
 Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2022. **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 licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence 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 licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.

a non-invasive and unexpensive biomarker that allows the detection of neurodegeneration in cognitively asymptomatic individuals.

Keywords: Alzheimer's disease, Optical coherence tomography, Amyloid, Tau, Ganglion cell layer, Retinal nerve fiber layer, Neurodegeneration, Hippocampal volume

Background

To date, there is no disease-modifying treatment for Alzheimer's disease (AD). In particular, clinical trials with anti-amyloid drugs have consistently failed to show efficacy in clinical endpoints. However, it is likely that these studies have been conducted in individuals in advanced stages of the disease, in whom lowering amyloid levels might not be enough to halt the disease progression [1]. There is a consensus in the field that clinical trials with potentially disease-modifying treatments should be performed in the early stages of AD. Therefore, it is necessary to develop tests to identify those individuals who are asymptomatic or very mildly symptomatic, but who have a high risk of progressing to cognitive impairment.

The core biomarkers used in AD research can be divided into three categories: (1) biomarkers of beta-amyloid (A β) brain deposition: high ligand retention on amyloid positron emission tomography (PET) or low cerebrospinal fluid (CSF) beta-amyloid 1-42 (A β 1-42) and A β 1-42/40 ratio [2-4]; (2) biomarkers of AD-associated Tau pathology: elevated CSF phosphorylated Tau (pTau) and Tau-PET [4, 5], and (3) biomarkers of neurodegeneration or neuronal injury: CSF total Tau (tTau), ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG)-PET hypometabolism, and atrophy on structural magnetic resonance imaging (MRI) [5, 6]. Advances in the technique and standardization of CSF biomarkers and the emergence of amyloid and Tau-PET have considerably improved the ability to detect preclinical individuals with AD pathological changes and currently are considered as gold standard tests [7-10]. However, despite the increasing attempts to integrate biomarkers into clinical decision-making, diagnosis supported by them is still considered appropriate only for research-related purposes [11]. The clinical environment has not yet evolved properly for this to occur due to challenges with cost, standardization, and accessibility [12, 13]. Therefore, there is an urgent need to develop non-invasive, affordable, and scalable biomarkers. The aim would be to detect preclinical individuals at high risk of cognitive deterioration, as well as to allow monitoring of the effects of disease-modifying treatments.

The retina, a developmental outgrowth of the brain, is considered a window to study disorders in the central nervous system [14-16]. The link between the eye and AD has been established clinically, histologically, and through technological devices such as optical coherence

tomography (OCT) [17]. OCT provides a cross-sectional structure of the retina with extremely high resolution, typically on the micrometer scale. The main advantages of OCT for diagnosing probable AD include its non-invasive nature, its wide availability, and the resulting retinal images, which can be analyzed both objectively and qualitatively [18]. There is growing evidence supporting the incorporation of OCT technology into clinical settings managing neurological diseases [19-21]. Currently, the identification of retinal biomarkers in AD using OCT remains an area of active research, and a growing number of studies indicate that OCT reflects AD pathology in individuals with dementia and those in prodromal stages [22-28]. However, few studies have assessed the role of OCT as an AD biomarker in preclinical individuals [22, 29, 30], and even fewer have used CSF AD biomarkers as a gold standard [29]. Based on the above evidence, we propose to evaluate OCT for its potential applications as a population screening tool. The objective of the present study is to explore a wide range of OCT parameters in a well-phenotyped group of community dwellers. OCT measurements included were the retinal ganglion cell layer (GCL) thickness, the peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness, the Bruch's membrane opening-minimum rim width (BMO-MRW), and the choroidal thickness (CT). We evaluated their potential relationships with established CSF core AD biomarkers (tTau, pTau, A β 1-42, and A β 1-40) and MRI (hippocampal volume).

Methods

Participants

We included participants from the Valdecilla Study for Memory and Brain Aging recruited between July 2018 and February 2020 at the University Hospital Marqués de Valdecilla (UHMV) in Santander, Spain. This is a prospective study for multimodal biomarker discovery and validation that includes community dwellers older than 55 years. A comprehensive neuropsychological battery, which comprises the main cognitive domains (memory, language, praxis, visual perception, and executive function), was administered by two trained neuropsychologists (AP, MGM). All participants underwent structural 3-T brain MRI, blood draw to obtain DNA and plasma samples, lumbar puncture for CSF biomarkers, and ophthalmological evaluation. Subjects with a history

of dementia, neurological or psychiatric disorders, any significant systemic illness, or current use of any medications known to affect cognition were excluded. Ophthalmological exclusion criteria were a refractive error > 6.0 or < -6.0 diopters (D) of spherical equivalent or 3.0 D of astigmatism, any history or showing evidence of ocular surgery or ocular disease, best-corrected visual acuity as poor as 20/40, intraocular pressure (IOP) > 18 mmHg, or history of raised IOP. Similarly, other exclusion criteria included clinically relevant opacities of the optic media and low-quality images due to unstable fixation.

The study protocol and the written consent were approved by the Ethics Committee of the UHMV (reference number 2018.111), and it was performed following the principles of the Declaration of Helsinki. Written consent forms were signed by all participants before examinations.

Neuropsychological episodic memory testing

To evaluate the medial temporal lobe (MTL) function, the verbal episodic memory of all participants was assessed using the Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT; Buschke, 1984). We used FCSRT delayed total recall as our main variable for episodic memory (0–16).

CSF samples acquisition and analysis

The CSF biomarker assessment included the determination of A β 1–42, A β 1–40, tTau, and p-181-Tau. The levels of biomarkers were quantified by chemiluminescent enzyme-immunoassay (Lumipulse G600 II, Fujirebio Europe, Belgium) following the manufacturer's instructions and interpreted according to the previously established cutoff points [31]. To adjust for individual differences in total amyloid production, A β 42 was expressed relative to A β 40 (ratio A β 1–42/40).

Magnetic resonance imaging

All images were acquired in the same 3T Philips Medical Systems MRI scanner (Achieva, Best, The Netherlands) using an 8-channel head coil at the UHMV. A sagittal MPRAGE T1-weighted sequence was acquired with the following parameters: flip angle 9° shortest TR and TE, voxel size = 1.2 mm, and 170 contiguous slices.

To segment the hippocampus, the automated FreeSurfer protocol was used (FreeSurfer version 6.0 (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu>)). Briefly, the protocol included the removal of non-brain tissue, labeling volumes of each segmentation, and normalizing the voxel intensities. Next, cortical and subcortical volume measures were inferred using the surface stream and the subcortical segmentation stream, respectively [32].

Subcortical measures were automatically derived from the subcortical processing stream (i.e., “aseg.stats” in FreeSurfer). Quality checks of acquired data were conducted using the ENIGMA Consortium quality control protocol (<http://enigma.ini.usc.edu/>).

Ophthalmological assessment

All participants underwent a thorough ophthalmologic examination on the day of OCT imaging: best-corrected visual acuity (Snellen charts), anterior segment biomicroscopy, refraction, OCT measurements, axial length (AL) assessment, IOP quantification with Goldmann applanation tonometer (GAT), and dilated fundus examination. Participants received one drop of tropicamide 1% and phenylephrine per eye for pupil dilation after OCT evaluation to preclude modifications in choroidal thickness due to phenylephrine instillation as has been previously reported [33]. The refractive error was recorded using an auto refractometer Canon RK-F1 (Canon USA Inc., Lake Success, NY, USA). AL was measured using a Lenstar LS 900 (Haag Streit AG, Koeniz, Switzerland). Each individual was randomized to decide which eye was to be examined first, using the method described by Dulku et al. [34].

Spectral-domain OCT imaging

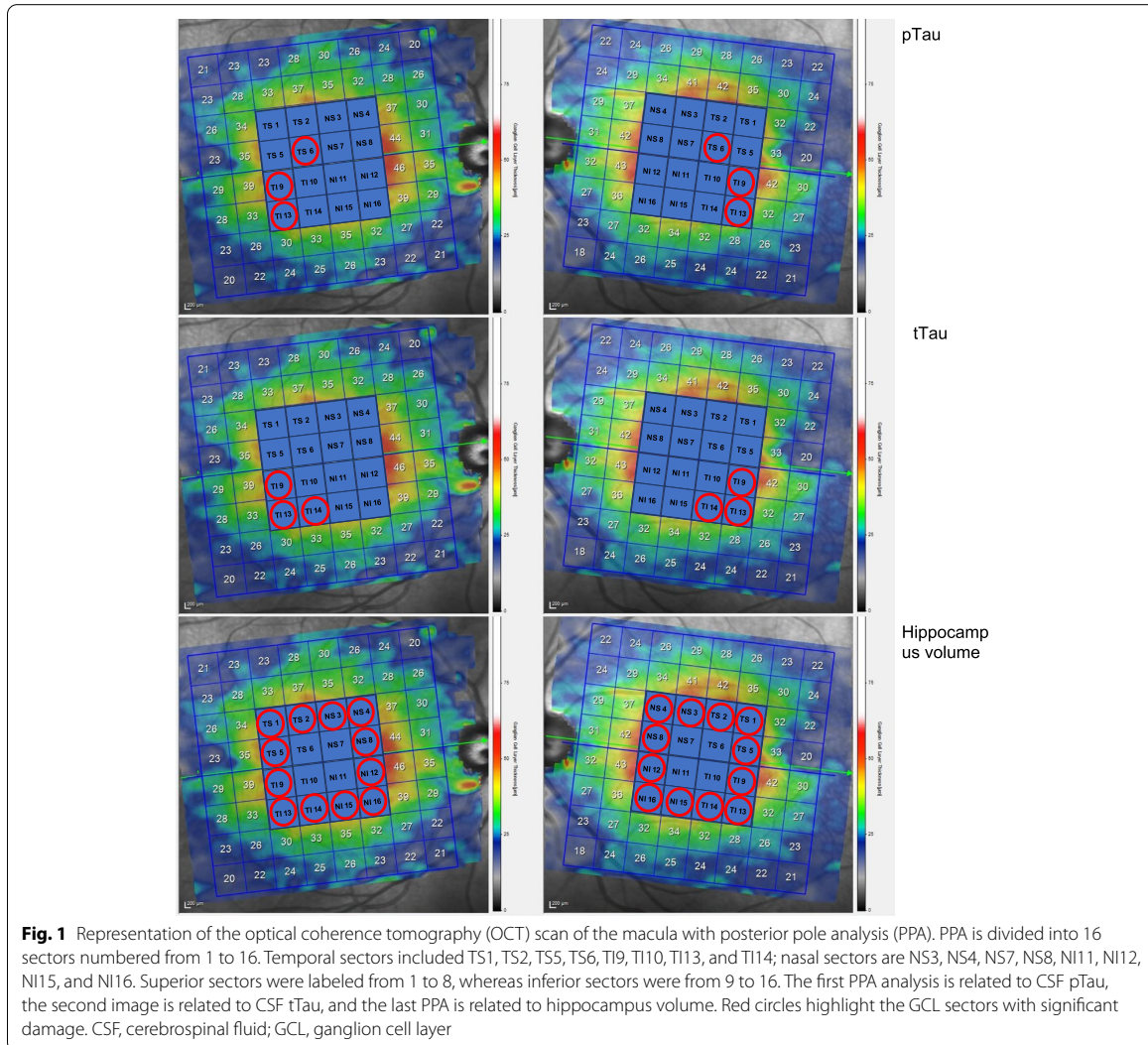
A well-trained ophthalmologist (ALE) performed all OCT exams of each eye for each patient using spectral-domain OCT (SD-OCT) (Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) and checked all images from each eye to identify any segmentation or centering errors.

Ganglion cell layer thickness

The retinal thickness was measured with posterior pole analysis (PPA) software of SD-OCT. This protocol has been described in detail [35]. The average retinal layer measurement of each 8×8 ($3^\circ \times 3^\circ$) sector (64 sectors) was determined. To simplify the study, we considered 4×4 central grids for analysis. Those 16 sectors were numbered as shown in Fig. 1, with temporal (T), nasal (N), superior (S), and inferior (I) labels added to ease understanding. The superior cluster included 1–8 sectors, whereas the inferior cluster included 9–16 sectors (Fig. 1). A segmentation analysis was performed using the Heidelberg segmentation software (version 1.10.2.0) to calculate the thickness of the GCL considering APOSTEL recommendations [36].

Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness

The “Glaucoma Module Premium Edition” (GMPE) provided by Spectralis version 6.0c was used to evaluate optic nerve variations in AD. This technology has proven useful in glaucoma disease [37] and also for



evaluating optic discs with anatomical variations [38]. The BMO-MRW study is widely used in glaucoma but not in neurodegenerative diseases, so we performed it for two reasons. On the one hand, we employed it to detect and exclude participants with glaucoma disease. On the other hand, we wanted to provide a more in-depth analysis of the optic nerve in AD because damage to the peripapillary axons of the optic nerve in advanced stages of AD has been widely described [39], but there are some controversial results in the prodromal stages [22, 29, 30].

GMPE includes 24 radial scans for the neuroretinal rim analysis (BMO-MRW) and 3 circular scans for the RNFL analysis [40]. From the 3 circular scans, we

registered only the figures provided by the inner circle scan. Six sector areas (superior-temporal (ST), superior (S), superior-nasal (SN), inferior-nasal (IN), inferior (I), and inferior-temporal (IT)), as well as their average, were measured in both analyses.

Choroidal thickness

CT was measured using enhanced depth imaging (EDI) Spectralis SD-OCT. CT was measured at 14 different locations as it has been previously described [25]: at the fovea (with horizontal and vertical scan: FH and FV, respectively) and at 500, 1000, and 1500 µm from the fovea in the N, T, S, and I quadrants.

Data analysis

In the first stage of the analysis, we dichotomized all individuals according to their CSF AD biomarker status using previously established cutoff points [31]. Next, potential confounders were evaluated by comparing ophthalmological variables (IOP, pachymetry, AL, and refractive error) in individuals with positive versus negative AD biomarkers. For each individual, we calculated the mean value of the two eyes for all OCT measurements (GCL, RNFL, BMO-MRW, and CT). Then, we performed a univariate analysis using Student's *t*-test, comparing OCT parameters in those individuals positive for AD CSF biomarkers versus those who were negative.

In a second stage, we performed multivariate analyses including only those OCT parameters that discriminated, at a nominal level, between individuals with positive versus negative biomarkers in stage 1. We used generalized linear models with the biomarkers' quantitative data as dependent variables ($A\beta$ 1–42/40 ratio, pTau, tTau, and hippocampus volume) and the OCT measurements, selected after stage 1, as the main independent variables.

Age and sex were included as covariates in all models. In the second stage, we determined the false discovery rate (FDR) using the Benjamini and Hochberg method to correct for multiple testing due to the many retinal areas explored [41].

Finally, we assessed the relationship between significant OCT parameters and FCSRT delayed total recall using Pearson's *r*.

All analyses were performed using IBM SPSS Statistics V.20.0 (International Business Machine Corporation, Armonk, NY, USA).

Results

Overall, 99 individuals (191 eyes) were consecutively evaluated in the final analysis. Females were predominant (71%), and the mean age was 64.7 ± 6.3 years. The demographic and clinical characteristics of the study participants are summarized in Table 1. The majority were cognitively healthy (the mean Mini-Mental State Examination score was 28.94 ± 1.3), and the mean FCSRT delayed total recall was 15.01 ± 2.43 .

Ophthalmological examination parameters did not show significant associations with CSF AD biomarkers (Additional file 1). Subsequently, we did not consider them as confounding variables for the analysis.

Stage 1

Outcomes from stage 1 are depicted in Fig. 2. Herein, we compared OCT parameters (RNFL, GCL, CT, and BMO-MRW) between individuals with positive versus negative AD core biomarkers. None of the OCT measurements

Table 1 Demographic and clinical characteristics

Characteristic	N = 99 individuals
Age (years), mean (SD)	64.9 (6.6)
Female eyes (%)	71%
Spherical equivalent, mean (SD)	0.34 (2.04)
Axial length (mm), mean (SD)	23.18 (1.4)
Intraocular pressure, mean (SD)	13.62 (2.77)
Pachymetry, mean (SD)	28.97 (1.21)
MMSE (0–30), mean (SD)	28.94 (1.3)
FCSRT delayed total recall (0–16), mean (SD)	15.01 (2.43)
CSF Biomarkers	
$A\beta$ 40, mean (SD), pg/ml	10,615.01 (3278.23)
$A\beta$ 42, mean (SD), pg/ml	819.78 (336.35)
Ratio $A\beta$ 1–42/40, mean (SD)	0.078 (0.02)
Total Tau, mean (SD), pg/ml	330.70 (137.25)
Phosphorylated Tau, mean (SD)	43.97 (26.35)
Hippocampal volume, mean (SD)	3266.08 (372.21)

Abbreviations: SD Standard deviation; $A\beta$ Amyloid- β , neg, negative; pos Positive, FCSRT Free and Cued Selective Reminding Test

significantly discriminated between individuals positive versus negative for the $A\beta$ 1–42/40 ratio. Meanwhile, there were several OCT variables, especially those related to GCL, which significantly differed between positive and negative individuals for pTau and tTau CSF biomarkers. We consistently found that in those individuals who were positive for either pTau or tTau, GCL thickness was decreased compared to those who were negative. We found nominally significant differences between pTau-positive and pTau-negative individuals for GCL in 6 TS ($p = 0.044$) and 7 NS ($p = 0.043$) sectors. Additionally, GCL significantly discriminated between tTau-positive and tTau-negative in 6 TS ($p = 0.049$), 7 NS ($p = 0.035$), 9 TI ($p = 0.046$), and 13 TI ($p = 0.021$) sectors. Overall, individuals with positive pTau and tTau biomarkers showed, on average, lower values on the other OCT variables. Significant differences were found between pTau-positive and pTau-negative individuals for BMO-MRW in TS ($p = 0.03$) and NS ($p = 0.014$) sectors and RNFL in the TI sector ($p = 0.049$). We also found significant differences between tTau-positive and tTau-negative individuals for BMO-MRW NS ($p = 0.016$) and BMO-MRW average ($p = 0.002$).

Choroidal thickness was not associated with any of the CSF biomarkers.

Stage 2

In stage 2, we performed a multivariate analysis with the OCT measurements that were associated with CSF markers positivity in stage 1, adjusting for age and sex (Table 2).

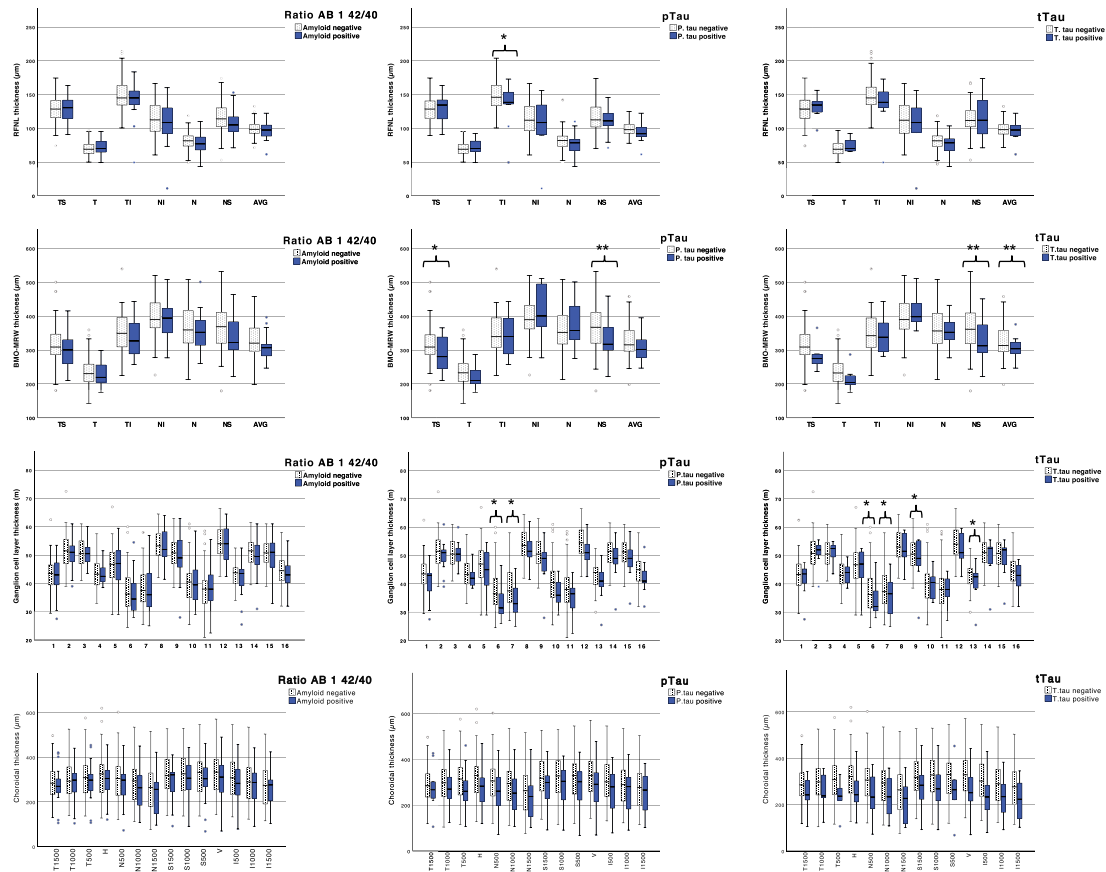


Fig. 2 A representation of the outcomes from the univariate analysis through bar charts. Each OCT parameter was compared with the three AD core biomarkers, A β 1–42/40 ratio, pTau, and tTau, and divided into healthy and disease cases by well-known cut-points. * and ** symbols highlight the outcomes with significant p -values ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). BMO-MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width; RNFL, retinal nerve fiber layer; GCL, ganglion cell layer; TS, temporal superior; T, temporal; TI, temporal inferior; NI, nasal inferior; N, nasal; NS, nasal superior; AVG, average

Once again, A β 1–42/40 ratio did not show significant association with any OCT measurements. The association between pTau and tTau with GCL measurements remained significant. Likewise, pTau CSF levels showed significant association with GCL in 6 TS, 9 TI and 13 TI sectors, and tTau showed significant association with GCL in 9 TI, 13 TI, and 14 TI sectors. Regarding RNFL and tTau, only the NI sector showed a significant association. None of the BMO-MRW assessments was significantly associated with any of the CSF markers. However, after the FDR correction, none of these nominal p -values remained significant.

The same multivariate analysis was performed for hippocampal volume. We consistently found that larger

hippocampal volumes were significantly associated with greater GCL thickness and vice versa. As shown in Table 2, GCL 1 TS, 2 TS, 3 NS, 4 NS, 5 TS, 8 NS, 9 TI, 12 NI 13 TI, 14 TI, 15 NI, and 16 NI sectors were statistically associated to hippocampal volume. Besides, RNFL displayed significant association in many sectors: TI, NI, N, and NS. No association was found with BMO-MRW measurements. After FDR correction, most RNFL and GCL OCT measurements remained significantly associated with the hippocampal volume (Table 2).

In Table 3 we present the relationship between the average of all studied sectors of the RNFL, the GCL and BMO-MRW, and all AD biomarkers. Larger hippocampal

Table 2 Multivariate analysis including all OCT outcomes statistically significant in the univariate analysis

		Ratio AB 1–42/40		pTau		tTau		Hippocampal volume	
		Beta (95%CI)	p-value	Beta (95%CI)	p-value	Beta (95%CI)	p-value	Beta (95%CI)	p-value
BMO-MRW	TS	3.22E–5 (–5.12E–5 to 11.6E–5)	0.444	–0.07 (–0.16 to 0.02)	0.111	–0.42 (–0.92 to 0.07)	0.092	0.26 (–1.03 to 1.56)	0.688
	T	2.82E–5 (–8.35E–5 to 14.0E–5)	0.503	–0.02 (–0.14 to 0.11)	0.812	–0.14 (–0.81 to 0.54)	0.687	0.40 (–1.36 to 2.16)	0.651
	TI	3.16E–5 (–5.08E–5 to 11.4E–5)	0.448	0.01 (–0.08 to 0.10)	0.800	–0.01 (–0.51 to 0.49)	0.968	0.49 (–0.80 to 1.79)	0.448
	NI	2.4E–5 (–4.84E–5 to 9.71E–5)	0.006	0.02 (–0.06 to 0.10)	0.672	0.07 (–0.37 to 0.51)	0.756	0.80 (–0.32 to 1.92)	0.158
RNFL	N	4.04E–5 (–3.06E–5 to 11.1E–5)	0.261	–0.03 (–0.11 to 0.05)	0.425	–0.21 (–0.63 to 0.22)	0.336	0.99 (–0.09 to 2.07)	0.071
	NS	6.64E–5 (–3.06 to 13.5E–5)	0.056	–0.07 (–0.15 to 0.01)	0.073	–0.56 (–0.78 to 0.07)	0.099	0.76 (–0.37 to 1.89)	0.183
	TS	–9.23E–5 (–32.5E–5 to 14.1E–5)	0.434	0.08 (–0.18 to 0.34)	0.561	0.49 (–0.90 to 1.88)	0.485	1.18 (–2.63 to 4.98)	0.539
	T	–13.8E–5 (–0.001 to 27.1E–5)	0.505	0.32 (–0.12 to 0.78)	0.150	2.22 (–0.18 to 4.61)	0.069	–0.19 (–7.00 to 6.60)	0.954
CGL	TI	7.68E–5 (–10.7E–5 to 26.1E–5)	0.408	–0.17 (–0.37 to 0.04)	0.108	–0.97 (–2.05 to 0.11)	0.076	3.77 (0.90 to 6.63)	0.011*
	NI	5.71E–5 (–11.0E–5 to 22.5E–5)	0.500	–0.15 (–0.33 to 0.04)	0.120	–1.02 (–2.00 to –0.41)	0.041	3.38 (0.75 to 6.01)	0.013*
	N	5.08E–5 (–23.7E–5 to 33.8E–5)	0.726	–0.04 (–0.36 to 0.28)	0.813	–0.76 (–2.47 to 0.94)	0.337	6.81 (2.45 to 11.17)	0.003*
	NS	0.00 (–7.63E–5 to 31.5E–5)	0.228	–0.10 (–0.32 to 0.12)	0.364	–0.71 (–1.87 to 0.46)	0.232	4.25 (0.96 to 7.54)	0.012*
	TS 1	–1.94E–5 (–0.001 to 0.001)	0.959	–0.53 (–1.36 to 0.29)	0.200	–2.26 (–6.70 to 2.18)	0.314	17.13 (5.69 to 25.57)	0.004
	TS 2	–8.72E–5 (–0.001 to 0.001)	0.823	–0.37 (–1.23 to 0.48)	0.390	–1.97 (–6.57 to 2.64)	0.398	15.58 (3.54 to 27.62)	0.012*
	NS 3	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.722	–0.12 (–1.09 to 0.86)	0.811	–0.88 (–6.13 to 4.36)	0.738	17.85 (3.89 to 31.81)	0.013*
	NS 4	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.744	–0.12 (–1.13 to 0.89)	0.812	–0.73 (–6.14 to 4.67)	0.788	17.33 (2.51 to 32.16)	0.023*
	TS 5	4.14E–5 (–0.001 to 0.001)	0.902	–0.41 (–1.15 to 0.32)	0.268	–2.61 (–6.56 to 1.35)	0.193	14.66 (4.58 to 24.74)	0.005*
	TS 6	0.00 (0.000 to 0.001)	0.123	–0.78 (–1.49 to –0.07)	0.032	–3.57 (–7.42 to 0.28)	0.069	4.23 (–6.25 to 14.70)	0.424
	NS 7	0.00 (0.000 to 0.001)	0.193	–0.65 (–1.36 to 0.05)	0.070	–3.25 (–7.07 to 0.57)	0.094	6.08 (–4.28 to 16.44)	0.246
	NS 8	–1.56E–5 (–0.001 to 0.001)	0.971	–0.44 (–1.40 to 0.52)	0.361	–3.08 (–8.21 to 2.05)	0.235	18.93 (5.68 to 32.19)	0.006*
	TI 9	0.00 (0.000 to 0.001)	0.516	–0.88 (–1.69 to –0.08)	0.032	–4.76 (–9.07 to –0.44)	0.031	13.26 (1.75 to 24.77)	0.025*
	TI 10	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.726	–0.46 (–1.21 to 0.28)	0.219	–1.49 (–5.51 to 2.54)	0.465	2.79 (–8.02 to 13.62)	0.608
	NI 11	0.00 (0.000 to 0.001)	0.705	–0.37 (–1.04 to 0.31)	0.285	–1.61 (–5.25 to 2.04)	0.384	4.06 (–5.70 to 13.82)	0.410
	NI 12	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.480	–0.69 (–1.63 to 0.26)	0.150	–3.87 (–8.94 to 1.19)	0.132	13.53 (0.01 to 27.05)	0.050
	TI 13	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.494	–1.04 (–2.05 to –0.02)	0.045	–5.43 (–10.89 to 0.03)	0.051	20.42 (5.70 to 35.14)	0.007*
	TI 14	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.567	–0.81 (–1.70 to 0.08)	0.073	–4.65 (–9.42 to 0.11)	0.055	16.39 (3.68 to 29.10)	0.012*
	TI 15	3.81E–5 (–0.001 to 0.001)	0.926	–0.75 (–1.65 to 0.14)	0.097	–4.38 (–9.17 to 0.41)	0.073	14.24 (1.37 to 27.12)	0.031*
	TI 16	0.00 (–0.001 to 0.001)	0.458	–0.70 (–1.65 to 0.25)	0.146	–3.43 (–8.54 to 1.69)	0.187	16.04 (2.23 to 29.85)	0.023*

Significative values ($p < 0.005$) are in bold

Significative values after the false discovery rate are distinguished with an asterisk

Abbreviations: BMO-MRW, Bruch's membrane opening-minimum rim width; GCL, ganglion cell layer; I, inferior; N, nasal; RNFL, retinal nerve fiber layer; S, superior; T, temporal

Table 3 Multivariate analysis including the average of OCT outcomes statistically significant in the univariate analysis

	Ratio AB 1 42/40			pTau			tTau			Hippocampal volume		
	Beta	(95%CI)	p-value	Beta	(95%CI)	p-value	Beta	(95%CI)	p-value	Beta	(95%CI)	p-value
AVG BMO-MRW	6.47E-5	(- 2.74E-5 to 15.7E-5)	0.166	- 0.5	(- 0.16 to 0.06)	0.335	- 0.21	(- 0.79 to 0.36)	0.465	1.32	(- 0.16 to 2.80)	0.080
AVG RNFL	8.97E-5	(- 29.6E-5 to 47.6E-5)	0.645	- 0.14	(- 0.57 to 0.29)	0.517	- 1.06	(- 3.36 to 1.23)	0.361	8.91	(3.06 to 14.76)	0.003
AVG GCL	- 0.00	(- 0.001 to 0.001)	0.097	- 0.87	(- 1.89 to 0.16)	0.097	- 4.46	(- 9.99 to 1.06)	0.112	18.04	(3.50 to 32.58)	0.016

Significative values ($p < 0.005$) are in bold
Abbreviations: BMO-MRW Bruch's membrane opening-minimum rim width, GCL Ganglion cell layer, / Inferior, N Nasal, RNFL Retinal nerve fiber layer, S Superior, T Temporal

Table 4 Multivariate analysis including ganglion cell layer analysis clustered in 4 sectors

	Ratio AB 1 42/40		pTau		tTau		Hippocampal volume	
	Beta (95%CI)	p-value	Beta (95%CI)	p-value	Beta (95%CI)	p-value	Beta (95%CI)	p-value
GCL TS	1.86E−4 (− 0.001 to 0.001)	0.655	− 0.74 (− 1.64 to 0.17)	0.109	− 3.66 (− 8.54 to 1.21)	0.139	16.73 (4.10 to 29.37)	0.010*
GCL NS	1.45E−4 (− 0.001 to 0.001)	0.771	− 0.59 (− 1.67 to 0.50)	0.284	− 3.35 (− 9.17 to 2.48)	0.257	20.15 (4.73 to 35.57)	0.011*
GCL TI	2.30E−4 (− 0.001 to 0.001)	0.520	− 1.04 (− 2.03 to − 0.05)	0.039	− 5.20 (− 10.52 to 0.13)	0.050	15.89 (1.70 to 30.09)	0.029*
GCL NI	2.54E−4 (− 0.001 to 0.001)	0.582	− 0.83 (− 1.83 to 0.17)	0.103	− 4.32 (− 9.70 to 1.07)	0.115	14.69 (0.38 to 29.01)	0.044*

Significative values ($p < 0.005$) are in bold

Significative values after the false discovery rate are distinguished with an asterisk

Abbreviations: GCL Ganglion cell layer, I Inferior, N Nasal, RNFL Retinal nerve fiber layer, S Superior, T Temporal

volumes were significantly associated with greater RNFL and GCL thickness measurements.

In Table 4, the GCL data is grouped into 4 main sectors (TS, NS, TI, and NI) to obtain a summary view. Each contains the mean thickness of each area (mean of both eyes). TS is the compound of the mean thickness of sectors 1, 2, 5, and 6; NS is the compound of 3, 4, 7, and 8 sectors; TI is the compound of 9, 10, 13, and 14 sectors; and NI is the compound of 11, 12, 15, and 16 sectors. The TI sector shows nominal associations with all Tau and hippocampal volume markers. After FDR correction, the associations with the hippocampal volume remained significant.

Finally, the FCSRT delayed total recall did not show any correlation with the OCT parameters.

Discussion

Our main results show a nominally significant association between Tau (pTau) and both neurodegeneration biomarkers (tTau and, especially, hippocampal volume) and GCL degeneration. To a lesser degree, we detected an association between Tau and hippocampal volume with RNFL. Despite the exploratory nature of our design, the consistency of our results is remarkable, as all of the GCL associated areas showed the same pattern: the more tTau or pTau levels in the CSF, the thinner was the GCL layer. The opposite was found for the hippocampal volume: larger hippocampal volumes were associated with thicker GCL layers and vice versa. Moreover, the same patterns were present in the RNFL analysis. However, after adjusting the p -values using FDR correction, only the hippocampal volume was associated with GCL and RNFL parameters. In contrast, CT did not show any significant correlation with CSF biomarkers, and BMO-MRW measurements were associated with pTau and tTau status in isolated sectors, but p -values did not survive multivariate analysis. Overall, we found that none of the OCT measurements was associated with the amyloid biomarker (CSF A β 1–42/40 ratio). Finally, we found no association between the episodic memory test, FCSRT,

and any of the OCT biomarkers, which is concordant with the hypothesis that retinal changes precede cognitive problems.

The recent research framework for AD proposes an A/T/N classification system based on biomarkers in living patients, independently of cognitive status: “A” refers to the A β biomarker (A β PET or CSF), “T” refers to pathologic Tau (CSF pTau or PET-Tau), and “N” refers to neurodegeneration (CSF tTau, FDG-PET, or structural MRI) [42]. This new research framework is based on the rationale that AD is a continuum and the A/T/N classification captures the sequential pathological changes starting with A β deposition that would produce Tau pathology and, finally, neurodegeneration. Our results support the concept of AD as a continuous biological process [42, 43]. While no OCT measurements correlated with the A β biomarker, changes in the retina became significant in those individuals with positive pTau, especially in relation with positive neurodegeneration biomarkers like tTau and hippocampal atrophy. As shown in Fig. 1, the GCL damage was more extensive in those individuals whose biomarker profile showed a more advanced disease course. Moreover, we found that the correlation between CSF pTau and tTau (6 TS, 9 TI, 13 TI and 9 TI, 13 TI, 14 TI, respectively) with GCL was strongest in the macular peripheral sectors. The same pattern, with even larger effects, was found in the hippocampal volume analysis.

Only a handful of studies have suggested a link between AD biomarkers and retinal OCT measurements in cognitively unimpaired individuals [22, 29, 30]. Particularly, Asanad et al. [29] reported that the mean RNFL was thinner in individuals that had CSF biomarkers of AD pathology before cognitive deficits. Santos et al. [30] also found larger RNFL damage in preclinical AD relative to controls and related this damage to increased neocortical amyloid accumulation detected by ^{18}F -florbetapir A β PET. In contrast to our study, Santos and co-authors did not find an association between GCL thinning and AD biomarkers [30]. One possible explanation for these conflicting results is that some of the aforementioned

studies have less statistical power. While our population included 99 individuals (mean of both eyes, 191 eyes in total), these previous studies evaluated 43 participants and 56 eyes, respectively. In line with our results, Golzan et al. reported a significant difference in GCL thickness between AD, preclinical AD, and healthy controls [22]. However, they found no association between OCT measurements and PET imaging evidence of brain amyloidosis [22]. In comparison, in our study, we used CSF biomarkers, which are known to detect Alzheimer's pathological changes earlier than PET [44].

Other studies have investigated the relationship between MRI and retinal thickness in cognitively normal subjects, describing the association between gray matter volume or temporal lobe atrophy and retinal layer [28, 45, 46]. Casaletto et al. demonstrated an association between GCL loss and RNFL thinning with MTL atrophy in neurologically normal older adults [45]. Also, in line with our results, another group found that macular GCL and inner plexiform layer (IPL) thinning was associated with lower gray matter volume of the occipital and temporal lobes in elderly subjects [47]. Our results, adjusted by age, show that GCL damage is related not only to hippocampal atrophy but also to increased CSF pTau and tTau, suggesting that the most likely mechanism would be preclinical AD changes. According to this, Bevan et al. [48] reported, in a transgenic AD model, that degeneration in GCL happens simultaneously with the loss of hippocampal dendritic spines. Interestingly, this constitutes a key hallmark of AD research models, with spine loss particularly acute in the vicinity of amyloid plaques [49].

Despite the cross-sectional design, the predominant association between pTau CSF levels and thinning of the macular temporal peripheral sector of GCL would suggest that it is in this area where we might find the earliest AD-related degenerative changes in the retina of cognitively unimpaired individuals. Retinal ganglion cells, neurons located in the retinal GCL (mostly in the macula), are characterized by a soma from which the originating axon runs initially into the RNFL. Subsequently, these axons converge turning into the optic disc. There is increasing evidence describing the existence of AD pathology in the retina of AD patients [17, 50–58], specifically in the GCL [59]. However, the localization of these changes has been controversial. Neuroretinal damage (RNFL or GCL) in the upper, lower, or temporal macular sectors has been described [24, 27, 28, 60, 61], most likely reflecting that the tissues belonged to individuals at different time points in the Alzheimer's continuum. Koronyo et al. studied the distribution of A β plaques in the retina, reporting that A β deposits were frequently concentrated in the middle and far periphery of the superior quadrants along the blood vessels [17]. In line with

our results, a recent study found that the mid-peripheral retina showed more AD pathology than the central retina [62]. Furthermore, this study showed that the temporal retina had the strongest correlations with brain neuritic plaques and cerebral amyloid angiopathy, and this area showed the greatest contrast between AD and controls, leading the authors to suggest that it might be the optimal location for in vivo ocular imaging [62].

Limitations

A potential technical limitation of our study is the fact that CT thickness was measured manually after the EDI-OCT scan, providing us with a choroidal analysis based on subjective, non-automated measurements. To help overcome this hurdle, we tested the agreement in a control sample, and as shown in a previous publication, we proved to have high intra-observer and inter-observer reproducibilities [25]. A more general limitation of the present study is the relatively small sample size in comparison with the large number of OCT parameters measured, which might increase the probability of false positives. However, with our two-step design, we have sought to minimize the type 1 error. Additionally, we performed a FDR correction to account for multiple testing due to the large number of areas tested. Most importantly, we think that the consistency of the OCT associations across several biomarkers with similar meaning, like tTau and hippocampal volume, makes it highly unlikely that our results are explained by chance alone.

Conclusions

Our main finding was the significant association between GCL thickness, measured by OCT, with Tau and neurodegeneration biomarkers in cognitively unimpaired individuals. According to our results, macular temporal peripheral sectors of GCL may represent the areas with the greatest clinical potential for early screening; but this hypothesis requires sequential studies in a larger population to evaluate their clinical utility. Even though our study represents the largest cohort of cognitively unimpaired individuals assessed with OCT and multimodal AD biomarkers to date, our results should be considered exploratory. Future investigations including larger samples and analyzing prospectively the spatiotemporal changes of OCT measurements are needed to optimize the diagnostic utility of retinal imaging modalities in the diagnosis of preclinical AD.

Abbreviations

AD: Alzheimer's disease; A β : Beta-amyloid; A β 1–42: Beta-amyloid 1–42; BMO-MRW: Bruch's membrane opening-minimum rim width; CSF: Cerebrospinal fluid; CT: Choroidal thickness; D: Diopters; EDI: Enhanced depth imaging;

FDG: ^{18}F -fluorodeoxyglucose; FDR: False discovery rate; FCSRT: Free and Cued Selective Reminding Test; GCL: Ganglion cell layer; IN: Infero-nasal; I: Inferior; IT: Infero-temporal; IOP: Intraocular pressure; MRI: Magnetic resonance imaging; UHMV: Marqués de Valdecilla; OCT: Optical coherence tomography; pTau: Phosphorylated Tau; PET: Positron emission tomography; PPA: Posterior pole analysis; RFNL: Retinal nerve fiber layer; ST: Superior-temporal; S: Superior; SN: Superior-nasal; FH: Subfoveal horizontal scan; FV: Subfoveal vertical scan; tTau: Total Tau.

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13195-022-00998-6>.

Additional file 1. Ophthalmological variables analysis as possible confounders. Potential confounders were evaluated by comparing ophthalmological variables (like IOP, pachymetry, AL and refractive error) in individuals with positive versus negative AD biomarkers. These variables did not show significant associations with CSF AD biomarkers.

Acknowledgements

We thank the Valdecilla Biobank (PT17/0015/0019), a member of the Spanish Biobank Network, for their support and collaboration in the sample collection and management. Our heartfelt thanks to the participants of the Valdecilla Cohort for their generosity.

Authors' contributions

AL-de-E designed the work; acquired, analyzed, and interpreted the data; drafted the work and substantively revised it; and approved the submitted version. SLG approved the submitted version. CL approved the submitted version. AP approved the submitted version. MGM approved the submitted version. MK approved the submitted version. MB approved the submitted version. JI acquired and analyzed the data and approved the submitted version. MLH approved the submitted version. PMC analyzed the data and approved the submitted version. NRP analyzed the data and approved the submitted version. DTG acquired and analyzed the data and approved the submitted version. CN acquired the data. AG revised the work and approved the submitted version. ERR revised the work and approved the submitted version. AC designed the work and analyzed and interpreted the data. PSJ designed the work, analyzed and interpreted the data, drafted the work, and substantively revised it. The author(s) read and approved the final manuscript.

Funding

This work was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III (Fondo de Investigación Sanitaria, PI08/0139, PI12/02288, PI16/01652, PI20/01011), *Journal of Place Management and Development* (JPND) (DEMTEST PI11/03028), Centro Investigación Biomédica en Red Enfermedades (CIBERNED), and Siemens Healthineers AG. Availability of data and materials The datasets used and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethics approval and consent to participate

The study protocol and the written consent were approved by the Ethics Committee of the UHMV (reference number 2018.111), and it was performed following the principles of the Declaration of Helsinki. Written consent forms were signed by all participants before examinations. All patients enrolled were able to understand the information contained in the written consent and they were not legally incompetent.

Consent for publication

Not applicable.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author details

¹Department of Ophthalmology, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' Santander, University of Cantabria, Santander, Spain. ²Cognitive Impairment Unit, Neurology Service and Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas (CIBERNED), 'Marqués de Valdecilla' University Hospital, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla' (IDIVAL), University of Cantabria, Santander, Spain. ³Department of Immunology, 'Marqués de Valdecilla' University Hospital of Cantabria, Institute for Research 'Marqués de Valdecilla', Santander, Spain. ⁴Department of Medicina Familiar y Comunitaria, IDIVAL, Santander, Spain. ⁵Valdecilla Biomedical Research Institute (IDIVAL), Santander, Spain. ⁶MARBECE Univ Montpellier, CNRS, Ifremer, IRD, Palavas-les-Flots, France.

Received: 30 July 2021 Accepted: 4 April 2022

Published online: 21 April 2022

References

- Tolar M, Abushakra S, Sabbagh M. The path forward in Alzheimer's disease therapeutics: reevaluating the amyloid cascade hypothesis. *Alzheimer's Dementia*. 2020;16(11):1553–60.
- Visser PJ, Verhey F, Knol DL, Scheltens P, Wahlund L-O, Freund-Levi Y, et al. Prevalence and prognostic value of CSF markers of Alzheimer's disease pathology in patients with subjective cognitive impairment or mild cognitive impairment in the DESCRIPA study: a prospective cohort study. *Lancet Neurol*. 2009;8(7):619–27.
- Fagan AM, Roe CM, Xiong C, Mintun MA, Morris JC, Holtzman DM. Cerebrospinal fluid Tau/ β -amyloid42 ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch Neurol*. 2007;64(3):343–9.
- Mattsson N, Henrik Z, Hansson O, Andreasen N, Parnetti L, Jonsson M, et al. CSF biomarkers and incipient Alzheimer disease in patients with mild cognitive impairment. *JAMA*. 2009;302(4):385–93.
- Haan J, Kreeke JA, Konijnenberg E, Kate M, Braber A, Barkhof F, et al. Retinal thickness as a potential biomarker in patients with amyloid-proven early- and late-onset Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia*. 2019;11(1):463–71.
- Besson FL, la Joie R, Doeuve L, Gaubert M, Mezenge F, Egret S, et al. Cognitive and brain profiles associated with current neuroimaging biomarkers of preclinical Alzheimer's disease. *J Neurosci*. 2015;22, 35(29):10402–11.
- Chételat G, la Joie R, Villain N, Perrotin A, de La Sayette V, Eustache F, et al. Amyloid imaging in cognitively normal individuals, at-risk populations and preclinical Alzheimer's disease. *NeuroImage*. 2013;2:356–65.
- Arneric SP, Batrla-Utermann R, Beckett L, Bittner T, Blennow K, Carter L, et al. Cerebrospinal fluid biomarkers for Alzheimer's disease: a view of the regulatory science qualification landscape from the coalition against major diseases CSF biomarker team. *J Alzheimer's Dis*. 2016;55(1):19–35.
- Johnson KA, Schultz A, Betensky RA, Becker JA, Sepulcre J, Rentz D, et al. Tau positron emission tomographic imaging in aging and early Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2016;79(1):110–9.
- Ossenkopppele R, Schonhaut DR, Schöll M, Lockhart SN, Ayakta N, Baker SL, et al. Tau PET patterns mirror clinical and neuroanatomical variability in Alzheimer's disease. *Brain*. 2016;139(5):1551–67.
- Dubois B, Feldman HH, Jacova C, DeKosky ST, Barberger-Gateau P, Cummings J, et al. Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurol*. 2007;6(8):734–46.
- Tu P, Fu H, Cui M. Compounds for imaging amyloid- β deposits in an Alzheimer's brain: a patent review. *Expert Opin Therapeut Patents*. 2015;25(4):413–23.
- Khan TK, Alkon DL. Alzheimer's disease cerebrospinal fluid and neuroimaging biomarkers: diagnostic accuracy and relationship to drug efficacy. *J Alzheimer's Dis*. 2015;46(4):817–36.
- Trost A, Lange S, Schroedl F, Bruckner D, Motloch KA, Bogner B, et al. Brain and retinal pericytes: origin, function and role. *Frontiers in Cellular Neuroscience*. 2016;10:20.
- Byerly MS, Blackshaw S. Vertebrate retina and hypothalamus development. *Wiley Interdisciplin Rev*. 2009;1(3):380–9.

16. Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia A-S, McNamara JO, et al. *Neuroscience*. 2nd ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2001. p. 11–2.
17. Koronyo Y, Biggs D, Barron E, Boyer DS, Pearlman JA, Au WJ, et al. Retinal amyloid pathology and proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI Insight*. 2017;2(16):e93621.
18. Huang D, Swanson E, Lin C, Schuman J, Stinson W, Chang W, et al. Optical coherence tomography. *Science*. 1991;254(5035):1178–81.
19. Pellegrini M, Vagge A, Ferro Desideri L, Bernabei F, Triolo G, Mastropasqua R, et al. Optical coherence tomography angiography in neurodegenerative disorders. *Journal of. Clin Med*. 2020;9(6):1706.
20. Zhou W, Tao J, Li J. Optical coherence tomography measurements as potential imaging biomarkers for Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2021;28(3):763–74.
21. Vidal-Jordana A, Pareto D, Cabello S, Alberich M, Rio J, Tintore M, et al. Optical coherence tomography measures correlate with brain and spinal cord atrophy and multiple sclerosis disease-related disability. *Eur J Neurol*. 2020;27(11):2225–32.
22. Golzan SM, Goozee K, Georgevsky D, Avolio A, Chatterjee P, Shen K, et al. Retinal vascular and structural changes are associated with amyloid burden in the elderly: ophthalmic biomarkers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res Ther*. 2017;9(1):13.
23. Kwon JY, Yang JH, Han JS, Kim DG. Analysis of the retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Korean J Ophthalmol*. 2017;31(6):548–56.
24. Cheung CY, Ong YT, Hilal S, Ikram MK, Low S, Ong YL, et al. Retinal ganglion cell analysis using high-definition optical coherence tomography in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*. 2015;45(1):45–56.
25. López-de-Eguileta A, Lage C, López-García S, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierzczak M, et al. Evaluation of choroidal thickness in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. *PLOS One*. 2020;15(9):e0239484.
26. Bulut M, Yaman A, Erol MK, Kurtuluş F, Toslak D, Doğan B, et al. Choroidal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's type dementia. *J Ophthalmol*. 2016;2016:7291257.
27. Choi SH, Park SJ, Kim NR. Macular ganglion cell-inner plexiform layer thickness is associated with clinical progression in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2016;11(9):e0162202.
28. Liu S, Ong Y-T, Hilal S, Loke YM, Wong TY, Chen CL-H, et al. The association between retinal neuronal layer and brain structure is disrupted in patients with cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis*. 2016;54(2):585–95.
29. Asanad S, Fantini M, Sultan W, Nassisi M, Felix CM, Wu J, et al. Retinal nerve fiber layer thickness predicts CSF amyloid/Tau before cognitive decline. *PLoS One*. 2020;15(5):e0232785.
30. Santos CY, Johnson LN, Sinoff SE, Festa EK, Heindel WC, Snyder PJ. Change in retinal structural anatomy during the preclinical stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dementia*. 2018;10(1):196–209.
31. Alcolea D, Pegueroles J, Muñoz L, Camacho V, López-Mora D, Fernández-León A, et al. Agreement of amyloid PET and CSF biomarkers for Alzheimer's disease on Lumipulse. *Annals of Clinical and Translational. Neurology*. 2019;6(9):1815–24.
32. Fischl B, Salat DH, Busa E, Albert M, Dieterich M, Haselgrove C, et al. Whole brain segmentation. *Neuron*. 2002;33(3):341–55.
33. Casado A, López-de-Eguileta A, Gaitán J, Fonseca S, Gordo-Vega MA. Peripapillary and macular choroidal thickness before and after phenylephrine instillation. *Eye*. 2019;33(11):1741–7.
34. Dulku S. Generating a random sequence of left and right eyes for ophthalmic research. *Investigative Ophthalmology & Visual. Science*. 2012;53(10):6301–2.
35. Casado A, Cerveró A, López-de-Eguileta A, Fernández R, Fonseca S, González JC, et al. Topographic correlation and asymmetry analysis of ganglion cell layer thinning and the retinal nerve fiber layer with localized visual field defects. *PLoS One*. 2019;14(9):e0222347.
36. 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):2303–9.
37. Sastre-Ibañez M, Martínez-de-la-Casa JM, Rebolleda G, Cifuentes-Canorea P, Nieves-Moreno M, Morales-Fernandez L, et al. Utility of Bruch membrane opening-based optic nerve head parameters in myopic subjects. *Eur J Ophthalmol*. 2018;28(1):42–6.
38. Rebolleda G, Casado A, Oblanca N, Muñoz-Negrete F. The new Bruch's membrane opening-minimum rim width classification improves optical coherence tomography specificity in tilted discs. *Clin Ophthalmol*. 2016;10:2417–25.
39. 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.
40. López-de-Eguileta A, Lage C, López-García S, Pozueta A, García-Martínez M, Kazimierzczak M, et al. Ganglion cell layer thinning in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. *Alzheimer's & Dementia*. 2019;5(1):570–8.
41. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J Royal Stat Soc Ser B*. 1995;57(1):289–300.
42. Jack CR, Bennett DA, Blennow K, Carrillo MC, Feldman HH, Frisone GB, et al. A/T/N: an unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology*. 2016;87(5):539–47.
43. Jack CR, Knopman DS, Jagust WJ, Petersen RC, Weiner MW, Aisen PS, et al. Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. *Lancet Neurol*. 2013;12(2):207–16.
44. Luo J, Agboola F, Grant E, Masters CL, Albert MS, Johnson SC, et al. Sequence of Alzheimer disease biomarker changes in cognitively normal adults. *Neurology*. 2020;95(23):e3104–16.
45. Casaleto KB, Ward ME, Baker NS, Bettcher BM, Gelfand JM, Li Y, et al. Retinal thinning is uniquely associated with medial temporal lobe atrophy in neurologically normal older adults. *Neurobiol Aging*. 2017;51:141–7.
46. Mejia-Vergara AJ, Karanjia R, Sadun AA. OCT parameters of the optic nerve head and the retina as surrogate markers of brain volume in a normal population, a pilot study. *J Neurol Sci*. 2021;420:117213.
47. Ong Y-T, Hilal S, Cheung CY, Venkatasubramanian N, Niessen WJ, Vrooman H, et al. Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neurosci Letters*. 2015;584:12–6.
48. Bevan RJ, Hughes TR, Williams PA, Good MA, Morgan BP, Morgan JE. Retinal ganglion cell degeneration correlates with hippocampal spine loss in experimental Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica. Communications*. 2020;8(1):216.
49. Spires TL. Dendritic spine abnormalities in amyloid precursor protein transgenic mice demonstrated by gene transfer and intravitreal multiphoton microscopy. *J Neurosci*. 2005;25(31):7278–87.
50. Alexandrov PN, Pogue A, Bhattacharjee S, Lukiw WJ. Retinal amyloid peptides and complement factor H in transgenic models of Alzheimer's disease. *NeuroReport*. 2011;22(12):623–7.
51. Schön C, Hoffmann NA, Ochs SM, Burgold S, Filser S, Steinbach S, et al. Long-term in vivo imaging of fibrillar Tau in the retina of P301S transgenic mice. *PLoS One*. 2012;7(12):e53547.
52. Tsai Y, Lu B, Ljubimov AV, Girman S, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, et al. Ocular changes in TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Investigative Ophthalmology & Visual. Science*. 2014;55(1):523–34.
53. la Morgia C, Ross-Cisneros FN, Koronyo Y, Hannibal J, Gallassi R, Cantalupo G, et al. Melanopsin retinal ganglion cell loss in Alzheimer disease. *Ann Neurol*. 2016;79(1):90–109.
54. Grimaldi A, Brighi C, Peruzzi G, Ragozzino D, Bonanni V, Limatola C, et al. Inflammation, neurodegeneration and protein aggregation in the retina as ocular biomarkers for Alzheimer's disease in the 3xTg-AD mouse model. *Cell Death Dis*. 2018;9(6):685.
55. Hadoux X, Hui F, Lim JKH, Masters CL, Pébay A, Chevalier S, et al. Non-invasive in vivo hyperspectral imaging of the retina for potential biomarker use in Alzheimer's disease. *Nature. Communications*. 2019;10(1):4227.
56. Schultz N, Byman E, Wennström M. Levels of retinal amyloid- β correlate with levels of retinal IAPP and hippocampal amyloid- β in neuropathologically evaluated individuals. *J Alzheimer's Dis*. 2020;73(3):1201–9.
57. Shi H, Koronyo Y, Rentsendorj A, Regis GC, Sheyn J, Fuchs D-T, et al. Identification of early pericyte loss and vascular amyloidosis in Alzheimer's disease retina. *Acta Neuropathologica*. 2020;139(5):813–36.
58. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov A. v., Miller CA, Ko MK, Black KL, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's

- patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *NeuroImage*. 2011;54(Suppl 1):S204–17.
59. la Morgia C, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, Carelli V. Retinal ganglion cells and circadian rhythms in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and beyond. *Front Neurol*. 2017;8:162.
 60. Cunha JP, Proença R, Dias-Santos A, Almeida R, Águas H, Alves M, et al. OCT in Alzheimer's disease: thinning of the RNFL and superior hemiretina. *Graefes Archive for Clin Experimental Ophthalmol*. 2017;255(9):1827–35.
 61. 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 Dementia*. 2016;4(1):169–78.
 62. Lee S, Jiang K, McIlmoyle B, To E, Q Alis X, Hirsch-Reinshagen V, et al. Amyloid beta immunoreactivity in the retinal ganglion cell layer of the Alzheimer's eye. *Front Neurosci*. 2020;31:14:758.

Publisher's Note

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

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



Agradecimientos

Con la llegada de esta primavera, doy por finalizada mi tesis doctoral. Ha sido un camino largo y duro, que ha ido progresivamente dando sus frutos. Un camino que ha requerido tiempo y dedicación para que mis conocimientos crecieran, y para que las ideas evolucionaran dando forma, poco a poco, a las distintas partes del proyecto. Un camino que concluyo con resultados muy satisfactorios. Ha sido una etapa vital de grandes aprendizajes, tanto a nivel científico como a nivel personal y me gustaría expresar mi sincero agradecimiento a las personas que me han acompañado y ayudado durante estos 5 años de proyecto.

A mi director de tesis, Dr. Pascual Sánchez Juan, por darme a conocer un mundo inmenso y profundo, previamente desconocido para mi, como es la enfermedad de Alzheimer. Ha sido un placer y una gran suerte poder trabajar contigo, tenerte como maestro y guía y aprender de ti. Quiero agradecer tu empatía en los momentos más duros, tus ánimos y tu motivación. Gracias por creer en mí.

Al Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla; habéis sido para mí una pequeña familia durante los años de residencia en Santander. En especial a mis compañeros y amigos residentes; a Andrea Cerveró, mi residente pequeña, por organizar mi desorden y apoyarme con esa dulzura tan bonita. A Raúl Fernández, mi residente mayor, por acompañarme y cuidarme de cerca, volando allá donde yo vaya.

Al Servicio de Neurología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, en especial a Eloy Rodríguez, Sara López y Carmen Lage. Gracias por vuestra implicación, por el trabajo en equipo y por dedicar vuestro tiempo a enseñarme.

A Pedro Muñoz por su generosa colaboración, totalmente desinteresada, siempre que he pedido su ayuda.

A los pacientes, sin cuya participación no hubiéramos podido desarrollar este trabajo.

A Rosalía e Isora, compañeras y hermanas de profesión. Sois una inspiración para mi, tanto a nivel profesional como a nivel personal. Gracias por cuidarme tanto amigas.

A mis maestros retinólogos y amigos, Jesús Díaz, Nacho Vela y Jaume Crespí. Mi mayor aprendizaje dentro de la Oftalmología ha sido a vuestro lado. Nunca me habían enseñado con tanta dedicación, paciencia y cariño, con una generosidad sin límites. Sois un ejemplo brillante a seguir para mi, como personas y médicos.

A mis republicanos y científicos favoritos, Alexander Goikoetxea, Ainara Ruiz de Sabando y Paula Martínez. A pesar de recorrer caminos diferentes, todos compartimos un proyecto de tesis y habéis sido un gran apoyo para mí estos años. Me habéis ayudado en todo momento, con pequeños y grandes detalles, animándome a seguir trabajando.

A mis amigas, "*the only ones*", Raquel Guinea, Irene Michel, Laura Berasaluce, Arantza Díaz de Arcaya y Amaia Larrañaga. Sois la constante de mi vida desde mis primeros recuerdos. Un para siempre.

A mi familia, el pilar de mi vida. Gracias por quererme y cuidarme de forma tan incondicional.

