

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Análisis de la retina y la vía visual mediante OCT, OCTA y test psicofísicos en sujetos asintomáticos y de alto riesgo genético para el desarrollo de Enfermedad de Alzheimer

Analysis of the retina and visual pathway by OCT, OCTA and psychophysical tests in asymptomatic subjects at high genetic risk for the development of Alzheimer's disease

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Inés López Cuenca

Directores

José Manuel Ramírez Sebasión
Rosa de Hoz Montañana

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

Análisis de la retina y la vía visual mediante OCT, OCTA y test psicofísicos en sujetos asintomáticos y de alto riesgo genético para el desarrollo de Enfermedad de Alzheimer.

Analysis of the retina and visual pathway by OCT, OCTA and psychophysical tests in asymptomatic subjects at high genetic risk for the development of Alzheimer's disease.

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Inés López Cuenca

DIRECTORES

Prof. D. José Manuel Ramírez Sebastián
Prof^a. Dña. Rosa de Hoz Montañana

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo



TESIS DOCTORAL CON MENCIÓN INTERNACIONAL

**Análisis de la retina y la vía visual mediante OCT, OCTA y
test psicofísicos en sujetos asintomáticos y de alto riesgo
genético para el desarrollo de Enfermedad de
Alzheimer.**

*Analysis of the retina and visual pathway by OCT, OCTA and
psychophysical tests in asymptomatic subjects at high genetic
risk for the development of Alzheimer's disease.*

PRESENTADA POR

Inés López Cuenca

Directores

Prof. D. José Manuel Ramírez Sebastián

Prof^a. Dña. Rosa de Hoz Montañana

Madrid, 2022

Esta tesis ha sido financiada por:



El contrato de Programa de Personal Investigador en Formación de la UCM: CT42/18-CT43/18.



RETICS Patología Ocular (RD16/0008/0005): “Enfermedades oculares: Prevención, detección precoz, tratamiento y rehabilitación de las patologías oculares”

*“La ciencia es como una historia de amor con la naturaleza,
una evasiva, amante seductora.*

*Tiene toda la turbulencia, giros y vueltas del amor romántico,
pero eso es parte del juego.”*

Vilayanur Ramachadran

A mi familia

Agradecimientos

La primera vez que entré al Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo fue como paciente/alumna y 8 años después me encuentro en este mismo lugar, que ya considero mi hogar, presentando mi tesis doctoral.

José Manuel Ramírez Sebastián, Catedrático de oftalmología y maestro. Gracias por todas las enseñanzas, tanto en el ámbito clínico, en la docencia y a nivel personal. Gracias por contagiarme la ilusión por la investigación, por darme la oportunidad de ser tu “compañera” y por todas las horas invertidas, en las que el trabajo codo con codo ha hecho posible que esta investigación vea la luz. Gracias de todo corazón.

Rosa de Hoz Montañana, Profesora Titular y madre científica. Gracias por todas las enseñanzas. Gracias por estar siempre ahí, por dejar todo para ver un paciente, solucionar una duda o incluso escribir o recortar un *abstract*. Es un gusto poder aprender de ti tanto en lo profesional como en lo personal. Gracias por todo tu cariño y generosidad.

Ana I. Ramírez Sebastián, Profesora Titular. Gracias por todas las enseñanzas, por tu predisposición siempre a ayudar y por todas tus correcciones y consejos. Gracias por tu cariño y generosidad durante estos años.

Juan José Salazar Corral, Profesor Titular. Gracias por tus enseñanzas, por estar siempre pendiente de nosotros y estar siempre disponible, independientemente de que sean las 11 de la noche o fin de semana. Gracias por enfrentarte a toda la burocracia con la que peleas día y noche y que nos facilita el camino a todos. Gracias por tu cariño y generosidad durante estos años.

Elena Salobrar García Martín, Profesora Ayudante doctor. Gracias por tus enseñanzas y tus tirones de orejas. Por estar siempre pendiente de nosotros y saber cuál es el siguiente paso a dar y aconsejarnos desde la experiencia. Gracias por todos tus consejos tanto en lo profesional como en lo personal durante todos estos años.

José Antonio Fernández Albarral, Contratado predoctoral. Gracias compañero por tu ayuda y preguntar siempre en qué puedes ayudar. Gracias por esas conversaciones que hacían más amenos los fines de semana de animalario. Gracias por todo.

Lidia Sánchez-Puebla Fernández, Contratada predoctoral. Gracias compañera y amiga por todo. Por tus enseñanzas, por estar siempre pendiente en cómo puedes ayudar, por tu enorme generosidad y por hacerme la vida mucho más fácil. Gracias por tu comprensión y cariño.

Gracias a toda la **familia del Castroviejo**, por toda la ayuda prestada en la clínica, en el laboratorio y con la burocracia.

Thanks to Professor **María Francesca Cordeiro**, for giving me the opportunity to be a part in the Western Eye Hospital in London. Thanks to my ICORG colleagues.

Gracias a todos los **compañeros del proyecto COGDEM**, quienes siempre han estado pendientes de ayudar y colaborar en todo. A todos los participantes por su implicación y compromiso. Sin ellos esta tesis doctoral no habría sido posible.

Gracias a **todos mis amigos**. Gracias por entender los “no puedo”, los “no tengo tiempo” o los “estoy muy agobiada”. Gracias por seguir apoyándome, creer en mí y por todas las muestras de cariño.

Reservo la parte final de estos agradecimientos a mi **FAMILIA**

Álvaro, gracias por tu amor, por tu generosidad, por hacerme la vida tan fácil y por cuidar tanto de mí y los míos. Puedo asegurar que eres la mejor persona que conozco. Gracias por tirar de mí en esos momentos que todo lo veía nublado y por todos “Sin agobios. Después de una cosa viene la otra”. Gracias por tu comprensión, por tu escucha y por tu paciencia infinita. Este proyecto nos ha robado mucho tiempo, pero tenemos toda una vida para disfrutar. Te quiero.

A mis suegros **María y Fermín**. Gracias por hacerme sentir como una hija más desde el primer momento. Por confiar en este proyecto y creer en mí. Gracias por vuestro cariño y por ser y hacer familia.

A mi cuñada, **María**. Gracias por ser como una hermana. Por todo el cariño y confiar en mí. Gracias por ser y hacer familiar.

A mis tíos, **Jesús y Carmen** y mi prima, **Esther**, gracias por todo.

Gracias a mis tíos, **Adelita, Joaquín, M^a Ángeles y José**, por creer en mí, por estar siempre pendientes de que no me falte de nada y cuidarnos tanto a todos. Gracias por vuestro cariño y generosidad.

A mi padre, **Ángel**. Gracias por tu apoyo, por tu cariño, y confiar en mí. Gracias por enseñarme los valores del esfuerzo y la constancia. Gracias por demostrarme siempre lo orgulloso que estás de mí. Yo también lo estoy de ti. Te quiero.

A mi abuela, **Tere**. Gracias por ser mi madre, por todo el cariño y generosidad. Por estar siempre pendiente de nosotros. Sin tu apoyo nada de esto hubiera sido posible. Te quiero.

A mi abuelo, **Gregorio**, para que desde dónde estés, sigas estando orgulloso de mí y veas hasta donde ha llegado esta “pisa pedales”.

A mi madre, **Mayte**, espero que estés donde estés sigas estando orgullosa de mí. Gracias por involucrarme desde pequeña los valores del esfuerzo y la constancia. Gracias por cuidar de nosotros. Te quiero.

ÍNDICE

0. ABREVIATURAS.....	23
1. RESUMEN/SUMMARY.....	31
1.1 RESUMEN EN ESPAÑOL.....	31
1.2 SUMMARY.....	35
2. HALLAZGOS ORIGINALES DE NUESTRO TRABAJO	41
3. INTRODUCCIÓN	45
3.1 DEMENCIA.....	45
3.1.1 <i>Historia de la demencia</i>	45
3.1.2 <i>Definición de la demencia</i>	48
3.1.2.1 Epidemiología de la demencia.....	49
3.1.2.2 Costes socioeconómicos de la demencia	50
3.1.3 <i>Clasificación de la demencia</i>	52
3.1.3.1 Clasificación de la demencia según la edad de inicio	52
3.1.3.2 Clasificación de la demencia según la estructura afectada:	55
3.1.3.3 Clasificación de la demencia según la causa o etiología.....	56
3.2 DEMENCIA TIPO ALZHEIMER.....	58
3.2.1 <i>Fisiopatología del Alzheimer</i>	59
3.2.2 <i>Epidemiología del Alzheimer</i>	64
3.2.3 <i>Factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer</i>	67
3.2.3.1 Factores de riesgo no modificables	67
3.2.3.2 Factores de riesgo modificables	70
3.2.4 <i>Fases de la enfermedad de Alzheimer</i>	80
3.2.4.1 Alzheimer preclínico.....	80
3.2.4.2 DCL debido a EA	83
3.2.4.3 Demencia debido a EA.....	83
3.3 GENÉTICA DE LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	85
3.3.1 <i>Genética de la enfermedad de Alzheimer familiar autosómica dominante</i>	85
3.3.1.1 Proteína precursora del amiloide (APP)	85
3.3.1.2 Presenilina 1 (PSEN1)	87
3.3.1.3 Presenilina 2 (PSEN2)	88
3.3.2 <i>Genética de EA familiar sin herencia mendeliana clara (agregación familiar)</i>	89
3.3.3 <i>Genética EA Esporádica o EA de inicio tardío sin agregación familiar</i>	90
3.3.3.1 Poliformismos de la apolipoproteína E (ApoE).....	90
3.4 DETECCIÓN Y DIAGNOSTICO ACTUAL DE LA DEMENCIA.....	91
3.4.1 <i>Criterios diagnósticos de la EA</i>	92
3.4.2 <i>Historia del paciente</i>	93
3.4.3 <i>Test Neuropsicológicos</i>	93
3.4.3.1 MMSE	94
3.4.3.2 MoCa.....	94
3.4.4 <i>Biomarcadores en la EA</i>	94
3.4.4.1 Pruebas de neuroimagen	95
3.4.4.2 Biomarcadores en LCR.....	98
3.4.4.3 Biomarcadores en plasma sanguíneo.....	100
3.4.4.4 Otros biomarcadores.....	100
3.5 EL OJO COMO PARTE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	101
3.5.1 <i>La retina</i>	104
3.5.2 <i>La vía visual</i>	105
3.5.2.1 La primera neurona: los fotorreceptores	107

3.5.2.2 La segunda neurona: células bipolares.....	107
3.5.2.3 La tercera neurona: células ganglionares de la retina.....	107
3.5.2.4 La cuarta neurona: el núcleo geniculado lateral.....	110
3.5.2.5 La corteza visual primaria.....	111
3.5.2.6 Corteza visual extraestriada.....	112
3.5.3 Análisis de la retina.....	114
3.5.3.1 Pruebas funcionales.....	114
3.5.3.2 Pruebas estructurales.....	117
3.6 AFECTACIÓN VISUAL EN LA EA.....	118
3.6.1 Polo posterior en la EA.....	119
3.6.1.1 Humor vítreo.....	119
3.6.1.2 Retina.....	120
3.6.1.3 Coroides en la EA.....	123
3.6.1.4 Nervio óptico en la EA.....	124
3.6.2 Polo anterior en la EA.....	124
3.6.2.1 La cornea y el humor acuoso.....	124
3.6.2.2 La pupila.....	125
3.6.2.3 Cristalino.....	125
3.6.3 Afectación de los test psicofísicos en la EA.....	126
3.6.3.1 AV en la EA.....	126
3.6.3.2 SC en la EA.....	127
3.6.3.3 Percepción del color en la EA.....	127
3.6.3.4 Test digital de percepción en la EA.....	128
3.6.4 Afectación de las pruebas estructurales en la EA.....	129
3.6.4.1. Tomografía de Coherencia óptica en la EA.....	129
3.6.4.2 Tomografía de coherencia óptica en modelos animales de la EA.....	130
3.6.4.3. Angiografía por tomografía de coherencia óptica en la EA.....	131
3.6.5 Afectación de otras estructuras del SNC en la EA.....	132
3.6.5.1 Núcleo geniculado lateral en la EA.....	132
3.6.5.2 Corteza visual en la EA.....	132
3.6.5.3 Afectación de otros núcleos cerebrales en la EA.....	133
3.6.6 Relaciones entre áreas retinianas y estructuras cerebrales.....	135
3.6.7 Patologías oculares y hallazgos oftalmológicos frecuentes en la EA.....	136
3.6.7.1 Retinopatía diabética y EA.....	136
3.6.7.2. Glaucoma y EA.....	136
3.7 DEGENERACIÓN MACULAR ASOCIADA A LA EDAD (DMAE) Y EA.....	137
3.7.1 Etiología y Genética de la DMAE y la EA.....	138
3.7.2 Similitudes y diferencias moleculares y estructurales entre drusas y placas de Aβ en el cerebro y la retina.....	139
4.JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS.....	145
5.OBJETIVOS.....	149
5.1 OBJETIVO PRIMARIO.....	149
5.2 OBJETIVO SECUNDARIOS.....	149
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	153
6.1 SELECCIÓN DE PACIENTES Y CONTROLES.....	153
6.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN OFTALMOLÓGICOS.....	155
6.2.1 Criterios de inclusión.....	155
6.2.2 Criterios de exclusión.....	155
6.3 PROTOCOLO DE OBTENCIÓN DE DATOS.....	156
6.4 DESCRIPCIÓN DE LAS PRUEBAS.....	157
6.4.1 Mini Mental State Examination.....	157
6.4.2 Genotipado del ApoE.....	157

6.4.3 OCT Spectralis para medida del grosor de la mácula segmentada en capas, la capa de fibras nerviosa en el área peripapilar y el espesor de la coroides.....	157
6.4.3.1 Análisis del grosor macular y peripapilar.....	158
6.4.3.2 Análisis del espesor coroideo.....	159
6.4.4 OCT para la caracterización de las drusas retinianas duras.....	160
6.4.5 OCTA para análisis de las zonas avasculares superficial y profunda, y la densidad vascular.163	
6.4.5.1 Análisis de las zonas avasculares foveales.....	163
6.4.5.2 Análisis vascular con el programa AngioTool.....	164
6.4.5.3 Análisis vascular con el programa Erlangen-Angio-Tool.....	167
6.4.6 Resonancia magnética.....	170
6.4.7 Agudeza visual.....	171
6.4.8 Sensibilidad al contraste.....	172
6.4.9 Test de percepción del color.....	174
6.4.10 Test Digital de percepción.....	175
6.4.11 Campimetría computerizada.....	176
6.4.12 Presión intraocular.....	177
6.4.13 Magnetoencefalografía.....	177
Preprocesamiento de la MEG.....	179
Reconstrucción de la fuente de MEG.....	179
Latencia M100.....	180
Análisis de tiempo-frecuencia.....	181
6.4.14 Estudio oftalmológico longitudinal.....	182
6.5 MÉTODO ESTADÍSTICO APLICADO.....	182
6.5.1 Estadística descriptiva.....	182
6.5.2 Estadística analítica.....	182
6.6 REPRESENTACIÓN COLORIMÉTRICA DE LOS RESULTADOS.....	183
7. RESULTADOS.....	187
7.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DEMOGRÁFICO.....	187
7.1.1 Análisis de la edad de la muestra.....	187
7.1.2 Análisis del sexo y etnia de la muestra.....	188
7.1.3 Análisis del MMSE de la muestra.....	189
7.1.4 Análisis grado educativo de la muestra.....	190
7.1.5 Análisis de los factores de riesgo cardiovascular de la muestra.....	191
7.1.5.1 Análisis de la incidencia del hipercolesterolemia (HCOL).....	191
7.1.5.2 Análisis de la incidencia de la hipertensión arterial (HTA).....	192
7.1.6 Análisis de la presión intraocular (PIO) de la muestra.....	194
7.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PRUEBAS ESTRUCTURALES DE LA RETINA.....	196
7.2.1 Estudio del espesor de la mácula por capas mediante OCT.....	196
7.2.1.1 Estudio del espesor de la mácula por capas por historia familiar.....	196
7.2.1.2 Estudio del espesor de la mácula por capas de la retina según la historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4.....	206
7.2.2 Estudio de la CFNR peripapilar mediante OCT.....	216
7.2.2.1 Estudio de la CFNR peripapilar según historia familiar.....	216
7.2.2.2 Estudio de la CFNR peripapilar según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4.....	217
7.3 ANÁLISIS DE CORRELACIONES ENTRE PRUEBAS ESTRUCTURALES DE OCT Y RM.....	219
7.3.1 Análisis del volumen de los sectores maculares por capas y de los grosores de la CFNR peripapilar.....	219
7.3.2 Análisis de los grosores y volúmenes de las áreas cerebrales.....	223
7.3.3 Correlaciones en sujetos con HF+ ApoE ε4+.....	225
7.3.3.1 Correlaciones entre áreas maculares y cerebrales.....	225
7.3.3.2 Correlaciones entre áreas peripapilares y cerebrales.....	226
7.3.4 Correlaciones en sujetos con HF- ApoE ε4-.....	228
7.3.4.1 Correlaciones entre áreas maculares y cerebrales.....	228
7.3.4.2 Correlaciones entre áreas peripapilares y cerebrales.....	230

7.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS TEST PSICOFÍSICOS	232
7.4.1 <i>Agudeza visual</i>	232
7.4.1.1 Análisis de la AV por historia familiar de la EA	232
7.4.1.2 Análisis de la AV por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y edad comprendida entre 40-60 años	233
7.4.1.3 Análisis de la AV por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y edades superiores a los 60 años	234
7.4.2 <i>Sensibilidad al contraste (SC)</i>	234
7.4.2.1 Análisis de la SC por historia familiar de la EA	234
7.4.2.2 Análisis de la SC por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y edad comprendida entre 40-60 años	235
7.4.2.3 Análisis de la SC por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y edades superiores a los 60 años	237
7.4.3 <i>Percepción del color</i>	238
7.4.3.1 Análisis de la percepción del color por historia familiar de la EA	238
7.4.3.2 Análisis de la percepción del color por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y edad comprendida entre 40-60 años	239
7.4.3.3 Análisis de la percepción del color por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y edades superiores a los 60 años	240
7.4.4 <i>Test Digital de Percepción (TDP)</i>	241
7.4.5 <i>Campimetría computerizada</i>	243
7.5 ANÁLISIS DE CORRELACIONES ENTRE LAS PRUEBAS OFTALMOLÓGICAS Y MAGNETOENCEFALOGRAFÍA	245
7.5.1 <i>Análisis de la función visual en diferentes grupos de estudio</i>	245
7.5.2 <i>Análisis del grosor de la retina del área macular y peripapilar en grupos de estudio</i>	247
Análisis del grosor macular	247
Análisis del grosor peripapilar	249
7.5.3 <i>Análisis mediante magnetoencefalografía</i>	249
Latencia máxima del M100	249
Análisis de tiempo-frecuencia	249
7.5.4 <i>Correlaciones entre pruebas de función visual, grosor retiniano y magnetoencefalografía</i>	250
7.6 ESTUDIO DE LAS DRUSAS RETINIANAS MEDIANTE OCT	253
7.6.1 <i>Caracterización de las drusas por historia familiar</i>	253
7.6.2 <i>Caracterización de las drusas por genotipo ApoE</i>	254
7.6.3 <i>Caracterización de las drusas por historia familiar y caracterización alélica del ApoE ϵ4</i>	256
7.6.4 <i>Caracterización de las drusas por historia familiar, genotipo ApoE y factores de riesgo cardiovasculares</i>	257
7.7 ESTUDIO DE LA VASCULARIZACIÓN	263
7.7.1 <i>Estudio del grosor coroideo mediante OCT</i>	263
7.7.2 <i>Estudio de la zona avascular foveal mediante OCTA</i>	266
7.7.3 <i>Estudio de la vascularización retiniana mediante OCTA y análisis de imagen con AngioTool y Erlangen</i>	267
7.4.2.1 Análisis de la densidad vascular según la historia familiar	267
7.4.2.2 Análisis de la densidad vascular según la historia familiar y caracterización alélica del ApoE ϵ 4	267
7.4.2.3 Análisis de la densidad vascular según la historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y factores de riesgo cardiovascular	268
7.8 ESTUDIO OFTALMOLÓGICO LONGITUDINAL	274
7.8.1 <i>Análisis longitudinal de las pruebas estructurales de la retina</i>	274
7.8.1.1 Estudio longitudinal del grosor macular total	274
7.8.1.2 Estudio longitudinal del grosor de la CFNR macular	276
7.8.1.3 Estudio longitudinal de la CCG	278
7.8.1.4 Estudio longitudinal de la CPI	280
7.8.1.5 Estudio longitudinal de la CNI	281
7.8.1.6 Estudio longitudinal de la CPE	283
7.8.1.6 Estudio longitudinal de la CNE	285
7.8.1.7 Estudio longitudinal del EPR	286
7.8.1.8 Estudio longitudinal de la CFNR peripapilar mediante OCT	288

7.8.2 Análisis longitudinal de la AV.....	289
7.8.3 Análisis longitudinal de la SC.....	291
7.8.4 Análisis longitudinal de la percepción del color	295
7.8.5 Análisis longitudinal del Test Digital de Percepción	299
7.8.6 Análisis longitudinal campimetría computerizada.....	302
8. DISCUSIÓN	307
8.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA DE LOS PARTICIPANTES DE ESTUDIO	309
8.2 CAMBIOS EN LAS PRUEBAS ESTRUCTURALES DE LA RETINA.....	311
8.2.1 Tomografía de coherencia óptica	311
8.3 CORRELACIÓN ENTRE VOLÚMENES Y GROSORES RETINIANOS Y VOLÚMENES Y GROSORES DE ÁREAS CEREBRALES	314
8.4 CAMBIOS EN LOS TEST PSICOFÍSICOS.....	318
8.5 CORRELACIÓN ENTRE PRUEBAS PSICOFÍSICAS Y MAGNETOENCEFALOGRAFÍA	320
8.6 CARACTERIZACIÓN DE LAS DRUSAS RETINIANAS	323
8.7 ANÁLISIS DE LA VASCULARIZACIÓN	327
8.7.1 Análisis de la medida de la coroides	327
8.7.2 Análisis de la zona avascular foveal.....	330
8.7.3 Análisis de la vascularización retiniana con OCTA	331
8.8 ESTUDIO LONGITUDINAL DE 27 MESES DE SEGUIMIENTO	335
8.8.1 Estudio longitudinal de la tomografía de coherencia óptica.	336
8.8.2 Estudio longitudinal de las pruebas funcionales	338
8.9 FORTALEZAS Y DEBILIDADES.....	338
9. CONCLUSIONES	343
9.1 CONCLUSIONES EN ESPAÑOL.....	343
9.2 CONCLUSIONES EN INGLÉS	345
10. BIBLIOGRAFÍA	349
11. ANEXOS.....	397
11.1 CONSENTIMIENTO INFORMADO	397
11.2 COMITÉ ÉTICO DEL PROYECTO COGDEM	401
11.3 COMITÉ ÉTICO DEL PROYECTO CONNECT-AD	402
11.4 CONTRATO PREDOCTORAL FORMACIÓN DEL PERSONAL INVESTIGADOR UCM.....	403
11.5 ESTANCIA INTERNACIONAL EN EL IMPERIAL COLLEGE OPHTHALMOLOGY RESEARCH GROUP-WESTERN EYE HOSPITAL	405
11.6 PUBLICACIONES CIENTÍFICAS DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL.....	409
11.6.1 Publicaciones "Under peer review"	410
11.7 COMUNICACIONES EN CONGRESOS CON RESULTADOS OBTENIDOS DURANTE LA REALIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL.	411
12. PUBLICACIONES CIENTÍFICAS COMPLETAS	418

0.ABREVIATURAS

0.ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
AA	Asociación de Alzheimer
A β	Beta Amiloide
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AICD	Dominio Intracelular Amiloide
ARN	Ácido ribonucleico
APP	Proteína Precursora del Amiloide
ApoE- ϵ 4	Alelo ϵ 4 para la apolipoproteína E
AQP4	Aquaporina-4
AV	Agudeza Visual
BHE	Barrera Hematoencefálica
BHR	Barrera Hematorretiniana
CCG	Capa de Células ganglionares
CEAFA	Confederación Española de Alzheimer
CFNR	Capa de Fibras Nerviosas de la Retina
CGR	Células Ganglionares de la Retina
CGRif	Células Ganglionares de la Retina intrínsecamente fotosensibles
CCG	Capa de Células Ganglionares de la Retina

CIE	Clasificación Internacional de Enfermedades
CNE	Capa Nuclear Externa
CNI	Capa Nuclear Interna
CPE	Capa Plexiforme Externa
CPI	Capa Plexiforme Interna
DCL	Deterioro Cognitivo Leve
DCS	Deterioro Cognitivo Subjetivo
DE	Desviación Estándar
DlamB	Depósitos Laminares Basales
DlinB	Depósitos Lineales Basales
DMAE	Degeneración Macular Asociada a la Edad
DM2	Diabetes Tipo 2
DMN	Default-mode network
DSM	Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales
DV	Demencia Vascular
EA	Enfermedad de Alzheimer
ECD	Etilcisteinato-dimero
ECA2	Encima Convertidora de la Angiotensina 2
EM	Esclerosis Múltiple
EMEA	Agencia Europea del Medicamento

EPR	Epitelio Pigmentario de la Retina
EROS	Especies Reactivas de Oxígeno
ERN	Especies Reactivas de Nitrógeno
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos
GFAP	Proteína Ácida Fibrilar Glial
Hb	Hemoglobina desoxigenada
HbO₂	Hemoglobina portadora de oxígeno
HCHWA-D	Hemorragia Hereditaria con Amiloidosis de tipo holandés
HMPAO	Hexametil-propilenoamino-oxima
INE	Instituto Nacional de Estadística
LCR	Líquido Cefalorraquídeo
LTM	Lóbulo Temporal Medial
MAR	Ángulo Mínimo de Resolución
MB	Membrana de Bruch
MMSE	Mini Mental State Examination
MLE	Membrana Limitante Externa
MLI	Membrana Limitante Interna
MoCA	Montreal Cognitive Assessment
NGL	Núcleo Geniculado Lateral
NIA-AA	Instituto Nacional sobre Envejecimiento y la Asociación Alzheimer

NfL	Neurofilamento de Cadena Ligera
NO₂	Dióxido de Nitrógeno
NTF	Ovillos Neurofibrilares
NPs	Hilos de Neuropilos
OCT	Tomografía de Coherencia Óptica
OCTA	Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica
OMS	Organización Mundial de la Salud
p-Tau	Proteína Tau hiperfosforilada
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
PIB	Producto Interior Bruto
PSEN1	Presenilina1
PSEN2	Presenilina2
RM	Resonancia magnética
RMf	Resonancia magnética funcional
PVP	Plexo Vascular Profundo
PVS	Plexo Vascular Superficial
SC	Sensibilidad al Contraste
SNC	Sistema Nervioso Central
sAPPα	APP soluble no patógeno
SITA	Swedish Interactive Threshold Algorithm

SPECT	Tomografía computerizada por emisión de fotón
t-Tau	Proteína Tau total
VIH	Virus de la Inmunodeficiencia Humana
ZAF	Zona Avascular Foveal

1. RESUMEN/ *SUMMARY*

1.RESUMEN/SUMMARY

1.1 Resumen en español

Análisis de la retina y la vía visual mediante OCT, OCTA y test psicofísicos en sujetos asintomáticos y de alto riesgo genético para el desarrollo de Enfermedad de Alzheimer

Introducción

La Enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que se caracteriza: por una atrofia cortical difusa, declive de las funciones cognitivas, así como la agregación anormal de proteínas como la beta amiloide fibrilar (A β) y tau hiperfosforilada (p-Tau).

El factor de riesgo prevalente es la edad avanzada, tras el cual destaca la herencia genética. El mayor factor de riesgo genético conocido es ser portador de al menos un alelo $\epsilon 4$ del gen de la apolipoproteína E (ApoE $\epsilon 4$). Otro de los factores que incrementa el riesgo para desarrollar la EA, es la historia familiar de primer grado

Los signos cerebrales de la EA aparecen décadas antes del inicio clínico de la enfermedad. Dado que la relación entre cerebro y retina se establece ya desde la etapa embrionaria, los cambios retinianos detectados con técnicas de diagnóstico oftalmológico en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA posibilitan la identificación de potenciales pacientes de EA en etapas muy tempranas.

Objetivos

Detectar los posibles cambios, morfológicos y funcionales en la en la vía visual de sujetos sanos y con alto riesgo genético de desarrollar EA (tener un padre o madre afecto de la enfermedad y ser portador de al menos un alelo $\epsilon 4$ para el gen del ApoE), empleando técnicas no invasivas y comparando los resultados con una población control.

Correlacionar los cambios estructurales oculares con estructuras cerebrales analizadas mediante resonancia magnética nuclear (RMN) y los cambios funcionales con los registros de los potenciales electrofisiológicos medidos mediante magnetoencefalografía (MEG).

Caracterizar las drusas retinianas en este tipo de sujetos teniendo en cuenta la historia familiar de la enfermedad, la caracterización alélica para el ApoE y los factores de riesgo cardiovascular como son la hipertensión (HTA), hipercolesterolemia (HCOL) y la diabetes mellitus (DM). Analizar el grosor coroideo y la vascularización retiniana.

Analizar cómo estos cambios evolucionaban realizando un seguimiento de 27 meses en estos sujetos.

Material y métodos

Todos los sujetos fueron sometidos a un genotipado para el gen de la ApoE. Además, se les realizó un examen oftalmológico completo que incluía: análisis de la agudeza visual (AV) y la sensibilidad al contraste (SC), percepción al color, campimetría computerizada, medida de la presión intraocular, test de digital percepción, Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) y angiografía por tomografía de coherencia óptica (OCTA). Se incluyeron en el estudio 211 sujetos de los cuales se incluyeron 32 sujetos con HF- ApoE $\epsilon 4$ - y 39 sujetos con HF+ ApoE $\epsilon 4$ +

Se correlacionaron los hallazgos oftalmológicos con las estructuras cerebrales tomadas mediante RMN, y se le realizó un registro de la actividad electrofisiológica mediante MEG.

Las drusas se caracterización mediante imágenes de alta reflectancia del fondo de ojo obtenidas mediante la OCT, así como los cortes transversales de la misma. Con estas imágenes también se midió el grosor coroideo. El análisis de la vascularización retiniana se realizó con las imágenes de OCTA mediante en dos software: Angio-Tool y el Erlangen-Angio-Tool.

Los participantes fueron seguidos oftalmológicamente a los 27 meses para comprobar la evolución de los cambios.

Resultados

Al analizar mediante OCT la retina los sujetos con HF+ ApoE $\epsilon 4$ + presentaron adelgazamientos estadísticamente significativos en el área macular en comparación con el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - en: i) el sector foveal de la CFNR; ii) los sectores nasales e inferiores, tanto del anillo macular interno como del externo de la CPI; iii) el sector foveal y el sector inferior del anillo macular externo de la CNI y iv) el sector inferior del anillo macular externo de la CPE. En la capa de fibras nerviosas peripapilar no encontramos cambios de grosor estadísticamente significativos.

Mediante RMN, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en los grosores ni los volúmenes cerebrales entre los grupos de estudio. Sin embargo, encontramos que los sectores de la retina que tenían descensos significativos del volumen se correlacionaban significativamente con el istmo cingulado, el giro lingual, el diencéfalo ventral, la corteza fusiforme o la región hipocampal.

Al analizar con test psicofísicos, los sujetos con HF+ ApoE ϵ 4+ (40-60 años) mostraban un incremento estadísticamente significativo de la AV y la SC en la frecuencia espacial de 12 ciclos por grado (cpg). Al analizar los registros electrofisiológicos en estos sujetos se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa entre la respuesta de la frecuencia-tiempo y la AV y la SC en la frecuencia de 18 cpg.

Todas las drusas encontradas eran drusas pequeñas. No parece existir una asociación entre la presencia y la ausencia de las mismas y HF ni la caracterización del ApoE. Sin embargo, los sujetos con HF+ ApoE ϵ 4- HCOL+ y drusas presentan adelgazamientos significativos de la coroides cuando se comparaba con el mismo grupo pero sin drusas.

Las coroides más adelgazadas correspondían a los sujetos HF- ApoE ϵ 4- y presencia de drusas. Y no se observaron cambios en el grosor coroidal ni en la zona avascular foveal de los sujetos con alto riesgo de desarrollo de la EA.

En sujetos con dos factores de riesgo aparece un aparente incremento de la densidad vascular en el área peripapilar. Cuando tenemos en cuenta los factores de riesgo vascular el plexo profundo del área macular es el que presenta mayor número de alteraciones.

A los 27 meses de seguimiento los cambios estructurales se mantienen en la CNI y las alteraciones en la AV y la SC se mantienen como en la primera visita.

Conclusiones

En sujetos con dos factores de riesgo genético para el desarrollo de la EA aparecen cambios estructurales y funcionales que podrían ser indicativos de un futuro desarrollo de la EA. La OCT, la OCTA, los test psicofísicos y su correlación con las RMN y la MEG hacen de estas pruebas oftalmológicas herramientas no invasivas, rentables y útiles para el seguimiento y cribado de estos sujetos con alto riesgo de desarrollo de la enfermedad.

1.2 Summary

Analysis of the retina and visual pathway by OCT, OCTA and psychophysical tests in asymptomatic subjects at high genetic risk for the development of Alzheimer's disease

Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease characterised by: diffuse cortical atrophy, decline in cognitive functions, as well as abnormal aggregation of proteins such as fibrillar amyloid beta (A β) and hyperphosphorylated tau (p-Tau).

The prevalent risk factor is older age, after which genetic inheritance is the most important. The major known genetic risk factor is carrying at least one ϵ 4 allele of the apolipoprotein E (ApoE ϵ 4) gene. Another factor that increases the risk of developing AD is a first-degree family history.

Brain signs of AD appear decades before clinical onset of the disease. Since the relationship between brain and retina is established as early as the embryonic stage, retinal changes detected with ophthalmological diagnostic techniques in subjects at high genetic risk for developing AD make it possible to identify potential AD patients at very early stages.

Aim

To detect possible morphological and functional changes in the visual pathway of healthy subjects at high genetic risk of developing AD (having a parent with the disease and being a carrier of at least one ϵ 4 allele for the ApoE gene), using non-invasive techniques and comparing the results with a control population.

To correlate ocular structural changes with brain structures analyzed by magnetic resonance imaging (MRI) and functional changes with electrophysiological potential recordings measured by magnetoencephalography (MEG).

To characterize retinal drusen in these subjects taking into account family history of the disease, allelic characterization for ApoE and cardiovascular risk factors such as hypertension (HT), hypercholesterolemia (HCOL) and diabetes mellitus (DM). To analyze choroidal thickness and retinal vascularization.

To analyze how these changes evolved over a 27-month follow-up period in these subjects.

Material and methods

All subjects underwent genotyping for the ApoE gene. In addition, they underwent a complete ophthalmological examination including: visual acuity (VA) and contrast sensitivity (CS) analysis, colour perception, computerised campimetry, intraocular pressure measurement, digital perception test, optical coherence tomography (OCT) and optical coherence tomography angiography (OCTA). A total of 211 subjects were included in the study of which 32 subjects with HF- ApoE ϵ 4- and 39 subjects with HF+ ApoE ϵ 4+ were included.

Ophthalmological findings were correlated with brain structures acquired by MRI, and electrophysiological activity was recorded by MEG.

The drusen were characterised using high reflectance fundus images obtained by OCT, as well as cross-sectional slices of the fundus. Choroidal thickness was also measured with these images. Analysis of retinal vascularisation was performed with OCTA images using two software packages: Angio-Tool and Erlangen-Angio-Tool.

Participants were followed ophthalmologically at 27 months to check the evolution of the changes.

Results

When analyzing the retina by OCT, subjects with FH+ ApoE ϵ 4+ showed statistically significant thinning of the macular area compared to the FH- ApoE ϵ 4- group in: i) the foveal sector of the nerve fiber layer; ii) the nasal and inferior sectors of both the inner and outer macular ring of the IPL; iii) the foveal sector and the inferior sector of the outer macular ring of the INL; and iv) the inferior sector of the outer macular ring of the OPL. In the peripapillary nerve fiber layer we found no statistically significant changes in thickness.

By MRI, we found no statistically significant differences in brain thicknesses or volumes between the study groups. However, we found that retinal sectors with significant decreases in volume correlated significantly with the cingulate isthmus, lingual gyrus, ventral diencephalon, fusiform cortex or hippocampal region.

When we analyzed with psychophysical tests, subjects with FH+ ApoE ϵ 4+ (40-60 years) showed a statistically significant increase in VA and CS at the spatial frequency of 12 cycles per degree (cpg). When analyzing electrophysiological recordings in these subjects, a statistically significant

positive correlation was found between the time-frequency response and VA and CS at the 18 cpg frequency.

All drusen found were small drusen. There appears to be no association between the presence and absence of drusen and FH or ApoE characterization. However, subjects with FH+ ApoE ϵ 4-HCL+ and drusen have significant choroidal thinning when compared to the same group but without drusen.

The most thinned choroids corresponded to HF- ApoE ϵ 4- subjects and presence of drusen. And no changes in choroidal thickness or foveal avascular zone were observed in subjects at high risk of developing AD.

In subjects with two risk factors there is an apparent increase in vascular density in the peripapillary area. When vascular risk factors are taken into account, the deep plexus of the macular area shows the greatest number of alterations.

At 27 months follow-up, the structural changes are maintained in the INL and the changes in VA and CS are the same as at the first visit.

Conclusions

In subjects with two genetic risk factors for the development of AD, structural and functional changes appear that may be indicative of future development of AD. OCT, OCTA, psychophysical tests and their correlation with MRI and MEG make these ophthalmological tests non-invasive, cost-effective and useful tools for the monitoring and screening of these subjects at high risk of developing the disease.

2. HALLAZGOS ORIGINALES DE NUESTRO TRABAJO

2.HALLAZGOS ORIGINALES DE NUESTRO TRABAJO

Este es el primer trabajo que muestra cambios estructurales y funcionales oculares, en sujetos con dos factores de riesgo genético para el desarrollo de la EA (historia familiar de la EA y presencia del alelo $\epsilon 4$ para el gen de la ApoE), sanos cognitivamente y sin patologías oculares previas

Además, por primera vez, los sectores maculares que mostraron cambios estadísticamente significativos, así como la CFNRp se correlacionaron con áreas cerebrales que se afectan de forma temprana en la EA como son el hipocampo, la corteza entorrinal y el giro lingual, las cuales fueron analizadas por RMN. También se analizaron las relaciones entre las pruebas de la función visual como la AV y la SC con los registros de magnetoencefalografía existiendo correlaciones significativas.

En este trabajo también, se aprecia por primera vez, cambios en los sistemas vasculares tanto de la retina, como de la coroides, estando estos cambios influenciados por los factores de riesgo cardiovascular (hipertensión e hipercolesterolemia) alterando el correcto funcionamiento de la retina y causando, en última instancia, la formación de drusas retinianas.

Por último, también presentamos un estudio longitudinal de 27 meses, en el cual se corroboran los cambios encontrados en la primera visita. Este es uno de los únicos estudios longitudinales puros, donde no se incluyen nuevos participantes a lo largo del tiempo, los sujetos analizados tienen un MMSE superior a 26, no presentan quejas cognitivas ni se encuentran en estadio preclínicos de la EA como el deterioro cognitivo leve (DCL) y son sujetos oftalmológicamente sanos.

3. INTRODUCCIÓN

3. INTRODUCCIÓN

La demencia es una enfermedad neurodegenerativa en la que se produce una disminución significativa del nivel cognitivo y que, además, causa interferencias en el desarrollo de labores ocupacionales, domésticas o sociales. En general, debe considerarse como un síndrome adquirido con múltiples causas posibles, en lugar de una enfermedad específica relacionada con el envejecimiento ¹.

La forma más común de demencia es la enfermedad de Alzheimer (EA), representando entre el 60-80% de los casos ². Ésta se caracteriza por la acumulación gradual en el cerebro de la proteína Beta-amiloide (A β) y la proteína Tau (pTau) ^{3,4}, iniciándose esta agregación incluso 20 años antes del inicio de los síntomas ⁵.

Tras la edad, dos de los factores de riesgo más importante para el desarrollo de la EA son: tener una historia familiar de primer grado y ser portador de al menos un alelo ϵ 4 de la apolipoproteína E (ApoE) ⁶⁻⁸. El estudio y seguimiento de estos sujetos cognitivamente sanos con alto riesgo de desarrollar EA, así como la importancia de desarrollar herramientas fiables y sensibles para el diagnóstico precoz de esta enfermedad, hace posible tanto una intervención temprana, mediante fármacos que ralenticen su progresión, preservando la capacidad cognitiva, así como la mejora en el entendimiento del proceso neurodegenerativo ^{9,10}.

3.1 Demencia

3.1.1 Historia de la demencia

La demencia se define como un síndrome de naturaleza crónica o progresiva, que se caracteriza por el deterioro de la función cognitiva, más allá de lo que podría considerarse una consecuencia del envejecimiento normal ¹, aunque el principal riesgo para padecer demencia fue y sigue siendo la edad.

En 1906, Alois Alzheimer (Figura1) fue el primer científico que describió la enfermedad durante la conferencia de *West German Society of Alienist* desarrollada en Tübingen, en su comunicación titulada “sobre una enfermedad peculiar de la corteza cerebral” presentó sus hallazgos clínicos y neuropatológicos, siendo estos publicados un año más tarde. El caso clínico correspondía a Auguste D (Figura 1), una mujer de 51 años que presentaba desorientación, pérdida de memoria, déficit perceptivo, afasia, apraxia, celos, manía persecutoria, conductas anómalas, con una rápida progresión, desencadenando en su fallecimiento a los 56 años ¹¹. Tras la autopsia,

Alzheimer describió los hallazgos histopatológicos de esta enfermedad, los cuales se caracterizaban por cambios peculiares en las neurofibrillas “en el centro de una célula, por lo demás casi normal, se destaca una o varias fibrillas debido a su grosor característico y su peculiar impregnabilidad” y las placas típicas, más tarde nombradas en su honor, y que describió como “numerosos pequeños focos miliares que se encuentran en las capas superiores”. Estas están determinadas por el almacenamiento de un material peculiar en la corteza” ¹². Tras varias descripciones similares a esta ¹³, Kraepelin incluyó el epónimo Enfermedad de Alzheimer en la octava edición del *Compendium der Psychiatrie* en 1910, diferenciando entre EA, la cual era una demencia presenil, caracterizada por la presencia de placas y ovillos y la demencia senil con menos cambios arterioescleróticos. Esta división prevaleció hasta la década de 1960 ¹⁴.



Figura 1. Fotografías del Dr. Alois Alzheimer y su paciente Auguste D. Tomadas de <http://www.alzfae.org/fundacion/164/alois-alzheimer>

Hasta el final de la II Guerra Mundial y tras el desarrollo de la sexta edición de la Clasificación internacional de Enfermedades (CIE), la cual incluía por primera vez una sección sobre “trastornos mentales”, se propuso mejorar el diagnóstico de las demencias. haciendo mención a “un síndrome cerebral orgánico, crónico y más o menos irreversible”, estando ausente la EA por su propio nombre ¹⁵.

Uno de los importantes avances en la historia de la demencia fue la comercialización del primer fármaco en 1993 que demostró cierta eficacia para combatir la EA: la Tacrina ¹⁶. A este anticolinesterásico le siguieron otros como el Donepezilo, la Rivastigmina, la Galantamina, los cuales todos están disponibles en formulación oral y la Rivastigmina disponible en forma de parche transdérmico.

La búsqueda de nuevos medicamentos para frenar el progreso de la enfermedad, hizo que en el año 2002 la Agencia Europea del Medicamento (EMA) y un año más tarde, en el 2003, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos, conocida por sus siglas en inglés como FDA, aprobó el uso de la Memantina para el tratamiento de las fases avanzadas de la EA ¹⁷.

En 2007 se consensuó el uso de biomarcadores en el diagnóstico de la EA. Estos consistían en: imágenes de amiloide en tomografía por emisión de positrones (PET), la medición de A β y Tau en líquido cefalorraquídeo (LCR), marcadores genéticos y cambios estructurales en el cerebro observables mediante resonancia magnética (RM) ¹⁸

En el 2011, el Instituto Nacional sobre Envejecimiento y la Asociación de Alzheimer, con las siglas en inglés NIA-AA tras la revisión de los criterios diagnósticos publicados en 1984 por el *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA) realizó una actualización de estos. Así se incluyeron la utilización de nuevos test neuropsicológicos, de técnicas de neuroimagen in vivo y biomarcadores moleculares y se realizó una guía diagnóstica para investigación de EA con criterios para 3 estadios diferentes de la patología: EA preclínica, deterioro cognitivo leve y demencia tipo EA. Esto permitió considerar la EA como un proceso continuo que pasa por fases asintomáticas, oligo-somáticas y plurisomáticas, permitiendo así la utilización de biomarcadores para el diagnóstico en aquellas fases donde los pacientes no presentan ningún tipo de clínica ¹⁹.

Dos años más tarde, en 2013, se publicó la quinta edición del DSM, la cual vino acompañada de cambios ya incluso en su título. Esta edición fue la primera en la que los números romanos desaparecieron por los arábigos (DSM-5) con lo que facilitaría así la aparición de revisiones menores sobre este, pudiendo ser nombradas DSM-5.1 o DSM-5.2. Otro de los cambios fue la desaparición de los cinco ejes principales, los cuales se sustituyeron por capítulos de cada uno de los trastornos mentales. La aparición de estos trastornos seguía un orden cronológico, comenzando por aquellos que pueden diagnosticarse en la infancia y terminando por los que suelen diagnosticarse en adultos mayores ²⁰. En esta edición se introduce el concepto de "trastorno neurocognitivo" el cual se divide en tres categorías: delirium, trastorno neurocognitivo menor (refiriéndose a deterioro cognitivo leve) y trastorno neurocognitivo mayor conocido hasta el momento como demencia ^{21,22}.

En 2018 el NIA-AA publica nuevos criterios los cuales son una revisión de los criterios propuestos en 2011, y dejando claro que estas recomendaciones son de exclusiva aplicación en el contexto de investigación clínica. En este nuevo marco de investigación, el diagnóstico de EA no depende

de los síntomas clínicos, sino de la presencia de biomarcadores, tratando así de hacer un diagnóstico preventivo de la patología⁴.

En junio del 2021, la FDA, aprobó el primer fármaco en 20 años capaz de modificar la fisiopatología de la EA. El Aducabumab (nombre comercial Aduhelm) es un anticuerpo monoclonal IgG1 anti-A β humano con especificidad para los oligómeros y fibrillas β -amiloides implicados en la patogénesis de esta enfermedad²³. Este fármaco ha sido aprobado en el marco de la vía de aprobación acelerada, la cual se basa en un criterio de valoración sustitutivo, es decir un criterio de valoración que refleja el efecto del fármaco sobre un aspecto importante de la enfermedad, como es la reducción de la placa de A β . El beneficio clínico debe ser verificado en un ensayo posterior y si no se demuestra dicho beneficio la FDA puede iniciar un procedimiento para su retirada. La aprobación de este medicamento abre una vía de investigación centrada en etapas preclínicas de la enfermedad o en pacientes en riesgo para el desarrollo de la patología, puesto que ya se ha demostrado que el acumulo del A β comienza incluso 20 años antes de los síntomas clínicos.

3.1.2 Definición de la demencia

El CIE-10 definió la demencia como un síndrome que se producía debido a una enfermedad cerebral y que generalmente es de naturaleza crónica o progresiva²⁴. La demencia se caracteriza por el deterioro de varias funciones corticales superiores (la memoria, el pensamiento, la comprensión, el cálculo, el aprendizaje, el lenguaje y el juicio)²⁵, con una severidad suficientemente grave para interferir en el desempeño de tareas sociales o en el ámbito laboral²⁶. Además, se observa en la clínica, que estos cambios en la cognición y funcionalidad de los pacientes suele ir acompañado de cambios relacionados con el control de las emociones, el comportamiento y la motivación²⁵.

La demencia es una de las principales causas de discapacidad y dependencia entre las personas mayores de todo el mundo²⁷. Además, es considerada un problema, no solo para las personas que las sufren, sino también para los familiares y sus cuidadores, quienes sufren a menudo el impacto de la enfermedad de forma física, psicológica, social y económica²⁸.

No existe un patrón de afectación característico, pues la demencia afecta a cada persona de forma diferente dependiendo del impacto de la enfermedad y de la propia personalidad de la persona afectada. Así los signos y síntomas pueden clasificarse en tres etapas: inicial, intermedia y tardía.

La etapa inicial, la cual suele pasar desapercibida, ya que su aparición es gradual, se caracteriza por síntomas como la falta de memoria, la pérdida de la noción del tiempo, así como la desorientación en lugares familiares.

En la etapa intermedia los signos y síntomas se vuelven más claros y restrictivos. Los sujetos afectados suelen olvidarse de los acontecimientos recientes y nombres de las personas. Se desorientan en su propio hogar, presentan problemas para comunicarse y para su propio cuidado personal.

En la etapa tardía, considerada como la etapa final de la enfermedad, los pacientes muestran un grado de dependencia total acompañado de graves alteraciones de la memoria, las cuales afectan en la percepción del tiempo y del espacio, reconocimiento de seres queridos, problemas de movilidad, así como la alteración del comportamiento del individuo, pudiendo mostrarse incluso agresivo.

3.1.2.1 Epidemiología de la demencia

Unos 50 millones de personas padecen demencia en todo el mundo, aumentando una media de 7,7 millones de nuevos casos por año, se prevé que el número total de personas afectas alcance los 82 millones en 2030 y los 152 en 2050. En estudios recientes se estima que cada año aparecen 9,9 millones de nuevos casos a lo largo de todo el mundo, lo que significa que cada 3 segundos se diagnostica un nuevo caso de demencia ²⁷.

De acuerdo con los estudios realizados en España, la prevalencia en personas entre 40 a 65 años ronda el 0,05%; entre los 65-69 años ronda el 1,07%; el 3,4% entre los 70-74 años; 12,1% entre los 80-84 años; 20,1% entre los 85-89 y el 39,2% entre los mayores de 90 años. Teniendo en cuenta los datos poblacionales del INE (Instituto Nacional de Estadística) y aplicando estas cifras de prevalencia, el número de personas mayores de 40 años afectados de demencia es superior a 700.000 personas, estimándose que este número se habrá duplicado en 2050 llegando a los dos millones de personas ²⁹.

Además, la OMS (Organización Mundial de la Salud) estima que el aumento de estos casos se producirá principalmente en países de ingresos bajos y medios. Ya en 2015 el 63% de personas afectas de demencia vivían en estos países, y se prevé que para 2030 sea un 63% y un 68% en el 2050 ¹.

3.1.2.2 Costes socioeconómicos de la demencia

La demencia conlleva a un aumento de los costes para los gobiernos, las comunidades, las familias y una pérdida de productividad para la economía ¹. En 2015 se estimó que los costes de la demencia eran de unos 818 billones de dólares, lo que equivale al 1,1% del producto interior bruto (PIB) mundial. En los países con ingresos bajos y medios los costes alcanzan un 0,2% de su PIB, mientras que corresponden a un 1,4% del PIB de los países de ingresos altos. Se estima que para 2030 el coste de la atención a las personas con demencia será de 2 trillones de dólares ³⁰. Además, en países de ingresos medios y bajos, estos costes se reparten entre la atención provista por la familia (85%), la atención informal, y la atención cubierta por los sistemas sociales (15%) ²⁹. En un estudio llevado a cabo por la Confederación Española de Alzheimer (CEAFA), el coste medio anual del cuidado de una persona con Alzheimer es de 31.890 euros ²⁹.

La enfermedad afecta económicamente tanto a los pacientes como a sus familias, pues se enfrentan a un importante impacto financiero por el coste de la asistencia sanitaria y social y por la pérdida de ingresos, ocasionadas principalmente por cambios en la jornada laboral para adaptar esta al cuidado de los parientes afectos ³⁰. Además, los estudios sobre el coste de la enfermedad se centran principalmente en los pacientes con diagnóstico de demencia y no reflejan completamente el impacto total que tiene la patología en la economía. Se subestiman datos como la magnitud de los costes indirectos, con una gran variabilidad en función de la metodología y los supuestos utilizados. Tampoco se tiene en cuenta cómo afecta la enfermedad en la economía de los hogares, por ejemplo, la tasa de desempleo o la reducción de ahorros, los cuales pueden afectar incluso a las generaciones futuras. Por último, otros estudios sugieren que los costes comienzan a acumularse años antes del diagnóstico de la demencia siendo estos costes mucho menores a los producidos por las fases avanzadas de la enfermedad. Dada la larga etapa preclínica de la enfermedad, entre 10 y 20 años, es posible que estos costes ocultos representen una buena parte de los costes acumulados en la patología ³¹ (Figura 2).

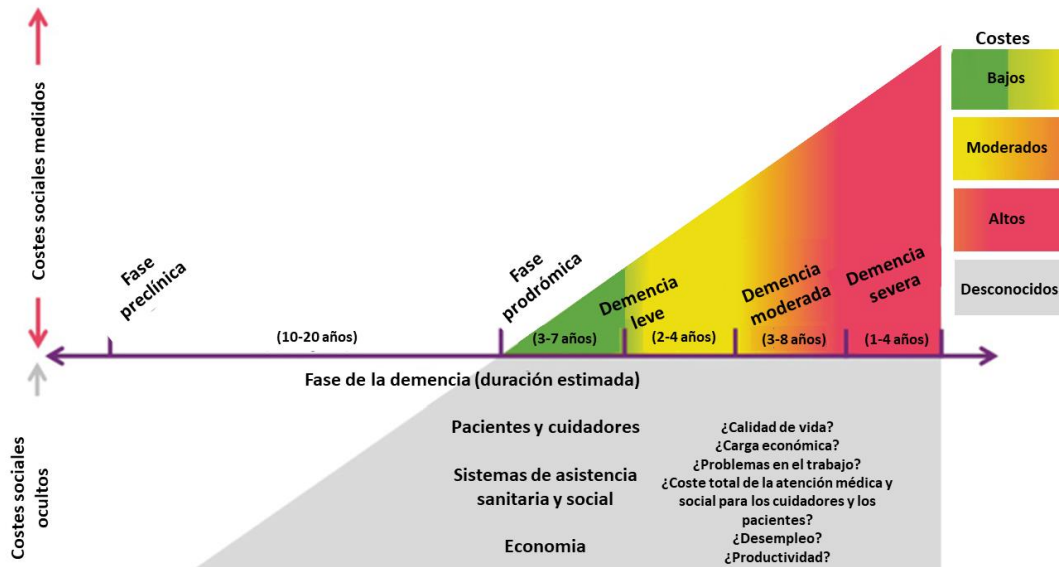


Figura 2. Costes socioeconómicos totales de la demencia. Modificada de El Hayek ,Y. et Al.2019 ³¹.

Actualmente existe una gran diferencia entre la necesidad de prevención, tratamiento, atención de la demencia y la prestación que realmente se da de estos servicios. Globalmente hay un bajo número de pacientes diagnosticados en comparación al número real de personas afectas, realizándose este diagnóstico en fases ya tardías de la enfermedad, momento en el que los pacientes ya necesitan vías de atención a largo plazo (desde el diagnóstico definitivo, hasta el final de la vida del paciente), y las cuales son casi inexistentes ¹.

Todos estos datos han llevado a que la OMS considere la demencia como una prioridad de salud pública, aprobándose en mayo de 2017, en la Asamblea Mundial de la salud, el proyecto titulado *Plan de Acción mundial sobre la respuesta de salud pública a la demencia 2017-2025* (Figura 3) ¹. Este proyecto ofrece un plan de acción integral en áreas como el tratamiento de la demencia como prioridad de salud pública, aumento de concienciación sobre la enfermedad, así como cambios en la sociedad para modificar los factores de riesgo, una mejora en el diagnóstico tratamiento y atención. Otros factores importantes de este plan, son los sistemas de información sobre la enfermedad, además del apoyo a cuidadores y mayores inversiones en investigación e innovación ²⁷.

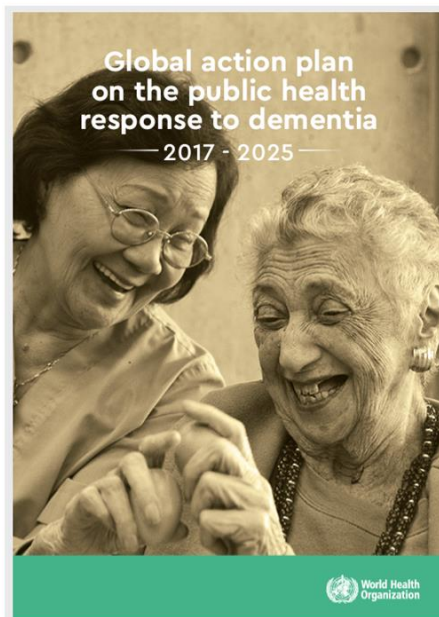


Figura 3 Portada del plan de acción mundial sobre la respuesta de salud pública a la demencia 2017-2025.

Extraída de <https://www.who.int/publications/i/item/9789241513487>

Una de las formas más comunes de demencia es la EA, la cual contribuye al 60-80% total de los casos ²⁵. Otras formas con una gran incidencia son la demencia vascular, (DV) la demencia de los cuerpos de Lewy y las demencias frontotemporales ²⁷.

3.1.3 Clasificación de la demencia

Las demencias se pueden clasificar según diferentes criterios como son:

- La edad de inicio
- Las estructuras cerebrales afectadas
- La causa o etiología

De esta manera, dependiendo de la perspectiva bajo la que se aborde, la misma patología puede ser clasificada de distintas maneras. Además, estas formas de clasificación facilitan la identificación de síndromes particulares; así como su abordaje y diagnóstico, estableciendo así factores pronósticos y de un posible tratamiento terapéutico ³².

3.1.3.1 Clasificación de la demencia según la edad de inicio

Según la edad de aparición de la sintomatología podemos clasificar la demencia en:

- *Demencia presenil o renombrada como demencia de inicio temprano*: en la cual los síntomas aparecen antes de los 65 años ^{33,34} y representa aproximadamente entre el 6% y 9% de

los casos total de demencia diagnosticada ³⁵, ya que en general, se han completado muy pocos estudios epidemiológicos en esta forma de demencia ³⁶.

Las formas más prevalentes de esta demencia son la demencia frontotemporal, la enfermedad de Huntington y la EA de inicio precoz ³³, presentando esta una proporción baja (15-40%) en comparación con los casos de EA de inicio tardío (50-70%) ³⁷. Además, la mayoría de los casos son debidos a formas autosómicas dominantes de EA familiar ³⁶, o que surgen de defectos de un solo gen, cada uno de los cuales tiene un gran efecto en causar la presentación de inicio temprano ³⁶. Las demencias causadas por otra enfermedad son las más comunes en este grupo de edad, incluyéndose la demencia relacionada con el consumo de alcohol, la demencia relacionada con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la demencia por esclerosis múltiple (EM), demencia por lesiones cerebrales traumáticas y demencias producidas por trastornos metabólicos, infecciosos, neoplásicos y autoinmunes, estando la mayoría relacionados con mutaciones genéticas ³⁶⁻³⁹.

Las presentaciones clínicas son muy variadas, siendo las quejas de memoria, tanto objetivas como subjetivas, una de las características principales. Otras incluyen episodios depresivos ⁴⁰, cambios de comportamientos y síntomas físicos donde se incluyen trastornos de la marcha, convulsiones o deterioro visual ^{36,38}.

El tiempo que pasa desde que aparecen los primeros síntomas hasta que se llega a un diagnóstico definitivo suele ser más largo que en las demencias de inicio tardío. Esto se debe principalmente a la gran cantidad de presentaciones sintomatológicas y la baja expectativa de que la causa subyacente sea una demencia ⁴¹. Uno de los retos de estas formas de demencia es conseguir un diagnóstico preciso, lo que facilitaría la derivación a genetistas para conocer si la patología tiene implicaciones para su familia quien puede tener un alto riesgo de desarrollar la enfermedad y transmitir la mutación genética ³⁶.

- *Demencia Senil, tardía o de inicio tardío*: cuyos síntomas aparecen a partir de los 65 años y que es considerada principalmente de naturaleza esporádica con factores de riesgo genéticos y ambientales, siendo estos en gran parte desconocidos ³⁶. La EA de inicio tardío representa el 90% de los casos de demencia total ⁴². Además, la edad de inicio tardía es uno de los factores predictores de mortalidad más significativos junto con el mayor deterioro cognitivo y el sexo. La esperanza media de vida se estima en 10 años cuando la enfermedad se presenta entre la sexta y séptima década de la vida, mientras que cuando son mayores de 90 años esta disminuye a los 4 años ⁴³.

La EA es considerada principal causa de demencia de inicio tardío en ancianos ⁴⁴, aunque los estudios neurológicos consideran a las demencias mixtas (neurodegenerativas y vasculares) el tipo de demencia de aparición tardía más prevalente ^{45,46}. Esto se debe a que las personas mayores con demencia, generalmente padecen otras enfermedades crónicas ⁴⁷, teniendo repercusiones tanto en el proceso demencial como en el de la enfermedad comórbida ⁴⁸. Estas enfermedades concomitantes en los pacientes mayores con demencia pueden clasificarse en: enfermedades que tienen relación con los mecanismos patogénicos de la demencia (enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedad de Parkinson y depresión) y las que se consideran secuelas de la propia demencia (falta de hidratación, inanición, caídas, fracturas, neumonías por aspiración). En los estadios más avanzados de la enfermedad, aparecen patologías que no pueden ser diagnosticadas en la mayoría de las ocasiones debido a la falta de reconocimiento del paciente o de comunicación verbal ⁴⁹.

La demencia de inicio tardío se caracteriza fisiopatológicamente por fallos en los mecanismos de aclaramiento de amiloide cerebral, el papel aún desconocido de la proteína pTau ⁵⁰, además de la presencia de enfermedad cerebral (atrofia cortical, esclerosis hipocampal, enfermedad cerebral de pequeño vaso...) ⁵¹. Actualmente, se conoce que los biomarcadores de la enfermedad pueden ser positivos antes de que aparezca la acumulación de A β en el cerebro, siendo esta última una condición necesaria pero no única para la aparición de sintomatología clínica en personas mayores ⁵².

La proteína Tau y los agregados de A β son transportados fuera del cerebro mediante aclaramiento glinfático ^{53,54}, sugiriendo, por tanto, una participación del sistema glinfático en la EA ⁵⁵. En el sistema glinfático, el movimiento del LCR a lo largo del espacio perivascular, promueve la eliminación de proteínas solubles y de metabolitos, y facilita la distribución de la glucosa, lípidos, aminoácidos y neuromoduladores ^{53,56}. Uno de los factores más importantes que influyen en el movimiento del LCR es la pulsatilidad arterial, el movimiento de las paredes de los vasos provocado por el ciclo cardíaco. Al pulsatilizar, las arterias aumentan momentáneamente la presión sobre el LCR circundante: La pulsatilidad arterial cerebral es un impulsor clave de la entrada de LCR paravascular hacia y a través del parénquima cerebral, y se ha sugerido que los cambios en la pulsatilidad arterial pueden contribuir a la acumulación y depósito de solutos tóxicos, incluido el A β , en el cerebro que envejece ⁵⁷. La presión positiva de la producción del LCR impulsa su movimiento desde el plexo coroideo, apoyado por la presencia de cilios y procesos como la respiración profunda ⁵⁸.

El aumento del aclaramiento de solutos ocurre principalmente durante el sueño inactivo, ya que durante este se produce un aumento del espacio intersticial, disminuyendo la resistencia al movimiento de los fluidos ⁵⁹. La posición para dormir puede influir en este sistema ⁶⁰, el cual también se ve afectado por el envejecimiento ^{53,61}. Durante la EA se produce una afectación del sistema glinfático debido a la falta de canales de acuaporina-4 (AQP4) ⁶². Sin embargo, no existe un consenso sobre si la pérdida de polarización de AQP4 es un factor que reduce la eliminación de A β , lo que aumenta la vulnerabilidad del cerebro envejecido a la agregación de A β ^{63,64} o si la despolarización de AQP4 es impulsada por la formación de agregados insolubles de A β ⁶⁵⁻⁶⁷, que promueve un reordenamiento estructural de los astrocitos ⁶⁷.

En el ojo, análogo al sistema glinfático cerebral, se ha descubierto un sistema de transporte paravascular el cual promueve la eliminación de solutos intersticiales, incluidos el A β ⁵⁶. La existencia de este sistema podría sustentar la hipótesis que tanto el glaucoma como la EA pueden darse cuando existe un desequilibrio entre la producción y depuración de neurotoxinas ⁶⁸. Existe evidencia de que el LCR fluye hacia el nervio óptico a través de espacio paravasculares que rodean los pequeños vasos piales perforantes cuando entran en el nervio óptico. Esta vía se compone de espacios centrípetos unidos por las paredes de los vasos sanguíneos en un lado y los pies terminales de los astrocitos con los receptores de las AQP4+ por el otro ⁶⁹.

3.1.3.2 Clasificación de la demencia según la estructura afectada:

En el cerebro pueden diferenciarse principalmente dos tipos de sustancia: la sustancia gris y la sustancia blanca. La sustancia gris, también denominada corteza cerebral tiene como función principal realizar funciones cognitivas e integradora de información además de recubrir a la sustancia blanca en los hemisferios cerebrales. La sustancia blanca se asocia a procesos motores y autonómicos, así como la conexión cortical con áreas efectoras. La demencia puede afectar a ambas sustancias cerebrales de manera independiente (cortical y/o subcortical) o combinada (cortico-subcortical o mixta), clasificándose así en relación con las estructuras que tienen mayor afectación:

- *Demencias corticales:* entre las que se encuentra la EA, la demencia fronto-temporal y las atrofas corticales asimétricas. En estas demencias aparecen unas alteraciones en funciones que están relacionadas con el procesamiento neocortical, es decir, problemas de orientación, memoria y lenguaje. Dependiendo de la zona de la corteza afecta encontramos diferentes alteraciones. Si se afecta la corteza sensorial pueden aparecer problemas de falta de atención, agnosia o alucinaciones. Alteraciones en la corteza motora superior se asocian con problemas

de movilidad (apraxias), mientras que afectación en la corteza temporal, en áreas relacionadas con el lenguaje aparecerá una disfunción del mismo (afasia). Las alteraciones conductuales se relacionan con afecciones en la corteza frontal y prefrontal y las amnesias con alteraciones en la región entorrinal hipocampal ⁷⁰. El cerebelo también se relaciona con numerosos procesos cognitivos y demenciales como son problemas de atención, razonamiento y fluidez verbal ⁷¹

- *Demencias subcorticales*: como son la demencia por cuerpos de Lewy, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington, la parálisis supranuclear progresiva y las demencias vasculares ⁷². Estas demencias se caracterizan por una afección de los ganglios basales, ciertos núcleos como el núcleo estriado, los núcleos talámicos y los del tronco cerebral y del cerebelo ⁷³. Dependiendo de qué estructura se encuentre afectada la sintomatología puede incluir retardo psicomotor, alteraciones motoras (temblores, rigidez, alteraciones en la marcha...), apatía, irritabilidad, depresión ⁷⁴, ralentización del pensamiento y deficiencias en la memoria ⁷⁵.

3.1.3.3 Clasificación de la demencia según la causa o etiología

Para clasificar una demencia se necesita, en primer lugar, conocer si existe alguna enfermedad sistémica que la justifique, si existe alguna patología cerebrovascular o si es producida por un proceso degenerativo. A pesar de la heterogeneidad de cada individuo afecto, las posibles etiologías son uno de los criterios más empleados para la clasificación de las demencias ⁷⁶. Esta clasificación se basa en el origen fisiopatológico de la enfermedad, para lo que se tiene en cuenta los antecedentes del paciente, el desarrollo en el tiempo de estos, así como la evolución de la clínica. Etiológicamente las demencias se han dividido en: demencias primarias, secundarias o mixtas. Además, cada una cuenta con divisiones como puede apreciarse en la Figura 4.

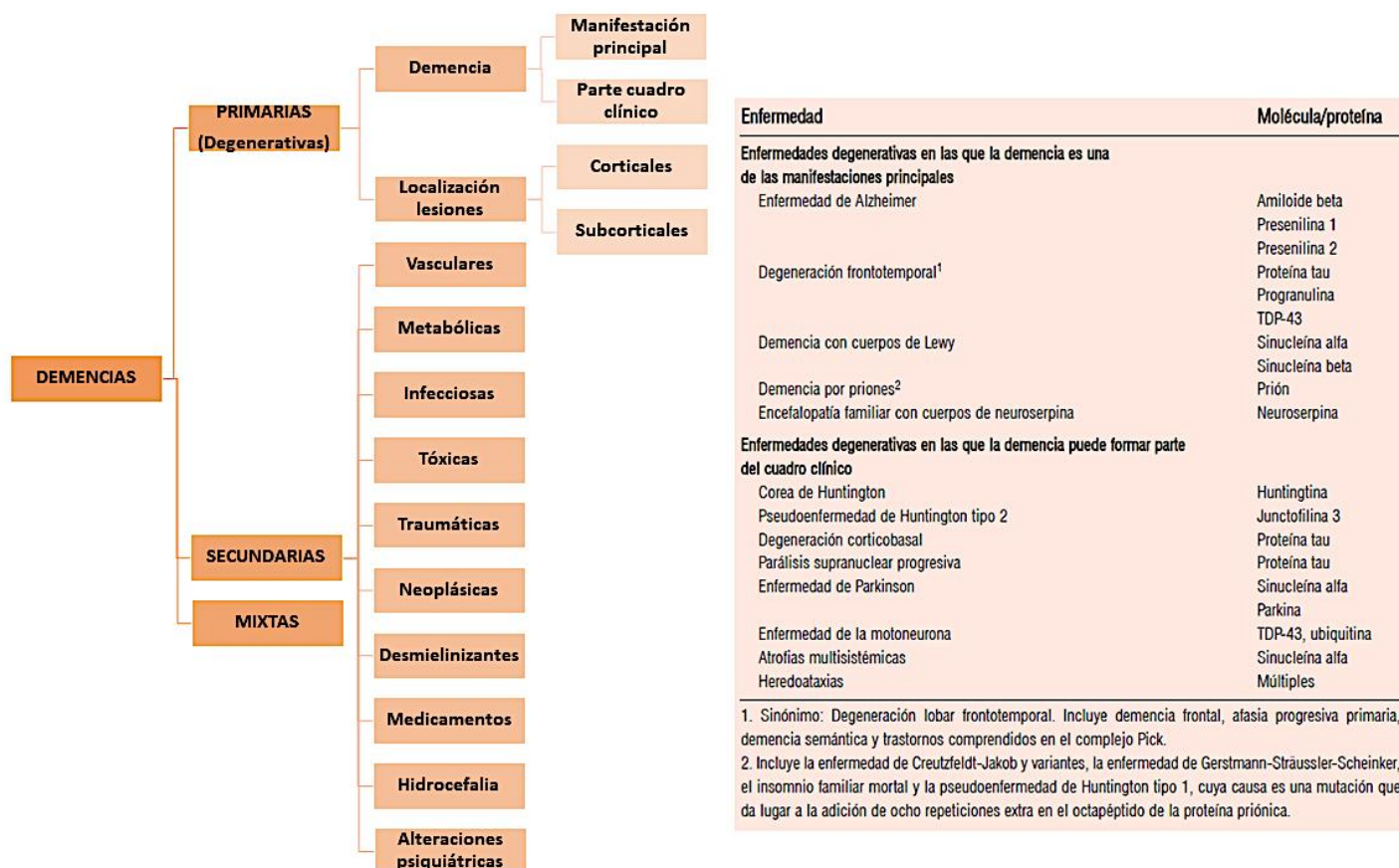


Figura 4. Clasificación etiológica de las demencias. Modificado de Alonso Vilaterla, E. et Al.2016. y tabla tomada de Molinuevo, J.et Al.2009 ^{32,76}.

• Demencias primarias: entre las que se incluyen demencia debida a EA, la demencia vascular, la demencia con cuerpos de Lewy y la demencia frontotemporal. Este término hace referencia aquellas demencias que se producen por un proceso degenerativo y no se atribuyen a una causa concreta ³². Dentro de estas se encuentran las demencias degenerativas primarias, que son trastornos con afectación principalmente encefálica y cuya característica común es la agregación y acumulación de proteínas en el cerebro como puede ser la A β , la α -sinucleína o el TDP-43, considerándose la “proteinopatía cerebral” un mecanismo patogénico común ⁷⁷. La distribución de estos depósitos proteicos determina la clínica de la demencia, pero no de manera individualizada, ya que una misma clínica puede asociarse a diversos depósitos ⁷⁶. La demencia degenerativa primaria más común es la EA.

• Demencias secundarias son aquellas que están se producen por una causa externas u otra enfermedad relacionada como la infección de VIH, traumatismos craneoencefálicos, la esclerosis múltiple, problemas tiroideos o la deficiencia de vitamina B12 ⁷⁶. En estas demencias

suele haber una afectación en otros órganos y el tratamiento principal se dirige a la enfermedad subyacente.

- Demencias mixtas en las que las alteraciones que producen cada una de las etiologías no es suficiente para producir la demencia, necesitando la combinación de varias causas. La mayor partes de este tipo de procesos neurodegenerativos cuentan con un componente vascular que contribuye de manera directa al desarrollo de la enfermedad ⁷⁶. Por lo general son más comunes que las demencias denominadas como “puras” ⁷⁸, siendo una de las más frecuentes la EA con lesiones vasculares ⁷⁹.

3.2 Demencia tipo Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por una atrofia cerebral (especialmente en la región cortical e hipocampal) y es identificada clínicamente por un declive progresivo de la memoria, el aprendizaje y de las funciones ejecutivas. Además, esta enfermedad tiene una enorme carga social y económica ⁸⁰.

Según la clasificación de demencias anteriormente desarrollada, la EA es una demencia degenerativa primaria caracterizada por el acúmulo de dos proteínas: el A β y proteína Tau, considerándose también una proteinopatía cerebral ^{76,81}.

Esta enfermedad fue definida como una entidad clínico-patológica, se trata de un trastorno heterogéneo y multifactorial y que actualmente se ha renombrado como “el continuo del Alzheimer”⁸¹.

3.2.1 Fisiopatología del Alzheimer

La EA se caracteriza histopatológicamente por la agregación anormal de dos proteínas, en concreto, A β extraneuronal en forma de placas y Tau hiperfosforilada intraneuronal en forma de ovillos neurofibrilares (NFT) ⁸² (Figura 5).

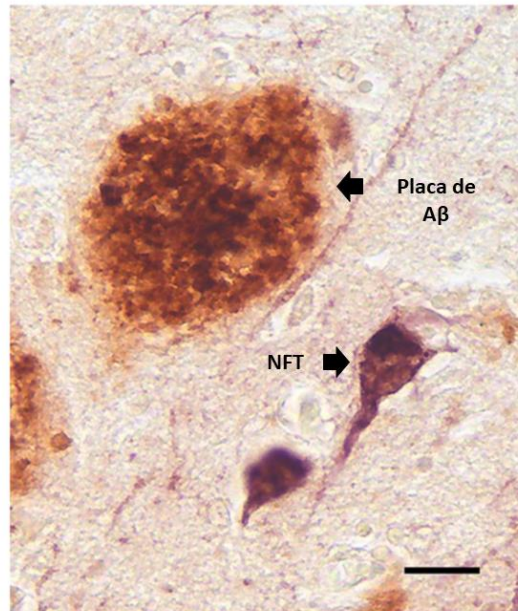


Figura 5. Placa de A β y ovillos neurofibrilares en corteza cerebral de paciente con EA. Modificada de Walker et al.2020 ⁸³.

Existen varias hipótesis que intentan explicar la neuropatogenia de la EA, siendo una de las más aceptadas la “hipótesis de la cascada amiloide”. Esta hipótesis propone que todos eventos patogénicos de la EA se producen por la acumulación excesiva del péptido A β en el SNC ⁸⁴.

Las placas neuríticas son lesiones microscópicas de tipo esferoide caracterizadas por un núcleo de péptido A β extracelular que se encuentra rodeado de terminaciones axonales anormales ⁸⁵. Este péptido se deriva del procesamiento anormal de la proteína precursora del amiloide (APP) ⁸⁶. Esta proteína puede ser escindida por la acción de las enzimas α -, β - y γ -secretasa. En individuos sanos, primero la α -secretasa, quien disminuye el riesgo de formación de péptidos de A β y luego la γ -secretasa son las responsables de escindir la APP ^{87,88}. En las personas que sufren la EA, es la enzima β -secretasa la que actúa para escindir la molécula de APP en lugar de la α -secretasa, y el compuesto APP β resultante es liberado fuera de la célula ⁸⁹.

La división secuencial por parte de la β - y luego de la γ -secretasa da lugar a formas solubles A β (principalmente de 40 a 42 aminoácidos) (A β_{40} y A β_{42}) y péptidos de aminoácidos C99 ⁹⁰. El aumento de A β_{42} favorece la formación de oligómeros que tienen efectos tóxicos en las neuronas, provocando disfunción sináptica, fosforilación de la proteína Tau, atrofia cerebral y

neuroinflamación⁹⁰⁻⁹³. Además, en la EA estos oligómeros se agrupan alrededor de los vasos meníngeos y del cerebro, así como en la materia gris del mismo formando estructuras miliare que son las conocidas como placas⁹⁴.

Los ovillos neurofibrilares son estructuras fibrilares, que se localizan dentro del citoplasma de las neuronas y están formadas por la proteína Tau. Esta proteína, que se encuentra unida a los microtúbulos y se encarga de su estabilización, presenta cierto número de moléculas de fosfato unidas a ella. Aunque no se conocen las razones exactas, si es conocido que la mecánica de fosforilación de Tau está alterada en la EA, produciéndose un aumento anormal de la fosforilación de esta proteína y que a su vez conduce a un desprendimiento de esta en los microtúbulos. Estas proteínas desprendidas suelen agruparse formando estructuras conocidas como filamentos helicoidales emparejados y que se agregan a su vez a los ovillos neurofibrilares insolubles^{95,96}.

La proteína Tau se acumula específicamente en las neuronas, produciéndose esta acumulación en forma de anillos neurofibrilares (NFT) en el cuerpo celular, en las dendritas como hilos de neuropilos (NTs) y en sus axones como coronas neuríticas de las placas (NPs)⁹⁷. La formación de NFT es altamente neurotóxica y sinaptotóxica debido a su interferencia con la homeostasis celular y a la alteración del transporte axonal⁹⁸.

Los estudios de cerebros humanos con diferentes grados de acumulación de placas de A β han permitido realizar una clasificación del curso espacio-temporal de la formación de las mismas⁹⁹⁻¹⁰¹. Las placas difusas son las que aparecen de forma más temprana y posteriormente aparecen las placas con núcleo amiloide en las siguientes fases¹⁰². Por tanto, en la primera parte las placas difusas aparecen en la isocorteza; en la segunda fase se ven afectados el allocortex, la formación hipocampal y la amígdala; en la tercera fase, las placas se acumulan en los ganglios basales y el diencefalo; en la cuarta en el mesencéfalo y la médula oblonga; y en la quinta y última fase se afectan el puente de Varolio y el cerebelo^{99-101,103}. Estas fases se han visto consolidadas en tres fases: una fase isocortical, una fase alocortical/límbica y una fase subcortical^{104,105} (Figura 6).

El patrón espacio-temporal de progresión de las NFT y de los NPs también ha sido descrito en diferentes estudios^{106,107}. Inicialmente se describieron seis estadios que pueden resumirse en tres: entorrinal, límbico e isocortical. Los primeros NFTs aparecen sistemáticamente en la región transentorrinal (perirrinal) junto con la corteza entorrinal propiamente dicha, seguida de la región CA1 del hipocampo (estadio II). A continuación, los NFT se desarrollan y acumulan en estructuras límbicas como el subículo de la formación del hipocampo (estadio III) y la amígdala, el tálamo y el claustró (estadio IV). Por último, las NFT se extienden a todas las áreas isocorticales

(estadio isocortical), viéndose afectadas antes y más gravemente las áreas asociativas (estadio V) que las áreas sensoriales, motoras y visuales primarias (estadio VI) ^{104,105} (Figura 6).

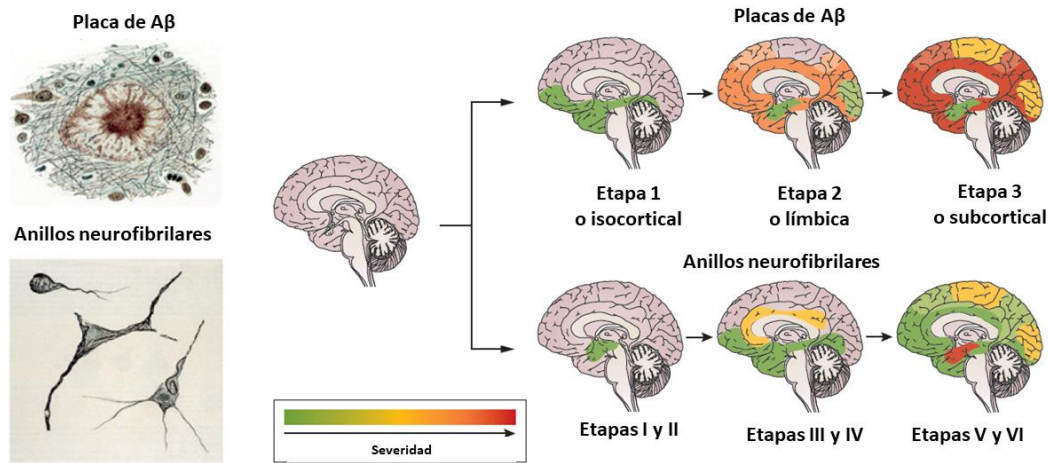


Figura 6. Patrón espacio-temporal de acumulación de placas de Aβ y anillos neurofibrilares en la EA. Modificada de Masters, CL. et al.2015 ¹⁰⁵.

Aunque la secuencia exacta de acontecimientos que conducen a la pérdida neuronal no ha sido aún clarificada, estos depósitos proteicos, que parecen ser esenciales en la fisiopatología de la enfermedad ¹⁰⁸, ejercen efectos tóxicos, los cuales se producen principalmente por la liberación de radicales libres cuando el Aβ se une a ciertos receptores, y provocan ante el daño neuronal la activación de células gliales, las cuales producen sustancias citotóxicas que producen alteraciones sináptica y otras alteraciones neuronales, desencadenando en último término en la apoptosis de las células neurales ¹⁰⁹. Cuando el tejido cerebral alcanza un grado suficiente de daño, este se manifiesta clínicamente, siendo la forma más común las alteraciones cognitivas ^{110,111}.

Además, estudios de tejidos cerebrales han revelado como en regiones adyacentes a las placas de Aβ hay una reducción de los terminales GABAérgicos ¹¹², lo que induce a la pérdida de inputs inhibitorios, produciendo una alteración del equilibrio de excitación/inhibición (equilibrio E/I), habiéndose ya demostrado en modelos animales ¹¹³. Esta alteración del equilibrio E/I provoca en las proximidades de las placas Aβ una hiperactividad neuronal durante las primeras etapas de la EA ¹¹³, hipoactividad en las etapas medias y finalizando con el colapso de las redes cerebrales ¹¹⁴. También el desequilibrio E/I conduce a una hipersincronía de la actividad oscilatoria producida por los conjuntos neuronales, lo que afecta a diferentes redes cerebrales, provocando en última instancia un deterioro cognitivo ¹¹⁵.

Existe otra evidencia que apoya la hipótesis de que la EA es una patología en red. Esta es la “hipótesis de toxicidad excitadora sináptica”¹¹⁶⁻¹¹⁹. Esta hipótesis establece que el A β patológicamente elevado bloquea la captación neuronal de glutamato en las sinapsis, conduciendo a un aumento de este en la hendidura sináptica. Esto confirmaría la hipótesis de que el daño neural puede ser el resultado de una sobreactivación de los receptores del ácido N-metil-D-aspartico ¹²⁰.

Así la cascada neurodegenerativa, propia de la EA, tendría preferencia por aquellas regiones interconectadas con un alto metabolismo basal, y presumiblemente una alta actividad sináptica excitatoria, como ya se ha demostrado en los entornos experimentales donde el procesamiento de la APP y el aumento de péptidos amiloides en el espacio extracelular son dependientes de la actividad sináptica ^{121,122}. En este sentido, la superposición entre los centros corticales funcionalmente muy conectados y los depósitos de A β , así como las regiones con un metabolismo elevado de la glucólisis aeróbica, sugieren que la actividad sostenida de forma continua puede conducir a una neurodegeneración consecutiva dependiente de la actividad ^{116,121,123}.

A pesar del acúmulo de A β y pTau, la EA es considerada una enfermedad multifactorial, donde además de estas proteínas están involucrados factores genéticos, ambientales, vasculares y metabólicos aumentando la susceptibilidad a desarrollarla. Por lo que no es de extrañar que, en los cerebros de personas con EA, además de las proteínas descritas anteriormente, también se muestran signos de estrés oxidativo, inflamación, desequilibrio de algunos metales y disfunción mitocondrial ¹²⁴. El estrés oxidativo se origina principalmente cuando la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) y las especies reactivas de nitrógeno (ERN) sobrepasa a los mecanismos de eliminación. En la EA las fuentes de las EROS son:

- El aumento del hierro y otros metales en la amígdala, corteza e hipocampo que se une al peróxido de hidrógeno generado durante el plegamiento de la A β , generándose el radical hidroxilo.
- La activación de la glía que genera óxido nítrico pudiendo dar lugar a peroxinitritos.
- La acumulación de A β produce alteración de los vasos cerebrales debido a la disfunción endotelial, aumentando la producción de ERN y formándose óxido nítrico que puede generar peroxinitritos.

En la enfermedad, el aumento de las EROS provocará ¹²⁵:

- Daños del ADN, ARN y peroxidación lipídica que puede provocar daños en la transmisión sináptica.
- La nitración de la A β provocando más agregación y formación de depósitos.
- Fosforilación de Tau.
- Glicosilación de los ovillos neurofibrilares.
- Nitrosilación de los neurofilamentos.

Además, en la EA, los agregados proteicos podrían producir neurotoxicidad a través de un daño directo, ya que podrían causar deformación de la célula o interfiriendo en el tráfico intracelular en las neuronas. Otra de las causas es que las inclusiones proteicas podrían secuestrar proteínas esenciales para la supervivencia celular.

La excitotoxicidad se define como la capacidad del glutamato y sus agonistas para mediar en la muerte neuronal. El glutamato, que es el principal neurotransmisor excitador del sistema nervioso central (SNC), puede tener actividad neurotóxica cuando existe un exceso en la sinapsis. Este exceso es captado por los astrocitos vía glutamina sintetasa. En la EA, la excitotoxicidad puede deberse a:

- El A β puede inducir una disminución de la actividad de los transportadores astrocitarios del glutamato.
- El A β se une y produce la activación de receptores NMDA provocando la entrada de calcio.
- La pTau puede moverse desde el axón a las espinas dendríticas alterando el tráfico del receptor glutamato.
- Disminución de la producción de ATP con el envejecimiento que altera el funcionamiento de los transportadores dependientes de ATP.

Otro de los fenómenos que ocurren en la EA es la activación de la glía. Esta activación, provocada por el acumulo de depósitos, provoca la liberación de mediadores inflamatorios que conducen a un estado de inflamación crónica, generando más A β y disminuyendo el mecanismo encargado de su eliminación. Aunque la activación glial puede ser en su inicio protectora debido a la participación de los astrocitos reactivos en la eliminación de la A β y de la microglía en la fagocitosis de la misma, las moléculas inflamatorias que produce la glía van a desencadenar alteraciones funcionales como:

- Alteración de la plasticidad sináptica, que es fundamental para la formación y consolidación de la memoria.
- La disminución en la liberación de factores neurotróficos por parte de la glía, lo que va a provocar una disminución de la supervivencia neuronal.
- La destrucción de los diferentes elementos de las neuronas como axones, dendritas y sinapsis en las últimas etapas de la enfermedad.
- Liberación de óxido nítrico por el aumento de la actividad de la ERN de los astrocitos, provocando la alteración en la cadena transportadora mitocondrial, o induciendo de forma directa la muerte celular por apoptosis ¹²⁵.

3.2.2 Epidemiología del Alzheimer

El aumento de la esperanza media de vida que se ha producido en países desarrollados durante los últimos 50 años ha ido acompañado de un incremento en la prevalencia de trastornos asociados a la edad. La EA, más específicamente la EA de inicio tardío, es la primera causa de discapacidad neurológica en los ancianos causando enorme carga social y económica en las sociedades modernas ^{111,126}.

Este trastorno neurodegenerativo relacionado con la edad afecta a más de 50 millones de personas en todo el mundo y representa el 60-70% de los casos totales de demencia. Además su incidencia aumenta de 2/1000 a la edad de 65-74 años a 31/1000 en edades superiores a los 85 años ¹²⁷.

El incremento del número de casos a nivel mundial se relaciona con el progresivo envejecimiento de la población (Prince et al., 2015), así como a la mejora en el diagnóstico de esta entidad y a la mayor supervivencia de los enfermos. A pesar de ello; un tercio de la población con EA no acude nunca al médico y, por tanto, no se diagnostica, ya que los síntomas se identifican como propios del envejecimiento (López-Arrieta, 2003).

En Estados Unidos, el número de personas afectas de la enfermedad aumentarán rápidamente debido a que se prevé que la población estadounidense de 65 años o más, pase de 58 millones en 2021 a 88 millones en el 2050 ¹²⁸.

En el año 2021, según los cálculos actualizados, se estimó que 6,2 millones de estadounidenses de 65 años o más vivían con demencia y que el 72% tienen más de 75 años como se puede observar en la Figura 7. Además, se estima que el número de personas mayores de 65 años o más con demencia tipo EA alcance los 12,7 millones en el año 2050 ¹²⁹.

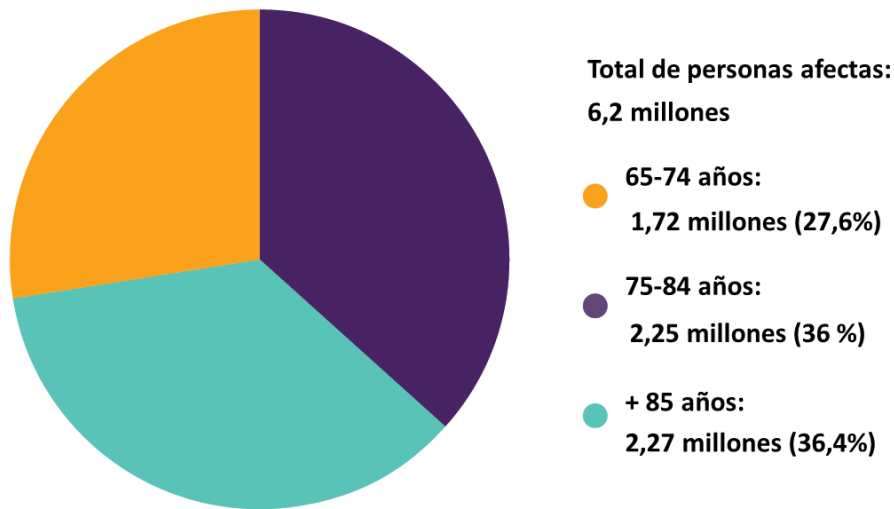


Figura 7. Número y edades de las personas de 65 años o más afectadas de EA en Estados Unidos en 2021. Modificada de Alzheimer's Association 2021 ¹²⁹.

Por lo general, más mujeres que hombres padecen EA, siendo casi dos tercios de los estadounidenses con EA mujeres ¹³⁰. Una de las razones por las que hay más mujeres que hombres afectadas de EA u otras demencia es por el hecho de que las mujeres son más longevas que los hombres ¹³¹⁻¹³³. También se han encontrado diferencias basadas en la biología, ya sea en diferencias hormonales o cromosómicas y en las influencias ambientales, sociales y culturales ^{134,135}.

Los estudios de prevalencia indican que los negros tienen casi el doble de probabilidad de padecer EA que los blancos mayores ¹³⁶⁻¹³⁸, mientras que los hispanos mayores tienen 1,5 veces más probabilidades de tener EA que los blancos mayores ^{138,139}. El mayor riesgo de desarrollar la enfermedad que tienen algunas razas o grupos étnicos viene explicado por las variaciones en las condiciones médicas, los hábitos saludables y factores de riesgo socioeconómicos ¹⁴⁰, puesto que los factores genéticos no explican las grandes diferencias de prevalencias o la incidencia entre los grupos raciales ^{141,142}.

La EA es la sexta causa de muerte en los Estados Unidos y la quinta causa de muerte entre las personas de 65 años o mayores ¹⁴³. Además, también es una de las principales causas de discapacidad y morbilidad en adultos mayores ¹²⁹ (Figura 8).

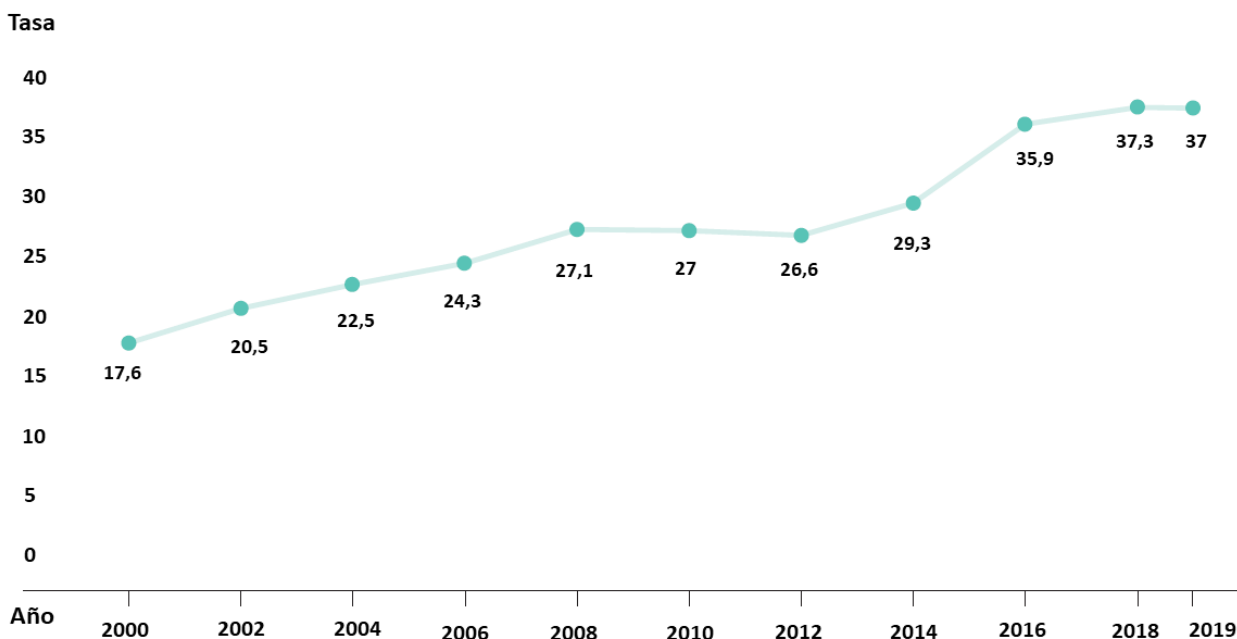


Figura 8. Tasa anual de muertes por Alzheimer en EE.UU. (por cada 100.000 personas) por año.

Modificado de Alzheimer's Association 2021

Tras el diagnóstico de la enfermedad, los estudios demuestran que las personas de 65 años o más sobreviven una media de 4 a 8 años, llegando algunas personas incluso a vivir 20 años con demencia ¹⁴⁴⁻¹⁴⁷. Estos datos reflejan la lenta, insidiosa e incierta progresión de la enfermedad. Así se ha demostrado que una persona que vive desde los 70 hasta los 80 años con EA pasará una media del 40% de este tiempo en la fase grave de la enfermedad. Además, a esta edad, aproximadamente el 75% de las personas afectas están institucionalizadas, en comparación con sólo el 4% de la población general de la misma edad ¹⁴⁸.

Los estudios realizados en España han mostrado una tasa de incidencia similar a la de otros países europeos, incrementando esta incidencia con la edad ¹⁴⁹⁻¹⁵³.

Numerosos estudios también han estudiado la prevalencia de la demencia en España ¹⁵⁴⁻¹⁶¹. La prevalencia oscila entre el 4,3% ¹⁵⁹ y el 17,2% ¹⁵⁵, observándose las cifras más altas en los estudios donde la población incluida es mayor de 70 años ^{155,157,162}. Como ocurre en el resto de países, la edad es el principal factor de riesgo y el principal determinante de prevalencia. Las cifras aumentan desde el 1.5-2% para el grupo de edad de 65-69 años hasta el 31-54% en personas mayores de 90 años ^{154,155,157}.

3.2.3 Factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer

La EA es un trastorno multifactorial y genéticamente complejo. Varios factores influyen en el riesgo de desarrollar la EA y modifican la edad de inicio y el curso de la enfermedad. Estos factores pueden ser ¹⁶³:

1. Genéticos (mutaciones causantes, alelos de riesgo predisponentes, alelos protectores).
2. Sociodemográficos (nivel de educación, inteligencia).
3. Estilo de vida (aspectos relacionados con la nutrición, ejercicio aeróbico, ejercicio mental).
4. El entorno (los traumatismos craneales...).
5. Clínica (condiciones médicas, comorbilidades).
6. Medicamentos (antiinflamatorios no esteroideos, estatinas).

Entre los factores de riesgo para el desarrollo de demencia se puede hacer una división entre los factores de riesgo modificables y los factores de riesgo no modificables.

Los factores de riesgo no modificables comprenden aquellos que no pueden ser modificados como son la edad, los polimorfismos genéticos, el sexo, la raza o etnicidad y los antecedentes familiares.

Los factores de riesgo modificables comprenden todos aquellos que mediante un enfoque terapéutico y de salud pública que abarque intervenciones clave puedan retrasar o desacelerar el deterioro cognitivo. Estos factores de riesgo están relacionados con el estilo de vida y se relacionan con la actividad física y cognitiva, el consumo de tabaco, la dieta, las comorbilidades y aislamiento social.

3.2.3.1 Factores de riesgo no modificables

Edad

La edad es considerada uno de los mayores factores de riesgo no modificables para el desarrollo de demencia ¹⁶⁴. Además, el envejecimiento y la edad de los padres en el nacimiento aumenta exponencialmente el riesgo de desarrollar la enfermedad ¹⁶⁵. Aunque no hay que considerar la enfermedad como una consecuencia inevitable del envejecimiento ²⁷, la mayoría de personas de edad avanzada padecen al menos un tipo de demencia ¹⁶⁶.

Genética

Se ha demostrado que la cognición es altamente heredable y poligénica ¹⁶⁷; de hecho, los estudios de gemelos sugieren que alrededor del 74% del riesgo de padecer EA de inicio tardío es genético ¹⁶⁸ y que la variación en varios genes asociados a la cognición, explicaría cierta variación en la función cognitiva en adultos mayores en la EA temprana ¹⁶⁹.

Numerosos estudios han asociado ciertos genes con variantes genéticas de demencia y con el riesgo para padecerla. Entre los genes más estudiados se encuentra el gen de la ApoE, reportándose su asociación con el riesgo de desarrollar EA por primera vez en 1993 ¹⁷⁰. El ApoE se localiza en el brazo largo del cromosoma 19 y tiene tres alelos: ApoE ε2, ApoE ε3 y ApoE ε4. Un total de 80% de los casos familiares y 64% de casos esporádicos de EA tardía tiene al menos un ApoE ε4 en comparación con el 31% de los sujetos control ¹⁷⁰. Los individuos que poseen este alelo exhiben niveles de biomarcadores anormales en comparación con los sujetos negativos para el alelo ε4 ¹⁷¹ y también muestran ligeros déficits en las pruebas de funcionamiento ejecutivo y rendimiento de la memoria episódica, como lo demuestran varios metaanálisis ^{172,173}. Además el alelo ε4 de este gen se ha relacionado constantemente con rápidas tasas de declive de la memoria episódica y atrofia del hipocampo ^{170,174}, además de jugar un importante papel en el metabolismo del Aβ ¹⁷⁵. Esta asociación entre los depósitos cerebrales de Aβ y el alelo ApoE ε4, se justifica con una mejor deposición de Aβ en placas y su peor depuración en el cerebro ¹⁷⁶⁻¹⁷⁸.

Además del ApoE, se han identificado otros genes asociados con la cognición como son KIBRA, KLOTTHO, BDNF, COMT, SPON1 Y CSMD1 ^{179,180}. Aunque el deterioro del estado cognitivo ha sido atribuido a algunos de estos genes de forma individual, los efectos combinados de estos genes en las tasas de deterioro cognitivo, particularmente en la fase preclínica de la EA, sigue siendo en gran medida desconocido ¹⁸⁰.

Sexo

Diferentes estudios han demostrado que los factores de riesgo y la progresión de la demencia depende también del género. Existe una mayor prevalencia de la demencia entre las mujeres ¹⁸¹, quienes suelen ser más vulnerables a los factores de riesgo genético y ambientales ^{182,183}. Las diferencias de sexo en las tasas de demencia generalmente surgen después de los 80 años ^{131,144} o incluso después de los 90 ¹⁸⁴.

La diferencia de sexo como factor de riesgo, así como los mecanismos ligados a los mismos aún no son del todo conocidos ¹⁸⁵. Posibles explicaciones son las diferencias fisiológicas y de

desarrollo entre hombres y mujeres, así como los cambios en los niveles de las hormonas sexuales a lo largo de la vida; como por ejemplo, la disminución de los niveles de estrógeno tras la menopausia ¹⁸⁶. Los estrógenos aumentan el flujo sanguíneo cerebral, tienen funciones neuroprotectoras y desempeñan un importante papel en la regulación del A β contra el estrés oxidativo y la neuroinflamación. Sin embargo, a pesar de su efecto beneficioso sobre las funciones cognitivas, aún sigue siendo incierta la eficacia de la terapia hormonal posmenopáusica en el retraso de la aparición de la demencia ¹⁸⁷⁻¹⁸⁹.

Por el contrario, la hormona sexual masculina, la testosterona, es neuroprotectora y contribuye a la eliminación de A β . Sin embargo, los bajos niveles de esta hormona se asocian a problemas vasculares, infartos, derrames cerebrales o depresión, siendo así los hombres con niveles reducidos de testosterona más vulnerables a sufrir deterioro cognitivo y mayor riesgo de demencia ^{190,191}.

Raza o etnicidad

Mientras que la raza puede considerarse una característica fija de una persona, vinculada a la herencia genética, la etnia es un concepto más amplio que incluye la cultura, la historia, la lengua, la religión y, a menudo, la herencia genética compartida ¹⁹².

En el caso de la EA autosómica dominante no existe evidencias de que las mutaciones en los genes de la presenilina difieran entre grupos raciales o étnicos. Aun así, existe una elevada prevalencia de dicha condición en los “alemanes del Volga”, la cual parece estar relacionada con la transmisión de un gen de presenilina mutado ¹⁹³. Sin embargo, otros estudios ponen de manifiesto que la tasa de EA de inicio tardío varía entre grupos raciales y del diferente impacto de factores modificadores de la EA, como por ejemplo ser portador del alelo $\epsilon 4$ para el ApoE ¹⁹⁴. La mayor frecuencia de ApoE $\epsilon 4$ se da entre finlandeses, islandeses, sudaneses, nigerianos y afroamericanos ¹⁹⁵, mientras que las poblaciones asiáticas tienen la frecuencia más bajas ¹⁹⁶. El grado de asociación entre la ApoE $\epsilon 4$ y la EA entre los hispanos es intermedio entre el de los afroamericanos y el de los blancos ¹⁹⁷. En un reciente estudio, se han encontrado una asociación del alelo $\epsilon 4$ con la EA similar en afroamericanos y blancos, mientras que los residentes de la india rural tenían una asociación similar a la de los blancos entre el ApoE $\epsilon 4$ y la EA ¹⁹⁸.

Los estudios de prevalencia e incidencia por razas necesitan una recopilación de datos exhaustiva que además de medidas biológicas analicen medidas ambientales, como el clima o la exposición de toxinas y medidas relacionadas con el estilo de vida que están estrechamente relacionadas con la etnia como la educación, la nutrición y el ejercicio. Otro de los

inconvenientes que presentan este tipo de estudios es la falta de confirmación patológica de la EA ¹⁹⁹.

Historia familiar de la enfermedad

Tras la edad avanzada, uno de los factores de riesgo más importante para el desarrollo de la EA esporádica es la historia familiar de enfermedad. Aproximadamente el 40% de los individuos afectados presenta historia familiar de EA, y los estudios epidemiológicos señalan que el riesgo de padecer EA en un individuo con un familiar de primer grado afecto es de cuatro a diez veces superior en sujetos cognitivamente sanos ^{6,200-202}, y aún mayor en los hijos de padres afectados por la enfermedad ^{200,203,204}. Además, estudios epidemiológicos han demostrado que la transmisión de esta forma esporádica de EA es tanto materna ²⁰⁵ como paterna ²⁰⁶. Sin embargo, el riesgo parece ser mayor cuando es la madre el paciente afecto, pues se asoció con un peor rendimiento cognitivo y una edad más predecible de inicio de la patología ^{207,208}.

También se ha observado que los sujetos que tienen un antecedente materno de EA, muestran un incremento de la carga de A β ²⁰⁹ y cambios hipometabólicos ^{210,211} en comparación con los sujetos de historia familiar paterna o sin historia familiar. Entre los posibles mecanismos genéticos explicativos, la evidencia de una predisposición heredada a las reducciones metabólicas cerebrales y a la atrofia en las personas con historia familiar materna, sugiere alteraciones del ADN mitocondrial (ADNmt), que se hereda totalmente por vía materna en los humanos ²¹². Este ADN mitocondrial defectuosos conduciría a una disfunción mitocondrial, a un aumento del daño oxidativo, a una reducción del metabolismo y a cambios en la homeostasis del calcio, que en última instancia desencadenan la apoptosis neuronal y la posterior atrofia de los tejidos ^{212,213}.

2.2.3.2 Factores de riesgo modificables

En las décadas pasadas, múltiples factores protectores y factores de riesgo modificables han sido estudiados, así como sus asociaciones con la demencia. Recientemente se ha calculado que un tercio de los casos mundiales de EA pueden atribuirse a factores de riesgo modificables ^{214,215}.

Comorbilidades

Es bien conocido que los factores de riesgo cardiovasculares se correlacionan con la aparición de la EA, incluyendo hipertensión (HTA), hipercolesterolemia (HCOL) y diabetes mellitus ²¹⁶, obesidad, una función cardíaca comprometida, enfermedad arterial cerebral, el tabaco así como la inactividad física ²¹⁷.

La hipertensión en la edad media de la vida (50-65 años) aumenta el riesgo de desarrollar demencia en un 38% ²¹⁸, lo que explicaría por qué la disfunción cerebrovascular es uno de los primeros eventos patológicos detectables en la EA ²¹⁹. La hipertensión y la disfunción cerebrovascular contribuyen a la reducción del flujo sanguíneo cerebral, pérdida de autorregulación, isquemia y el desarrollo de hiperintensidades en la sustancia blanca lo que conlleva a la pérdida de funciones cognitivas observadas de forma habitual en la EA ²²⁰. La angiotensina II es un mediador de la hipertensión, pero también está implicada en la EA en mecanismos como la neuroinflamación y el estrés oxidativo, además de la patología producida por el acúmulo de A β y la Tau fosforilada (p-Tau) ²²¹. Así una disminución en la actividad de la encima convertidora de la angiotensina 2 (ECA2), responsable de las concentraciones de la angiotensina II en el sistema renina-angiotensina, puede contribuir de forma perjudicial en la EA debido a las concentraciones excesivas de angiotensina II ²²². Estas hipótesis han sido respaldadas por estudios preclínicos, donde se demuestra que un aumento de la actividad de la ECA2 en un modelo murino de EA provocó una inversión del deterioro cognitivo, así como una reducción de los niveles de A β previstos ²²². Otro mecanismo por el que la angiotensina II elevada podría contribuir a la EA es debido a sus efectos anticolinérgicos, así en estudio preclínicos se han demostrado que fármacos como el Valsartán, el Losartán, el olmesartán y el Terlimisartán previenen de patologías mediadas por la angiotensina II en roedores de edad avanzada o reducen la tasas de deterioro cognitivo y extensión de la patología en modelos de EA ²²¹. Varios estudios han demostrado que las personas que toman antagonistas de los receptores de angiotensina (ARA) tienen menor incidencia y una progresión más lenta de la EA que los que toman otros tipos de antihipertensivos, hallazgos que aunque no se hallan respaldado por los metaanálisis, siguen considerando el tratamiento de la hipertensión un efecto protector ²²³⁻²²⁵. Sin embargo, un estudio reciente no demuestra una reducción de la atrofia cerebral en sujetos diagnosticados de EA leve y moderada tratados con Lorsartán en un estudio de 12 meses de duración ²²⁶.

Los niveles de colesterol sérico están relacionados también con el depósito y el aclaramiento de la A β , lo que sugiere que puede desempeñar un papel patogénico en la EA ²²⁷. También existen estrechas relaciones entre la ApoE ϵ 4, el A β y el colesterol ²²⁸. El ApoE es el principal transportador de colesterol en el cerebro y sus isoformas modulan de forma diferentes los niveles de colesterol cerebral, haciendo que el colesterol periférico juegue un importante papel en la deposición de A β cerebral ²²⁸. Sin embargo, la relación entre el colesterol sérico y la EA es compleja. Un nivel de colesterol total más alto en la mediana edad se ha asociado con un elevado riesgo de desarrollar EA ^{229,230}, mientras que un nivel de HDL más alto en edades avanzadas se

asocia con menor riesgo de desarrollar la enfermedad ²³¹. Otros estudios, sin embargo, no encuentran ninguna asociación ²³².

Por otro lado, el papel del colesterol en el procesamiento anormal de la A β ha planteado la hipótesis de que los fármacos moderadores de los niveles de colesterol podrían influir en la aparición y progresión de la EA ²³³. Estudios llevados con altas dosis de estatinas demuestran que, tanto hombres como mujeres, tratados con esta medicación tienen menor riesgo de desarrollar EA ^{233,234}.

La diabetes tipo 2 (DM2) también se asocia con deterioros significativos en varios aspectos del funcionamiento cognitivo, así como mayor riesgo para el desarrollo de la EA. La magnitud del riesgo es un tema controvertido. Mientras que algunos estudios muestran que las personas con diabetes tienen el doble de riesgo de desarrollar EA que una persona sana ²³⁵, otros estudios muestran una relación más modesta ²³⁶ o incluso inexistente ²³⁷. Se han sugerido de forma independiente varias vías como mecanismos de enlace entre la DM2 y la EA, como la hiperinsulinemia, la inflamación, los factores vasculares y el estrés oxidativo. Sin embargo, una combinación de dos o más de estas vías puede estar trabajando juntas para conectar los dos trastornos ²¹⁶. El tratamiento de la DM2 puede mejorar la función neural y ralentizar la patogénesis de la EA. Así, estudios con medicamentos comunes para el tratamiento de la diabetes como son la rosiglitazona y la metformina, han demostrado que pueden disminuir el deterioro cognitivo relacionado con la EA y los niveles de A β ^{238,239}.

Actividad física

La actividad física puede contribuir a prevenir o retrasar la aparición del deterioro cognitivo y la EA ^{240,241}. Son conocidos los efectos de la realización de actividad física de forma regular sobre la salud general y la reducción de riesgo de accidente cardiovascular y cerebrovascular ²⁴². La actividad física mejora la perfusión cerebral, facilita la neurogénesis y la sinaptogénesis, reduce la pérdida neuronal y preserva el volumen cerebral en las regiones vulnerables en la EA, y también influye favorablemente en los procesos patológicos relacionados con la EA como la acumulación de A β y la fosforilación de tau ²⁴³⁻²⁴⁵. Además, según la hipótesis de la reserva cognitiva, la actividad física realizada a lo largo de toda la vida puede contribuir al mantenimiento de la función cognitiva en la vejez ²⁴⁶.

No está claro si otros factores como la susceptibilidad genética, es decir portadores de ApoE ϵ 4, pueden beneficiarse más de cambios saludables en el estilo de vida, incluida la actividad física, o si el alelo ApoE ϵ 4 contrarresta los efectos protectores de la actividad física. Es conocido como

la actividad física en el tiempo libre en la mediana edad reduce el riesgo de EA y demencia dos décadas después, particularmente en los portadores de ApoE $\epsilon 4$ ²⁴⁷, mientras que la actividad física en la edad avanzada tiene efectos beneficiosos a corto plazo, particularmente en los no portadores de ApoE $\epsilon 4$ ²⁴⁸.

Obesidad

La obesidad definida como la acumulación de tejido adiposo, es causada principalmente por un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y quemadas, y se determina por una interacción de factores ambientales, predisposición genética y comportamiento²⁴⁹. Aunque la relación entre estas dos patologías no se ha estudiado durante años, los datos epidemiológicos frecuentes apoyan una importante asociación²⁵⁰. En la actualidad se conoce que los pacientes con obesidad u otras enfermedades metabólicas tienen un riesgo casi dos veces mayor de desarrollar EA²⁵¹.

Diferentes factores podrían estar implicados en el desarrollo de EA en individuos obesos como niveles elevados de APP en tejido adiposo²⁵² y de A β en plasma, el cual puede deberse a una mayor expresión del gen de la proteína precursora del amiloide²⁵³. Además, los altos niveles de colesterol presentes en la sangre de personas con obesidad, parecen ser un importante factor involucrado en la producción de A β , debido a que este colesterol de la sangre pasa al SNC a través de la barrera hematoencefálica²⁵⁴ estimulando la vía amiloidogénica. Por el contrario, se ha demostrado que un reducido nivel de colesterol en las membranas celulares provoca una disminución en la producción de A β ²⁵⁵.

La inflamación sistémica y la neuroinflamación^{256,257} tienen un importante papel en la patogénesis de la EA. En pacientes obesos, el tejido graso es un órgano endocrino activo con una alta actividad metabólica que produce varios mediadores como adipocinas y citoquinas, entre las que se incluyen la leptina, IL-1 β e IL-6. Estas citoquinas pueden actuar en órganos distantes incluido el cerebro, donde entran a través de la barrera hematoencefálica²⁵⁸, promoviendo la producción de citoquinas mediante la activación de células microgliales.

Tabaco y alcohol

El tabaquismo acelera la atrofia cerebral, la disminución de la perfusión y las lesiones de la sustancia blanca²⁵⁹. Sin embargo, la nicotina puede ayudar a la función cognitiva, mejorando la atención. El tiempo de reacción, el aprendizaje y la memoria²⁶⁰.

El consumo excesivo de alcohol también se ha asociado con problemas cognitivos²⁶¹, incluyendo la demencia alcohólica²⁶². Los efectos del alcohol sobre la cognición, los trastornos cerebrales y la bioquímica cerebral son similares a los efectos biológicos de la EA, por lo que su consumo constituye un factor de riesgo para el desarrollo de la misma²⁶³. El consumo de alcohol se ha asociado pérdida de células localizadas en la sustancia blanca y que conectan neuronas²⁶⁴, y/o neuronas colinérgicas corticales, las cuales se afectan gravemente en la enfermedad²⁶⁵. Aunque, es conocido que el consumo de alcohol provoca la degeneración de las neuronas colinérgicas y disminuye los receptores del sistema colinérgico en la EA, la mejora de la función cognitiva encontrada en los alcohólicos tras la abstinencia de alcohol sugiere que los déficits cognitivos puedan deberse a alteraciones neuroquímicas en lugar a la pérdida neuronal^{265,266}. El daño cerebral relacionado con el alcohol parece estar relacionado con la edad, difiriendo sus efectos entre los jóvenes y mayores²⁶⁵, aunque los datos sugieren que el abuso del alcohol puede acelerar los cambios cerebrales relacionados con el envejecimiento a cualquier edad y que los adultos mayores pueden ser más vulnerables a los efectos del alcohol²⁶⁷.

Por el contrario, se considera que el consumo moderado de alcohol, protege contra la patología de la neurodegeneración^{268,269}, la demencia^{270,271} y el deterioro cognitivo²⁷². De los mecanismos biológicos sugeridos para explicar estos posibles efectos beneficiosos en el cerebro, se encuentran principalmente las propiedades antioxidantes de los flavonoides del vino²⁷³, los efectos contra el A β ²⁷⁴ y la prevención de la isquemia o accidente cerebrovascular por el alcohol²⁷⁵.

Dieta

El cerebro requiere una gran cantidad de nutrientes esenciales de los alimentos para mantener su estructura y función²⁷⁶. Por lo que los efectos de los patrones dietéticos modernos que se caracterizan por el consumo de alimentos de alto contenido energético con poco valor nutricional suponen un conocido factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cerebrales²⁷⁷.

En humanos y en modelos animales, diversos estudios sugieren que el consumo de dietas alta en grasas puede provocar déficits de memoria, inflamación cerebral y estrés oxidativo, todos ellos mecanismos que cobran una importante papel en el desarrollo de la EA²⁷⁸⁻²⁸⁰. Así el consumo de grandes cantidad de ácidos grasos saturados se ha relacionado con la aparición de deterioro cognitivo y con el deterioro cognitivo leve²⁸¹. Esta asociación entre los patrones dietéticos y la cognición es más pronunciada para las tareas relacionadas con la memoria y el

lenguaje, y es debido a los efectos dietéticos sobre la atrofia mediotemporal o sobre la patología amiloide cerebral ^{282,283}.

Por otro lado, la adherencia a algunos patrones dietéticos como la dieta mediterránea, que se caracteriza por un alto consumo de verduras, frutas, legumbres, aceite de oliva, pescado, cereales, frutos secos y semillas; consumo moderado de vino tinto; y la baja ingesta de alimentos procesados, carnes rojas, productos lácteos y aceites vegetales y la dieta mediterránea de intervención se han relacionado con el retraso en la aparición de la neurodegeneración ²⁸⁴. Las intervenciones con suplementos nutricionales también han demostrado ser prometedoras para mejorar la función cognitiva y la salud mental ²⁷⁷.

Aislamiento social y depresión

Junto con la demencia, la depresión es uno de los problemas mentales más comunes en ancianos ^{164,285}. La depresión origina cambios cognitivos y la demencia suele acompañarse de diversos síntomas en el estado de ánimo ^{286,287}.

Si la depresión aumenta o no el riesgo demencia sigue siendo objeto de numerosas investigaciones. La mayoría de los estudios que relacionan la depresión y la demencia se basan en las puntuaciones de los cuestionarios empleados para la detección de la depresión ^{288–290}. Además otros estudios, han sugerido que la depresión es un signo prodrómico o podría ser tanto un síntoma prodrómico de la EA como un factor de riesgo ²⁹¹.

Se ha informado de que la EA y la depresión pueden compartir factores de riesgo de enfermedad vascular ^{292,293}. Un posible vínculo puede ser la aparición a largo plazo de procesos inflamatorios que pueden subyacer a la depresión y la EA ²⁹⁴. Varias citoquinas proinflamatorias (p. ej., el factor de necrosis tumoral α) se han relacionado tanto con la enfermedad vascular como con la depresión ^{295–297} y las mismas citoquinas pueden tener efectos directos sobre el estado cognitivo ²⁹⁸. También se han explorado los posibles vínculos genéticos entre los dos trastornos, sobre todo entre la ApoE $\epsilon 4$ y los trastornos cerebrales ²⁹⁹. La investigación sobre la existencia de la ApoE en la depresión y la EA no ha sido concluyente, y aunque al menos un estudio ha encontrado una relación transversal entre el genotipo $\epsilon 4$ y los síntomas depresivos ³⁰⁰, otros estudios no han encontrado ninguna relación ^{301,302}. Otros autores han especulado sobre los posibles mecanismos de la relación entre el trastorno del estado de ánimo y la EA. Uno de estos mecanismos podrían ser la resistencia a la insulina con hiperinsulinemia y el subsiguiente deterioro del metabolismo de la glucosa, especialmente en los pacientes con trastornos afectivos, puede promover la neurodegeneración y facilitar la aparición de la EA ^{292,303,304}.

El contacto social, aceptado como un factor protector, mejora la reserva cognitiva o fomenta comportamientos beneficiosos, aunque el aislamiento también puede ocurrir como parte del pródromo de la demencia. Varios estudios sugieren que un menor contacto social aumenta el riesgo de demencia. En estas generaciones, el estado civil es, por tanto, un factor importante para el compromiso social. Además, la mayoría de los matrimonios son relativamente jóvenes y las personas casadas suelen tener más contacto interpersonal que las personas solteras; esto da una estimación a largo plazo del efecto del contacto social ³⁰⁵. El alto contacto social (medido a través de la actividad social y la red social) se asoció con una mejor función cognitiva en la vejez ³⁰⁶, y con menor riesgo de demencia, independientemente de factores socioeconómicos y estilo de vida ³⁰⁷

Actividad cognitiva

Otro concepto que también ha sido estudiado como un factor de protección contra los trastornos neurodegenerativos es el de la reserva cognitiva ³⁰⁸. Éste se define como la capacidad de tolerar los cambios relacionados con la edad y la patología relacionada con la enfermedad en el cerebro sin desarrollar signos o síntomas clínicos claros. Los estudios epidemiológicos indican que un alto nivel de educación se asocia a un menor riesgo de EA ^{246,309}, así como una actividad cognitiva frecuente ³¹⁰, y la participación premórbida en actividades de ocio cognitivo reduce el riesgo de demencia al aumentar la reserva cognitiva ^{309,311–313}. Además, varios estudios prospectivos llevados a cabo en las últimas década han puesto de manifiesto como las personas mayores que se dedican con frecuencia a actividades de estimulación mental son menos propensas a desarrollar EA o a experimentar un declive cognitivo ^{312–314}. Por otro lado, un estudio reciente sugiere que la capacidad cognitiva general aumenta con la educación antes de alcanzar una meseta al final de la adolescencia, que es cuando el cerebro alcanza la mayor plasticidad y que esta plasticidad sufre pocos avances con la educación pasados los 20 años. Esto sugiere que la estimulación cognitiva es más importante en la vida temprana; gran parte del aparente efecto posterior podría deberse a que las personas con una función cognitiva superior buscan actividades y educación cognitivamente estimulantes ³¹⁵.

Hablar dos o más idiomas se ha relacionado también con un envejecimiento saludable, ya que promueve la reserva cognitiva y neuronal ^{316,317}, dando lugar a efectos cognitivos más leves en los accidentes cerebrovasculares ³¹⁸, un retraso en la aparición de la demencia ³¹⁹ y un papel protector contra la expresión de otros trastornos neurodegenerativos ³²⁰. Una posible explicación para este efecto bilingüe es que, los individuos bilingües, en comparación con los monolingües, tienen la necesidad de desarrollar una mayor capacidad de control de las lenguas,

resolviendo la competencia lingüística para mantener las lenguas separadas y evitar la interferencia orientada al contexto ³²⁰. Esto potenciaría funciones y procesos cognitivos, incluyendo la atención selectiva y las habilidades ejecutivas, como han demostrado diferentes estudios donde se comparó a personas bilingües de edad avanzada con personas monolingües de la misma edad ^{321,322}.

Pérdida auditiva

La pérdida auditiva se ha relacionado en diferentes estudios de largas cohortes con el deterioro cognitivo y mayor riesgo de demencia ^{215,323}. En un metaanálisis donde se midió la audición mediante audiometría se encontró mayor riesgo de demencia por cada 10 decibelios de empeoramiento ³²⁴. Este estudio fue respaldado por otro realizado en personas con una media de edad de 59,4 años, donde se encontró la misma disminución de la cognición y que continuaba por debajo del umbral clínico de modo que los niveles subclínicos de la discapacidad auditiva (por debajo de los 25 dB) se relacionaban con una menor cognición ³²⁵. Además, se ha relacionado esta pérdida auditiva en sujetos de mediana edad con una pérdida de volumen del lóbulo temporal más pronunciada, incluso en el hipocampo y la corteza entorrinal, siendo aún necesarios estudios para conocer la verdadera etiología de este fenómeno ³²⁶.

El uso de audífonos se ha confirmado como un factor protector contra la disminución de la memoria episódica ³²⁷. Así estudios realizados en personas de 65 años o más encontraron una mayor incidencia de demencia en aquellos con problemas de audición informados por ellos mismos, excepto en aquellos que usaban audífonos ³²⁸. De manera similar, otro estudio encontró que la pérdida auditiva solo se asoció con una peor cognición en aquellos individuos que no usaban audífonos ³²⁹.

Polución

La contaminación del aire y las partículas contaminantes se asocian con malos resultados de salud, incluidos los relacionados con las enfermedades no transmisibles y los estudios se han centrados en los efectos de estos contaminantes en el cerebro. Así, estudios llevados a cabo en modelos animales, sugieren que las partículas contaminantes en el aire aceleran los procesos neurodegenerativos a través de enfermedades cerebrovasculares y cardiovasculares, deposición de A β y procesamiento de APP ^{330,331}. Además, altas concentraciones de dióxido de nitrógeno (NO₂), partículas finas ambientales de los gases de escape del tráfico y partículas finas ambientales relacionadas con la quema de madera residencial se han asociado con mayor riesgo

de demencia, siendo en la mayoría de los casos imposible separar los efectos de cada uno de ellos y considerándose que tienen un factor aditivo ³³²⁻³³⁴.

Lesión cerebral traumática

Una lesión cerebral traumática leve se define como una conmoción y una lesión cerebrales grave como una fractura de cráneo, edema, lesión cerebral o hemorragia. La lesión traumática cerebral grave se asocia tanto en humanos como en modelos murinos, con patología general de Tau hiperfosforilada y en ratones con ApoE ε4 en comparación con el alelo ApoE ε3 tienen más tau hiperfosforilada en el hipocampo después de una lesión de este tipo ^{335,336}.

La lesión cerebral traumática suele ser causada por lesiones en automóviles, motocicletas y bicicletas; exposiciones militares; boxeo, equitación y otros deportes recreativos, así como el uso armas de fuego y caídas ³³⁷; siendo el riesgo de demencia mayor en los seis meses posteriores al evento ³³⁸. Estudios de largas cohortes llevados a cabo en diferentes poblaciones, así como en diferentes profesiones con mayor riesgo de lesión cerebral traumática (militares o deportistas), han demostrado la relación entre las lesiones traumáticas de diferente grado y la aparición de demencia en diferentes periodos de tiempo ³³⁸⁻³⁴².

La distribución de la fracción atribuible a la población, a lo largo de las diferentes etapas de la vida, de estos factores de riesgo modificables para el desarrollo de la demencia puede observarse en la Figura 9.

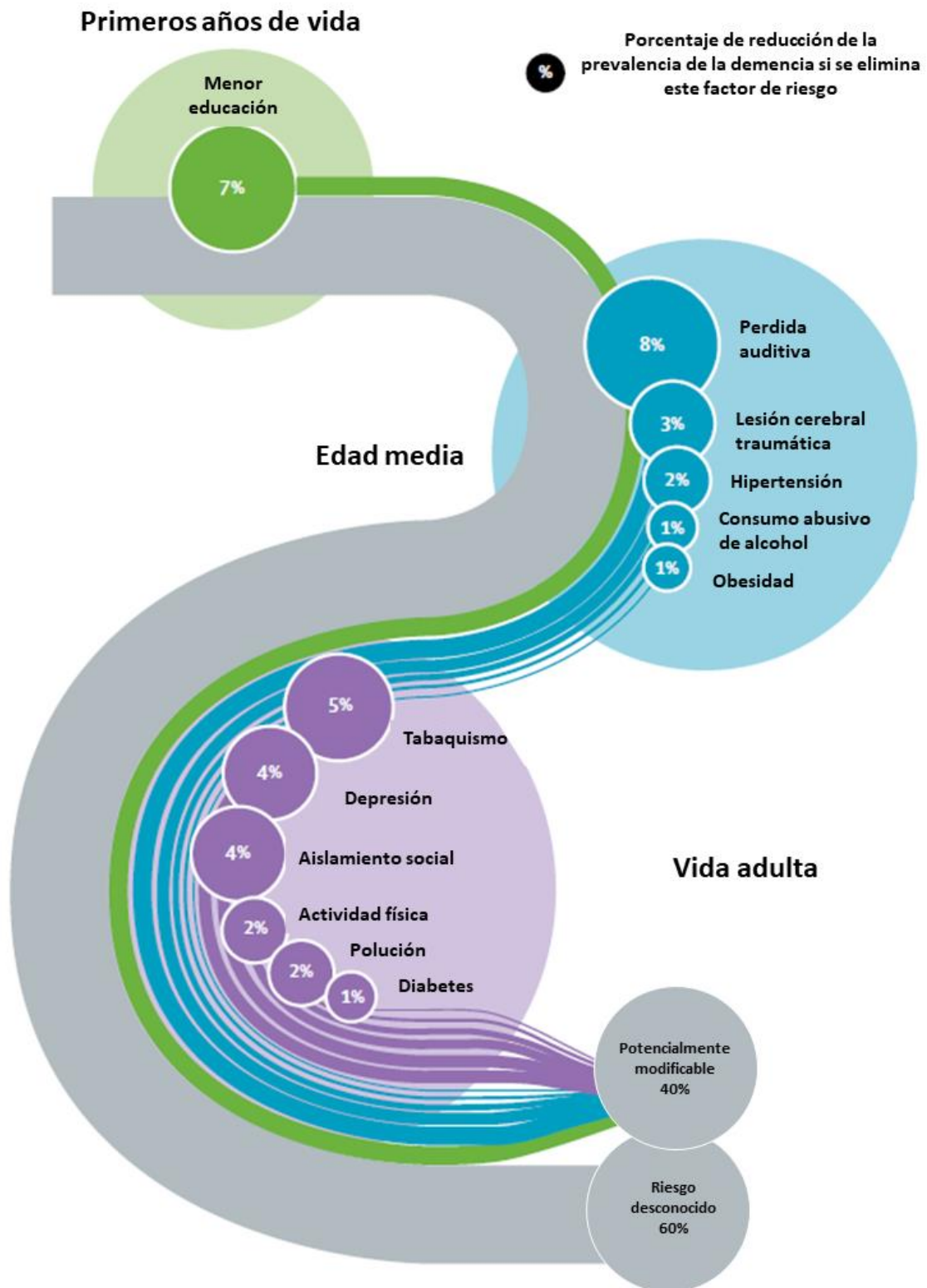


Figura 9. Distribución de la fracción atribuible a la población en las diferentes etapas de la vida de los factores de riesgo modificables para el desarrollo de EA. Modificada de Livingston et al.2020 ²¹⁵

3.2.4 Fases de la enfermedad de Alzheimer

En la actualidad la EA es considerada como un continuo, donde las diferentes fases de la enfermedad se van sucediendo a lo largo del tiempo, desde cuando los cambios cerebrales son imperceptibles para la persona afectada, hasta que los cambios cerebrales causan problemas con la memoria y finalmente se acompañan de discapacidad física ¹²⁷.

En este continuo se pueden diferenciar tres grandes fases: Enfermedad de Alzheimer preclínica, deterioro cognitivo leve debido a Alzheimer y demencia debida a EA ^{19,343}. Esta última fase se subdivide en los estadios leve, moderado y grave en función de cómo la sintomatología interfiere en la capacidad de realizar actividades cotidianas (Figura 10). El tiempo que los individuos pasan en cada una de las etapas de este continuo varía entre individuos y está influenciada por factores como la edad, la genética y el sexo entre otros ³⁴⁴.

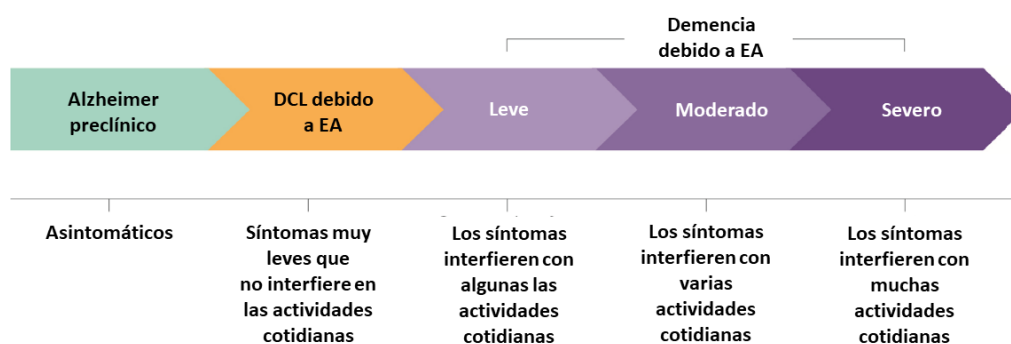


Figura 10. El continuo de la EA. Modificada de Alzheimer's Association Report 2020.

3.2.4.1 Alzheimer preclínico

La patología de la EA puede acumularse décadas antes del inicio de los síntomas clínicamente detectables ^{92,171,345,346}. Este silencioso periodo de la enfermedad se conoce como la etapa preclínica ³⁴⁵ y su caracterización es fundamental para comprender el riesgo de un individuo de desarrollar demencia y para vigilar los perfiles conductuales que pueden ser objetivos para los tratamientos a medida que estén disponibles ³⁴⁷.

Por el momento, esta fase preclínica es la menos estudiada, aunque se sabe que es en este estadio cuando se producen las primeras alteraciones cerebrales y moleculares medibles, que indican los primeros signos de la enfermedad ¹²⁷ y que conllevan el inicio de un proceso de degeneración neuronal, que por definición sería todavía insuficiente para dar los primeros síntomas como es la pérdida de memoria ¹¹⁰.

Uno de los enfoques para caracterizar la EA preclínica es examinar estos cambios cerebrales medibles, como son el perfil de los biomarcadores en individuos que tiene una predisposición genética al desarrollo de la enfermedad (Saunders et al., 1993). Algunos ejemplos de cambios cerebrales medibles son los niveles anormales de A β que aparecen en las tomografías por emisión de positrones (PET) y en el análisis del LCR, y la disminución del metabolismo de la glucosa que aparece en el PET ^{127,348,349}. Además cuando estos primeros cambios aparecen, el cerebro los compensa, lo que permite a las personas seguir desenvolviéndose con normalidad ¹²⁷. También hay que destacar que no todos los individuos con evidencias de cambio cerebrales relacionados con el Alzheimer desarrollan síntomas de deterioro cognitivo o la propia enfermedad ^{350,351}. Por ejemplo, las autopsias de algunos individuos revelan la existencia de placas de A β en el momento de la muerte, pero los sujetos no presentaban problemas de memoria o de razonamiento en vida ¹²⁷.

En esta etapa preclínica existe una considerable variabilidad interpersonal en la tasa de desarrollo del deterioro cognitivo, por lo que, si la existencia de A β es una condición necesaria para el desarrollo de la EA, otros factores influyen en la relación entre este biomarcador y la progresión clínica de la enfermedad (Porter et al., 2018). Un ejemplo de ello es que los individuos que poseen un alelo ϵ 4 para la ApoE exhiben niveles de biomarcadores anormales más elevados en comparación con los individuos ApoE ϵ 4- (Morris et al., 2010) y también muestran ligeros déficits en las pruebas de funcionamiento ejecutivo y rendimiento de la memoria episódica, como lo demuestran varios metaanálisis (Small et al., 2004; Wisdom et al., 2011).

Dos estados fueron propuestos por el grupo internacional de trabajo, conocido por sus siglas en inglés como (IWG) para la fase preclínica de EA: “estado de riesgo asintomático” y “EA presintomática” ³⁵². En el primer grupo se incluían a individuos con biomarcadores de la patología de Alzheimer, pero sin síntomas ni signos clínicos; mientras que la entidad denominada EA presintomática agrupa a aquellos individuos que están destinados a desarrollar una EA clínica ya que son portadores de una mutación autosómica ³⁵³.

Dentro del estado de riesgo asintomático se puede clasificar a los pacientes en función de los biomarcadores de la enfermedad que estos presentan. Este enfoque del Instituto Nacional sobre el envejecimiento y la asociación para el Alzheimer (NIA/AA), basado en el modelo de biomarcadores de Jack ^{52,354}, ha propuesto dos subgrupos o estadios hipotéticos en función del perfil de biomarcadores:

- El estadio 1, en el cual se muestran evidencias *in vivo* de amiloidosis en el cerebro mediante biomarcadores de PET o LCR.

- El estadio 2, en el cual se muestran evidencias *in vivo* tanto de amiloidosis como neurodegeneración.

Esta clasificación por estadios muestra una ligera modificación en el estadio 1 respecto a la regla del IWG2, la cual requiere la coexistencia de cambios en la Tau, tanto en la p-Tau como en la tau total (t-Tau) en el LCR para corroborar la existencia de la patología³⁵³, lo que hace que disminuya la sensibilidad de la definición pero que se refuerce la precisión diagnóstica al corroborar la presencia de un proceso neurodegenerativo en curso⁵. Además, estos estadios se han conceptualizado a partir de observaciones transversales en sujetos con EA autosómica dominante³⁴⁵. Cuando estos estadios se aplican a la EA esporádica estos estadios pueden no reflejar la heterogeneidad de esta forma de la enfermedad. Por ejemplo, hay circunstancias en las que la hiperfosforilación patológica de Tau y el proceso de neurodegeneración comienzan antes que la amiloidopatía cerebral^{355,356}. La variedad de modelos hipotéticos es útil para captar las variantes fenotípicas de la EA que probablemente resulten de diferentes procesos patogénicos, como los diferentes tipos de A β ^{357,358}, patologías tipo mixtas que se dan especialmente en edades avanzadas³⁵⁹ y diferentes factores de riesgo para la EA, incluyendo los factores de riesgo genéticos^{214,360,361}.

Otra de la clasificación se basa en el riesgo alto o bajo para desarrollar la EA clínica. El riesgo es definido como la probabilidad de que un paciente desarrolle los síntomas clínicos a lo largo de la vida, y el cual se debe, por un lado, a la velocidad de progresión de la enfermedad, determinada por los factores de riesgo tanto modificables como no modificables y por el estadio de progresión de los biomarcadores. Así, los sujetos homocigóticos para el ApoE ϵ 4, individuos de edad avanzada cognitivamente sanos tiene un riesgo muy elevado de desarrollar EA clínica, por lo que constituyen una población clave en los proyectos de investigación sobre el estado asintomático de riesgo⁵. Para que esta clasificación tenga un peso importante, aún se necesitan más estudios observacionales para conocer mejor los factores de riesgo y prevención que determinan el estado de riesgo. Actualmente para clasificar a los individuos de bajo y alto riesgo se emplea la combinación de biomarcadores de A β y p-Tau en LCR o PET³⁶². Estos pueden complementarse con los marcadores de imagen de A β y p-Tau que proporcionan información adicional sobre la distribución espacial y los cambios longitudinales (particularmente para el PET de Tau), lo que permitiría una estadificación “*in vivo*” de la patología de la EA³⁶³. Esto ayudaría a la selección de un “umbral” de biomarcadores de la EA. Así, en estudios de observación o de intervenciones de bajo riesgo, como son las modificaciones de estilos de vida, se pueda reclutar a individuos con niveles bajos de patología de EA, mientras que en intervenciones que impliquen

un mayor riesgo o que requieran cambios cognitivos a corto plazo como resultado, se seleccionen sujetos con cambios intermedio o mayores en estos biomarcadores.

3.2.4.2 DCL debido a EA

El deterioro cognitivo leve (DCL) se conceptualiza como un estado intermedio entre el envejecimiento saludable y la demencia clínica. Es por ello que los pacientes con DCL a menudo tienen un mayor riesgo de desarrollar demencia como lo han corroborado diversos estudios de seguimiento ^{364,365}. En un reciente estudio de dos años de seguimiento de personas con DCL, el 15% de los individuos mayores de 65 años desarrollaban EA ³⁶⁶. Otro estudio descubrió que el 32% de los individuos con DCL desarrollaron demencia tipo Alzheimer en los 5 años de seguimiento ³⁶⁷, mientras que un tercer estudio descubrió que entre los individuos con DCL a los que se les realizó un seguimiento de 5 años o más, el 38% desarrolló demencia ³⁶⁸. Sin embargo, en algunos individuos el DCL revierte a la cognición normal o permanece estable ¹²⁷.

En esta etapa de la enfermedad, conocida también como etapa prodrómica ⁴, los individuos tienen biomarcadores de cambios cerebrales, además de problemas sutiles de memoria y pensamiento. Estos problemas cognitivos son perceptibles para el entorno más cercano como la familia y los amigos, pero no para los demás. Además, estos cambios no interfieren en la capacidad de las personas para realizar sus actividades cotidianas. Estos cambios leves se producen por que el cerebro no es capaz de compensar el daño y por la muerte neuronal causada por la fisiopatología de la enfermedad ¹²⁷.

Aunque no es considerada como una etapa de la EA como tal, la experiencia de empeoramiento o aumento de la confusión o la pérdida de memoria, conocida como quejas subjetivas de memoria o como deterioro cognitivo subjetivo (DCS), es uno de los primeros signos de advertencia de la EA y puede ser una forma de identificar a las personas que tienen un alto riesgo de desarrollar la enfermedad u otras demencias, así como DCL ^{369,370}. En esta etapa los individuos muestran una preocupación persistente sobre el deterioro cognitivo, pero por lo general presentan un rendimiento normal en las pruebas cognitivas estandarizadas ³⁷¹. Además, estos sujetos presentan un mayor riesgo de padecer DCL y demencia en comparación con sujetos que no presentan DCS ^{369,372-374}, proponiéndose esta fase como una posible etapa de la EA ³⁶⁹.

3.2.4.3 Demencia debido a EA

La demencia debida a la EA se caracteriza por notables cambios en la memoria, el pensamiento o comportamiento que afectan a las tareas cotidianas del individuo afecto, además de la presencia de cambios cerebrales que se relacionan con la EA. La sintomatología de la

enfermedad va cambiando a lo largo de los años, reflejando el grado de daño neuronal en las diferentes áreas cerebrales afectadas. Existe una gran variabilidad interpersonal, por lo que el ritmo al que los síntomas avanzan de leves a moderados y graves difiere entre individuos ^{4,129}.

En esta etapa de la enfermedad podemos encontrar 3 fases dependiendo de la severidad de la sintomatología

- EA leve: los enfermos actúan de forma independiente en muchas áreas, pero estos empiezan a necesitar ayuda con algunas actividades con el fin de mantener su independencia y mantenerse seguros. Ellos normalmente pueden seguir conduciendo, trabajando y participando en sus hobbies.
- EA moderada: suele ser la fase la más larga de la enfermedad y en la que las personas afectas tienen dificultades para comunicarse y realizar tareas rutinarias, incluidas actividades de la vida diaria como son encargarse del aseo personal. Además, los pacientes empiezan a tener cambios de personalidad, así como cambios de comportamiento y volviéndose más desconfiados.
- EA severa: es la fase más grave de la enfermedad, en la cual los pacientes necesitan a una persona que se encargue de sus cuidados durante las 24 horas. En esta etapa los efectos de la enfermedad se hacen especialmente evidentes en la salud física. Además, cuando la afección cerebral se localiza en áreas relacionadas con el movimiento, las personas se ven obligadas a permanecer en la cama, momento en el cual los enfermos se hacen más vulnerables a afecciones relacionadas con la falta de movilidad como son los coágulos sanguíneos, infecciones cutáneas o sepsis, lo que desencadenan en procesos inflamatorios generalizados y pueden provocar un fallo multiorgánico. El daño de áreas cerebrales relacionadas con la deglución hace que los enfermos tengan problemas en la ingesta de alimentos y bebidas, provocando neumonías por aspiración, una de las causas más frecuentes de mortalidad en personas con EA.

No está claro cuánto tiempo pasan en cada etapa los individuos con patología amiloide. La duración de la fase preclínica de la EA se ha estimado en combinación con la etapa de DCL, estimándose en 17 años de duración y basándose en extrapolaciones del cambio en la carga de A β analizado mediante PET a lo largo del tiempo ⁹². La mediana de la duración de la EA prodrómica fue de tres años en un estudio de cohortes de clínicas de memoria agrupadas, pero no se proporcionaron estimaciones específicas por edad y no se tuvo en cuenta la mortalidad ³⁷⁵. Los pacientes con DCL y niveles elevados de t-Tau en el LCR tendían a convertirse antes en

demencia por EA ^{376,377}. Estudios sobre la duración de la etapa de demencia debido a EA encontraron una duración de 3 a 10 años ^{378,379}. Además, se encontró que la edad más joven, el sexo femenino y una menor cantidad de t-Tau en el LCR están asociados con una mayor duración de la etapa de demencia debida a EA, mientras que el efecto del ApoE no era claro ³⁷⁸⁻³⁸¹.

3.3 Genética de la enfermedad de Alzheimer

Desde un punto de vista genético, la EA puede subdividirse en tres formas según el modo de herencia observado en las familias:

- EA familiar autosómica dominante.
- EA familiar sin herencia mendeliana clara (agregación familiar).
- EA esporádica sin agregación familiar.

3.3.1 Genética de la enfermedad de Alzheimer familiar autosómica dominante

Menos del 1% de los casos de EA puede explicarse exclusivamente por la presencia de factores genéticos ³⁸². Estos casos, que suelen aparecer en familias, han sido de suma importancia para la identificación de los genes causantes de la EA mediante el uso de los métodos de análisis de vinculación con la posterior clonación posicional, identificándose con esta estrategia tres genes causantes de esta forma: la proteína precursora del amiloide (APP), la presenilina 1 (PSEN1) y la presenilina 2 (PSEN2) ^{163,209}.

3.3.1.1 Proteína precursora del amiloide (APP)

En 1987, St. George-Hyslop y colaboradores ³⁸³ localizaron en el brazo largo del cromosoma 21, región en la que se localiza la proteína precursora del amiloide (APP) ³⁸⁴, un defecto genético causante de la EA autosómica ³⁸⁴. Este hallazgo fue apoyado por otros estudios en los que se ponía de manifiesto que mutaciones en diferentes exones de la APP eran causantes de otras mutaciones hereditarias. Por ejemplo, la mutación del exón 16 causa una hemorragia hereditaria con amiloidosis de tipo holandés (HCHWA-D). La HCHWA-D se asocia con el depósito de A β en los vasos sanguíneos cerebrales con la consecuencia de hemorragias cerebrales recurrentes y presencia de placas de A β similares a las encontradas en pacientes con EA ³⁸⁵. Goate y colaboradores descubrieron en el 1991 la primera mutación de ausencia del exón 17 de la APP que coincidía con la EA familiar ³⁸⁶. Estudios llevados a cabo posteriormente también identificaron mutaciones de la APP en familias con EA presenil, localizándose estas mutaciones en los exones 16 y 17 de la APP, que codifican la región A β de la APP. Estas mutaciones

encontradas en la APP fueron decisivas para la comprensión de las cascadas metabólicas que conducen a una mayor producción de A β y dio lugar a la hipótesis amiloide de la EA ³⁸⁷.

A pesar de la exhaustiva búsqueda, hasta ahora, no se han descubierto mutaciones de la APP alejadas de los lugares de escisión proteolítica de la región A β , conduciendo estas mutaciones al depósito extracelular de A β ¹⁶³. Las dos vías que conducen a la escisión proteolítica del APP por las α -, β - y γ -secretasas son: ³⁸⁸:

- Vía no amiloidogénica.
- Vía amiloidogénica.

En la vía no amiloidogénica, existe un proceso de proteólisis que incluye las α -secretasas y γ -secretasas, y que da lugar un tipo de APP soluble no patógeno (sAPP α) y un fragmento α -C-terminal unido a la membrana (α CTF). En esta vía, la proteína APP es escindida por la α -secretasa en el centro de la secuencia A β , dando lugar a la liberación de sAPP α . Posteriormente, la α CTF restante es escindida por la γ -secretasa, dando lugar a la liberación del péptido P3 y del dominio intracelular amiloide (AICD) ^{389,390}

En la vía amiloidogénica, que es más común en las neuronas, la proteína APP es escindida por la β -secretasa en el residuo 1 o en el residuo 11 de la secuencia A β , dando lugar a la liberación de APP soluble β -Cleaved (sAPP β). A continuación, el β CTF restante en la membrana es escindido por la γ -secretasa, dando lugar a una mezcla de péptidos A β de diferentes longitudes (de 38 a 42 aminoácidos) Siendo el A β 1-40 (alrededor del 90%) y el A β 1-42 (alrededor del 10%) los dos principales péptidos de A β ^{87,391}.

El APP es esencial para procesos fisiológicos como la proliferación, la diferenciación y la plasticidad neuronal, así como modulador de la migración neuronal y la función sináptica ³⁹²⁻³⁹⁵.

Estudios con ratones modificados genéticamente y que carecen de APP presentaban una serie de síntomas neurológicos que podrían estar relacionados con cambios a nivel celular y de red, entre los que se incluye la disminución de las espinas dendríticas, la reducción de la potenciación a largo plazo del hipocampo y la alteración de la plasticidad neuronal a corto plazo ^{396,397}. El desarrollo de un circuito neuronal requiere el mantenimiento de la homeostasis sináptica que exige una respuesta proteómica coordinada en los sitios pre y postsinápticos. Un estudio muy reciente ha demostrado que las proteínas APP son uno de los conjuntos de proteínas que

regulan la fisiología presináptica^{398,399} y que son un regulador estructural y funcional de la zona activa presináptica del hipocampo⁴⁰⁰.

Unas 50 mutaciones patogénicas de la APP han sido descritas, afectando la mayoría de ellas a la proteólisis de APP, modificando los niveles de A β ₁₋₄₂ en relación con otras isoformas de A β ^{401,402}. Estas mutaciones se localizan cerca del sitio de escisión de la β -secretasa, de la γ -secretasa o en la secuencia A β de la proteína APP⁴⁰³. Idénticas mutaciones de APP muestran fenotipos diferentes de la EA, demostrando que estas mutaciones pueden verse afectadas por diferencias étnicas, el entorno y otros factores desconocidos^{404,405}. Además, aunque las mutaciones de la APP son suficientes para causar la EA, su efecto puede verse modificado adicionalmente por las interacciones gen-gen. Así la interacción entre una mutación en la APP con el alelo ApoE ϵ 4 da lugar a una edad más temprana de aparición de la enfermedad¹⁶³. La identificación de estas mutaciones ha ayudado en la comprensión de las cascadas metabólicas que conducen a la sobreproducción de A β y ha dado lugar a la hipótesis amiloide de la EA³⁸⁷.

3.3.1.2 Presenilina 1 (PSEN1)

Schellenberg y colaboradores, en 1992, identificaron un locus genético en el brazo largo del cromosoma 14, el cual estaba implicado en la EA autosómica dominante de aparición temprana⁴⁰⁶. Los estudios de clonación posicional y el examen de varias transcripciones de la región de este cromosoma resultaron en el descubrimiento del gen de la presenilina 1 (PSEN1) localizado en el gen 14 q24.3, que tiene 5 mutaciones por cambio de sentido diferentes que se relacionaban con la EA autosómica dominante de aparición temprana⁴⁰⁷.

La PSEN1 es una de las cuatro proteínas centrales del complejo γ -secretasa, que desempeña un papel importante en la generación del A β a partir de APP⁴⁰⁸. Esta proteína tiene un papel importante en la actividad de la γ -secretasa, inhibiéndose en aquellas neuronas del hipocampo en las que no se encuentra presente⁴⁰⁹⁻⁴¹¹, así como un importante rol en la plasticidad sináptica⁴¹². Los estudios llevados a cabo en modelos knockout PSEN1 han demostrado que la ausencia de esta proteína causa disfunción sináptica, deterioro de la memoria y neurodegeneración dependiente del envejecimiento en las neuronas excitatorias del cerebro anterior y una deficiencia en la neurogénesis del giro dentado⁴¹³⁻⁴¹⁵, sugiriendo que esta proteína puede desempeñar un papel importante en la promoción y el mantenimiento de la memoria y la supervivencia neuronal^{416,417}. Estudios llevados a cabo en cultivos celulares han puesto de manifiesto que la mutación de PSEN1 también es responsable de la sobreelevación de los niveles

de A β ₄₂, lo que sugiere que la función de la presenilina es importante para la regulación del procesamiento del APP ⁴¹⁸

Numerosas mutaciones de la PSEN1 han sido identificadas, siendo estas causantes de la mayoría de las formas más agresivas y tempranas de la enfermedad, apareciendo entre la cuarta y sexta década de la vida. La mayor parte de estas mutaciones son mutaciones de cambio de sentido, conocidas en inglés como “missense mutations” las cuales se encuentran dispersas por toda la molécula, pero tienden a agruparse dentro y en las proximidades de los dominios transmembrana, los cuales tienen una gran importancia en la actividad proteica de las presenilinas ¹⁶³.

La interacción entre la PSEN1 y el ApoE parece ser inexistente, no influyendo ni en la edad de inicio de las familias que tienen esta mutación. Además, existe una alta variabilidad fenotípica dentro de esta forma de la enfermedad (gran variabilidad en la edad de aparición, así como en la clínica que presentan), la cual puede ser debida a la interacción de la PSEN1 con otros factores genéticos ⁴¹⁹⁻⁴²¹. Por último, cabe señalar que no todos los portadores de mutaciones en la PSEN1 terminan desarrollando la enfermedad ya que algunas mutaciones tienen una penetrancia incompleta ⁴²².

3.3.1.3 Presenilina 2 (PSEN2)

Bird y colaboradores describieron en 1988 un grupo de familias con EA autosómica dominante de inicio temprano, que descendía de una única familia alemana que inmigró a Rusia y luego Estados Unidos ¹⁹³. Al no detectar mutaciones en la APP ni en la PSEN1, se buscaron proteínas homologas a la PSEN1, lo que condujo a la clonación y caracterización del gen PSEN2. Este se localiza en el cromosoma 1q31-q42, tiene una homología de casi el 60% con la PSEN1 ⁴²³ y codifica una proteína muy homóloga a esta ⁴²⁴. PSEN2 tiene dos isoformas. La isoforma 1 se encuentra en la placenta, el músculo esquelético y el corazón, mientras que la isoforma 2, que carece de los aminoácidos 263-296, se encuentra en el cerebro, corazón, placenta, hígado, músculo esquelético y riñón ⁴²³.

La PSEN2 es también una de las 4 proteínas centrales del complejo γ -secretasa proporcionando la actividad catalítica del mismo. Esta proteína, que ha sido poco estudiada, se considera un complemento compensatorio de la PSEN1 ⁴²⁵. La PSEN2 se localiza únicamente en los endosomas tardíos y los lisosomas ⁴²⁶, contribuyendo así a la reserva intracelular del péptido A β previamente asociado a un evento temprano en la EA ⁴²⁷. Muchos estudios sugieren que las proteínas PSEN2 en el sistema inmune tienen una variedad de funciones biológicamente

importantes. La pérdida de la función de la PSEN2 se asocia con la neuroinflamación y la neurodegeneración^{413,414}. Además, en células microgliales knockout, la PSEN2 podría aumentar las citoquinas proinflamatorias clásicas inducidas por A β , como la IL-1 β , la IL-1 α y el TNF- α ⁴²⁸.

Las mutaciones en el gen PSEN2 son extremadamente raras. Se han identificado menos de 40 mutaciones en el PSEN2⁴²⁹. Las mutaciones patogénicas conocidas de PSEN2 conducen a una disminución significativa del A β ₄₀ extracelular, a un aumento del A β ₄₂ y a un incremento drástico de las ratios A β _{42/40}. La EA familiar con mutaciones en PSEN2 tiene una edad de inicio más tardía y una mayor duración de la enfermedad en comparación con las familias con mutaciones en PSEN1⁴³⁰. La penetrancia de la enfermedad en los pacientes con EA con mutaciones en PSEN2 es variable, así como la edad inicio que va desde los 40 hasta los 80 años⁴³¹⁻⁴³³. Además, algunas mutaciones en PSEN2 están asociadas a otros trastornos como la demencia con cuerpos de Lewy, la demencia frontotemporal, el cáncer de mama, la cardiopatía dilatada y la enfermedad de Parkinson⁴³¹.

Al igual que en el caso del PSEN1, el gen APOE no parece interactuar con el PSEN2 y no influye en la edad de aparición en las familias con PSEN2¹⁶³.

Aunque la investigación sobre la genética de la EA de inicio temprano ha hecho grandes progresos, las mutaciones de los genes anteriormente explicados solo pueden explicar una pequeña fracción de las familias con EA. Por tanto, el gran número de pacientes con esta forma de la enfermedad sugiere que aún hay genes causantes que no han sido identificados⁴²⁹. Algunos factores de riesgo genético bien descritos para el desarrollo de EA esporádica, como la homocigosis para el alelo ϵ 4 de la ApoE, demostró que también aumenta el riesgo del desarrollo de esta forma de la enfermedad, siendo tan solo un factor de riesgo y no una causa significativa⁴³⁴. Investigaciones realizados en familias con EA de inicio temprano han identificado algunos genes que podrían ser candidatos a causar EA de inicio temprano, como TYROBP, NOTCH3 y SORL1⁴³⁵⁻⁴³⁸.

3.3.2 Genética de EA familiar sin herencia mendeliana clara (agregación familiar)

La agregación familiar de la EA puede deberse a factores de riesgo genéticos compartidos o, a factores de riesgo ambiental dentro de las familias. Sin embargo, la mayoría de los casos son esporádicos, que se define por la ausencia de pruebas de agregación familiar¹⁶³.

3.3.3 Genética EA Esporádica o EA de inicio tardío sin agregación familiar

La EA esporádica representa la mayoría de los casos de EA, sin embargo, los mecanismos genéticos implicados en esta forma de la enfermedad siguen siendo desconocidos en gran medida, siendo los mayores factores de riesgo para su desarrollo: la edad avanzada^{439,440}, la genética^{441,442} y tener antecedentes familiares^{8,443-445}.

En el caso de la EA esporádica, la mayoría de los genes candidatos están implicados en el metabolismo del amiloide, en la homeostasis del colesterol cerebral o son componentes de la reacción inmunitaria relacionada con la EA. Dentro de los genes, uno de los que confiere un mayor impacto en la salud pública es una isoforma de la apolipoproteína E (ApoE)¹⁶³.

3.3.3.1 Poliformismos de la apolipoproteína E (ApoE)

El gen del ApoE se localiza en el cromosoma 19 y codifica la apolipoproteína E, que desempeña un importante papel en la regulación del metabolismo del colesterol y los triglicéridos⁴⁴⁶, además de desempeñar un papel directo o indirecto en el desarrollo de la EA.

Existen tres formas polimórficas comunes ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$, y $\epsilon 4$), los cuales se distinguen entre sí en base a dos polimorfismos de nucleótido único, que dan lugar a dos cambios de aminoácidos en las posiciones 112 y 158. El alelo ApoE $\epsilon 2$ se caracteriza por la cisteína en las posiciones 112 y 158, el alelo ApoE $\epsilon 3$ por la cisteína en la posición 112 y la arginina en la posición 158, y el alelo ApoE $\epsilon 4$ por la arginina en ambas posiciones⁴⁴⁷. Cada persona puede tener cualquier combinación de estos 3 alelos, dando lugar a los genotipos ApoE $\epsilon 2\epsilon 2$, $\epsilon 2\epsilon 3$, $\epsilon 3\epsilon 3$, $\epsilon 3\epsilon 4$ o $\epsilon 4\epsilon 4$. El genotipo ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$ es el más común. Tener un alelo $\epsilon 2$ se asocia a menor riesgo de EA y a una edad media de aparición de la demencia superior. Sin embargo, cada copia adicional del alelo $\epsilon 4$ en el genotipo ApoE de una persona se asocia a un mayor riesgo de EA, (una copia del alelo $\epsilon 4$ aumenta el riesgo en aproximadamente 3 veces, dos copias en aproximadamente 12 veces) y a una edad media ligeramente más temprana de aparición de la demencia, siendo esta edad de 68 años para los homocigóticos, 76 años en los heterocigóticos y 84 años en los no portadores^{5,429,448,449}. Además, la magnitud del efecto del alelo ApoE $\epsilon 4$ como factor de riesgo para la EA está influenciada por la edad, la etnia de la persona, así como las condiciones ambientales^{450,451}. Aunque el efecto del ApoE $\epsilon 4$ es evidente a todas las edades entre los 40 y los 90 años, se debilita a partir de los 70 años⁴⁵². Por otro lado, hay que destacar que el efecto del ApoE $\epsilon 4$ se acentúa en las poblaciones hispanas, mientras que curiosamente en algunas poblaciones africanas no se observa ninguna asociación entre el alelo $\epsilon 4$ y la EA⁴⁵³.

Aunque la relación entre el ApoE y el riesgo de desarrolla EA está ampliamente referenciado, el mecanismo exacto implicado en el desarrollo de la patogenia no está un del todo claro ⁴⁴⁹. Uno de los mecanismos sugeridos está relacionado con la capacidad de la ApoE para unirse al A β , desempeñando un papel en la conversión del A β de formas monoméricas y no tóxicas a oligómeros y fibrillas. Esto queda confirmado por la presencia de ApoE tanto en las placas seniles como en los NFT ⁴⁵⁴. Otro posible mecanismo puede deberse a los efectos neurotóxicos de las isoformas de ApoE, independientemente de la interacción con A β . Las diferencias de aminoácidos en las tres isoformas comunes alteran la estructura de la proteína ϵ influyen en las propiedades funcionales, incluida la regulación lipídica. Las isoformas de la ApoE podrían tener efectos diferentes a través de los receptores de lipoproteínas que conducen a una señalización neuronal alternativa en el sistema nervioso. Un metabolismo anormal del colesterol contribuye a una redistribución alterada de los lípidos y el colesterol, lo que puede afectar a la plasticidad neuronal ⁴⁵⁵. No está claro si la desregulación lipídica contribuye al hipometabolismo cerebral o si el hipometabolismo es secundario a la alteración del metabolismo del A β o a la lesión cerebral. De hecho, las regiones típicamente implicadas en el depósito de placas de A β en pacientes con EA coinciden en el cerebro normal con las regiones que metabolizan la glucosa por glucólisis aeróbica. Esto se confirma en sujetos portadores del alelo ApoE ϵ 4 que mostraron, mediante estudios de PET, un metabolismo cerebral de la glucosa reducido incluso 20 años antes de la aparición de la enfermedad ⁴⁵⁵. También se ha asociado la presencia de ApoE ϵ 4 en poblaciones cognitivamente normales y sin demencia con una mayor carga de A β en el PET y una menor cantidad de A β ₁₋₄₂ en el LCR ^{456,457}.

Además del ApoE, se han obtenido resultados significativos para varios genes adicionales, que pueden estar implicados en la cascada fisiopatológica relacionada con la forma esporádica de la EA, como la colesterol 24S-hidroxilasa (CYP46A1) ⁴⁵⁸, la cistatina-C (CST3) ⁴⁵⁹, la interleucina 1 (IL1) ^{460,461}, e interleucina 6 (IL6) ^{462,463}, la apolipoproteína A1 (APOA1) ⁴⁶⁴ y la ubiquitina1 (UBQLN1) ⁴⁶⁵. Se ha sugerido que los polimorfismos en estos genes son factores potenciales de susceptibilidad para la EA y que también pueden modificar el inicio de la enfermedad ¹⁶³.

3.4 Detección y diagnóstico actual de la demencia

El diagnóstico de la enfermedad es complejo y con frecuencia, subjetivo. Además, para llegar a él, los especialistas utilizan varios métodos como el análisis de las historias médicas de los pacientes, la exploración del estado cognitivo con test neurológicos y el estudio de diferentes biomarcadores, entre los que se encuentran determinaciones en LCR y el análisis de diferentes

pruebas de neuroimagen ⁴⁶⁶. Estas pruebas se basan en los diferentes criterios para el diagnóstico de la enfermedad, los cuales se han ido actualizando con los avances científicos.

Además, en la actualidad se busca un diagnóstico en fases cada vez más tempranas, donde los sujetos son aún asintomáticos. Esto les permite a los sanitarios realizar un seguimiento de la enfermedad, protocolizar los cuidados, ofrecer ayuda a los familiares y al propio enfermo a tomar decisiones sobre su futuro, así como facilitar el acceso a ayudas sociosanitarias.

3.4.1 Criterios diagnósticos de la EA

La última actualización de los criterios diagnósticos de la EA viene del 2018 donde un grupo de trabajo multidisciplinar examinó las directrices para el diagnóstico de las demencias y la EA publicadas en el 2011 ¹⁹.

En primer lugar, el objetivo fue crear un esquema para definir y estadificar la patología en todo su espectro, lo que facilitaría la comunicación estandarizada de los resultados de la investigación en todo el campo ^{375,467,468}. En segundo lugar, se determinó que estas recomendaciones debían presentarse como “un marco de investigación” y no como criterios o directrices de diagnóstico. Esto implica que a diferencia de los criterios NIA-AA del 2011 para el DCL o la EA que se basan en criterios clínicos sin incluir biomarcadores, el marco de investigación del 2018 no está destinado a la práctica clínica en general, pues para ello necesitaba ser examinado a fondo y modificado.

Por tanto, en este marco de investigación el diagnóstico no depende de los síntomas clínicos sino que se basan en tres grupos de biomarcadores relacionados con el depósito de $A\beta_{42}$ (A), Tau patológico (T) y presencia de neurodegeneración o de daño neuronal (N). Además, en este marco de investigación se esbozan dos esquemas cognitivos para estadificar la gravedad del deterioro cognitivo: un esquema con tres categorías sindrómicas y un esquema numérico con 6 estadios ⁴.

El primero divide el continuo cognitivo en tres categorías tradicionales: sin deterioro cognitivo, DCL y demencia, siendo esta última subdividida en tres estadios leve, moderada y grave. Esta clasificación es la que se emplea en la caracterización cognitiva de muchos grandes estudios ⁴⁶⁹⁻⁴⁷¹ y sigue siendo eficaz para la investigación clínica.

El esquema de estadificación clínica numérica evita las etiquetas tradicionales de los síndromes y se aplica solo a los que se encuentran dentro del continuo del Alzheimer. Este esquema de

estadificación, con 6 estadios numerados del 1 al 6, refleja la evolución secuencial de la EA desde una etapa inicial caracterizada por la aparición de biomarcadores anormales de EA en individuos asintomáticos. A medida que las anomalías de los biomarcadores progresan, los primeros síntomas sutiles se vuelven detectables. La progresión de las anomalías de los biomarcadores va acompañada de un empeoramiento progresivo de los síntomas cognitivos, que culmina en la demencia. Una aplicación útil prevista para este esquema numérico de estadificación cognitiva son los ensayos de intervención.

3.4.2 Historia del paciente

La historia clínica o anamnesis es de fundamental importancia para guiar tanto el examen general de los pacientes, así como los exámenes complementarios que sean necesarios ⁴⁷² para llegar a un posible diagnóstico y un manejo y tratamiento de la enfermedad adecuados ⁴⁷³.

La historia clínica debe centrar el interrogatorio en la aparición de las quejas de memoria, la forma de comienzo, el patrón de progresión y el impacto a nivel funcional y de independencia del paciente. Además, es necesario conocer datos demográficos como la edad, el nivel educacional del paciente, su ocupación o profesión que ha desarrollado en el pasado (posible exposición a tóxicos o habilidades que desempeña). Es importante también realizar un registro de enfermedades concomitantes, comorbilidades y tratamientos farmacológicos, pues son variables que pueden tener un posible impacto en la función cognitiva. Además, conocer los antecedentes familiares de la enfermedad puede ser de gran importancia tanto para las formas hereditarias como para las esporádicas. Por último, cabe destacar la gran importancia contar con un informador confiable e independiente que aporte información extra o corrobore los datos suministrados por el paciente ⁴⁷².

3.4.3 Test Neuropsicológicos

La valoración clínica incluye la exploración de múltiples dominios entre los que se encuentran: el estado de alerta, atención, concentración, memoria, lenguaje, habilidades visoespaciales, funciones ejecutivas, aptitudes de comportamiento social, personalidad, etc. Dado que la valoración de todas estas funciones mentales es compleja, y más su cuantificación, algunos test que facilitan un cribado o aproximación inicial son:

- El Mini Mental State Examination (MMSE)
- El Montreal Cognitive Assessment (MoCA)

3.4.3.1 MMSE

El test del Estado Mental Mínimo de Folstein, conocido como Mini Mental State Examination (MMSE), es el test de screening más utilizado para el diagnóstico de demencia, se ha traducido a más de 50 idiomas ⁴⁷⁴, siendo recomendado por diferentes guías clínicas y estudios epidemiológicos ⁴⁷⁵. Una de sus mayores ventajas es su brevedad, se tarda en realizar menos de 10 minutos ⁴⁷⁶.

El MMSE se diseñó para identificar alteraciones cognitivas en la EA, calificando dominios como la orientación, aprendizaje, atención, cálculo, lenguaje y memoria diferida y de construcción. Este se puntúa entre 0 y 30 puntos, siendo considerado anormal cuando el paciente obtiene menos de 24 puntos ⁴⁷⁶. Este test tiene una sensibilidad del 93% y una especificidad del 46%, pero depende del nivel educativo del paciente, con variaciones de hasta 7 puntos entre la población con mayor y menor grado de estudios ⁴⁷⁷. La principal limitación del MMSE es su dificultad para identificar estados iniciales de la EA, cuando las alteraciones en la memoria y el lenguaje son las primeras en aparecer, así como la presencia de DCL ⁴⁷⁸⁻⁴⁸⁰. Aunque se ha establecido que niveles entre 24 y 27 puntos sugieren la presencia de DCL ⁴⁶⁶

3.4.3.2 MoCa

Este prueba breve, entre 10 y 15 minutos de duración ⁴⁷⁶, fue diseñada como alternativa al MMSE ⁴⁷⁷. Este test ha mostrado eficiencia en la detección de los primeros indicadores de disfunción cognitiva en los dominios de habilidad visu-espacial, denominación, memoria, atención, lenguaje, abstracción, orientación y recuerdo diferido ⁴⁸¹⁻⁴⁸³. Está disponible en diferentes idiomas y de forma gratuita en www.mocatest.org. Este test tiene una sensibilidad del 100% para el síndrome demencial y del 90% para el DCL usando el punto de corte 26/30. Sin embargo, los puntajes normativos del MoCA varían considerablemente y requiere que los sujetos tengan un nivel mínimo de estudios ⁴⁷⁷

3.4.4 Biomarcadores en la EA

Se entiende por biomarcadores variables fisiológicas, bioquímicas que pueden ser medidas *in vivo* y que caracterizan cambios patológicos específicos de una enfermedad ⁴⁸⁴. Pueden emplearse para el diagnóstico de una enfermedad, para establecer su gravedad (estadiaje), para analizar su progresión o para monitorizar las respuestas terapéuticas (Martín-Carrasco, 2009).

En las últimas décadas se ha realizado una exhaustiva búsqueda de un biomarcador de la EA que pudiesen ser considerado un criterio indirecto de valoración clínica. Se han propuesto como

tales un buen número de determinaciones bioquímicas en LCR, plasma y orina. Otras exploraciones realizadas con técnicas de neuroimagen o marcadores genéticos.

Los biomarcadores en la EA pueden establecerse a varios niveles. Los biomarcadores de riesgo, también conocidos como rasgo, permiten identificar a las poblaciones de riesgo, las cuales podrían participar en estudios para mejorar el conocimiento de la patología así como para aplicar medidas preventivas de tipo primario o secundario ⁴⁸⁵.

Los biomarcadores de diagnóstico (estado), tanto para el diagnóstico diferencial como el diagnóstico precoz serían de gran utilidad a la hora de confirmar la presencia de la enfermedad y de seleccionar mejor a los sujetos susceptibles de algún tipo de intervención terapéutica. También lo serían los biomarcadores de progresión, que permitieran predecir qué sujetos van a pasar de una fase de DCL a otra o que van a evolucionar de una forma más agresiva. En la actualidad los biomarcadores más necesarios son aquellos que permiten monitorizar los resultados de las intervenciones terapéuticas y distinguir entre intervenciones sintomáticas y modificadoras del curso de la enfermedad ⁴⁸⁵.

En la actualidad, los biomarcadores centrales en la EA se dividen principalmente en biomarcadores de LCR y biomarcadores de imagen ⁴⁸⁶, aunque los criterios diagnósticos empleado actualmente en la investigación clínica ⁴ proponen tres grupos de biomarcadores basados en la naturaleza del proceso patológico que mide cada uno de ellos ^{4,487}.

- Biomarcadores de las placas de A β , que se etiquetan como “A” y que son la unión del ligando amiloide cortical en el PET ^{175,488} o el bajo nivel de A β ₄₂ en el LCR ^{489–491}.
- Biomarcadores de Tau fibrilar, etiquetados como “T” y son la elevación de p-Tau en el LCR y la unión del ligando de la Tau cortical en el PET ^{490,492–494}.
- Biomarcadores de neurodegeneración o lesión neuronal, etiquetados como “(N)”, y entre los que se encuentran: la t-Tau en el LCR, el hipermetabolismo del PET de fluorodeoxiglucosa y la atrofia en la RMN ^{495–501}. La explicación de que la N vaya entre paréntesis se basa en que esta no refleja cambios concretos de la enfermedad, sino que tan solo se refleja el estadio de esta ⁴.

3.4.4.1 Pruebas de neuroimagen

3.4.4.1.1 Imágenes por resonancia magnética nuclear

La resonancia magnética nuclear (RMN) es un proceso de obtención de imágenes médicas que emplea un campo electromagnético y señales de radiofrecuencia para producir imágenes de estructuras anatómicas, así como de diversas funciones biológicas dentro del cuerpo humano y

la presencia de enfermedades ⁵⁰². El campo electromagnético produce un alineamiento de los protones dentro del tejido y la corriente de radiofrecuencia genera una posterior excitación de un subconjunto de protones diferentes dentro de la anatomía que se desea analizar ⁵⁰³. Así, la adquisición de una imagen consiste en un ciclo de adquisición que se repite muchas veces. En cada ciclo, la magnetización del tejido es forzada a través de una serie de cambios, aunque no todos los tejidos o fluidos progresan al mismo ritmo a través de estos cambios. Por tanto, la intensidad de la señal de radiofrecuencia producida y el brillo de los tejidos resultantes en la imagen viene determinada por el nivel de magnetización presente en un tiempo de toma de imágenes al final de cada ciclo.

Mediante la RMN se pueden obtener diferentes tipos de análisis: Resonancia magnética estructural, resonancia magnética de difusión, resonancia magnética funcional y espectroscopia de resonancia magnética.

Imágenes por resonancia magnética estructural.

Esta técnica se caracteriza por la obtención de imágenes de la anatomía del tejido mediante el uso de secuencias de resonancia magnética de alta resolución.

En el ámbito de la demencia, el uso de la RMN estructural se ha empleado durante varias décadas para excluir otras patologías tratables. Sin embargo, este rol de exclusión, que puede realizarse mediante tomografía computarizada, ha ido dando paso al de la demostración de marcadores positivos de la enfermedad, siendo uno de los más comunes en la EA la atrofia hipocampal ^{504,505}.

En demencia tipo EA, la progresión de la atrofia sigue la estadificación de Braak ⁵⁰⁶, observándose por primera vez mediante RMN en las estructuras del lóbulo temporal medial (LTM) incluyendo la corteza entorrinal y el hipocampo ^{507,508}. En estos pacientes existe una reducción de un 26-27% del volumen hipocampal y de un 38-40% de los volúmenes de la corteza entorrinal comparando con los sujetos sanos. Los pacientes con DCL muestran niveles de atrofia intermedios del LTM ⁵⁰⁸, siendo esta un buen predictor de la conversión de DCL a EA ⁵⁰⁹. Se ha relacionado la presencia de atrofia difusa en el hipocampo con déficits en el funcionamiento ejecutivo y la memoria de los pacientes con EA ⁵¹⁰. Con el progreso de la enfermedad, la atrofia avanza hacia el resto del LTM, produciéndose pérdida de la materia gris en la circunvolución temporal medial, parahipocampo, circunvolución parahipocampal y fusiforme y polo temporal ⁵¹¹ (Figura 11).

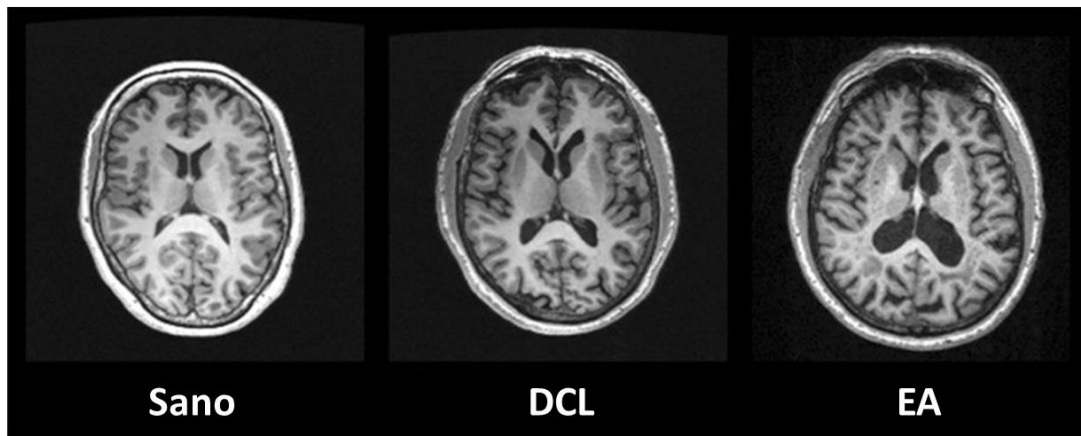


Figura 11. RMN que muestra la disminución de volumen de la materia gris de un paciente con EA en comparación con un control sano y una disminución intermedia de materia gris en un paciente con DCL. Modificada de Chandra et al. 2019 ⁵¹²

Otras estructuras como la amígdala, la circunvolución del cíngulo, el tracto del bulbo olfatorio y el tálamo se ven afectadas también en la EA ⁵¹³⁻⁵¹⁷, asociándose la pérdida de la materia gris de estas regiones con disfunción cognitiva y sintomatología neuropsiquiátrica ^{518,519}. Con el progreso de la enfermedad la atrofia se extiende hacia las cortezas parietal y frontal ⁵²⁰, y se producen reducciones volumétricas como las del putamen y las del sistema colinérgico del prosencéfalo basal ^{517,521,522}. La corteza olfatoria presenta también atrofia ⁵²³, así como el cerebelo y el tronco encefálico ^{524,525}.

En el DCL se da una pérdida de materia gris principalmente en las áreas frontal, temporal, atrofia de la corteza olfatoria primaria y algunas estructuras del prosencéfalo basal ⁵²¹⁻⁵²³. Además, estos cambios estructurales también se han detectado en pacientes cognitivamente sanos, pero con alto riesgo genético, como es ser portador del alelo $\epsilon 4$ para el ApoE. Estos sujetos ya han mostrado una reducción del volumen del hipocampo ⁵²⁶. Además, esta asociación entre si el sujeto es homocigótico o heterocigótico para este alelo $\epsilon 4$, se ha relacionado con tasas aceleradas de atrofia cerebral antes del inicio del DCL ⁵²⁷. La presencia de este gen también se relacionó con un volumen hipocampal más reducido en mujeres con DCL y EA en comparación con los hombres ^{528,529}. En otros estudios, también se demostró que sujetos sanos cognitivamente y con antecedentes maternos de EA presentan un volumen reducido de varias regiones cerebrales entre las que se incluyen el LTM y el precuneus ⁵³⁰⁻⁵³².

Las RMN estructural también puede mostrar hiperintensidades de materia blanca, siendo estas un signo de desmielinización y pérdida axonal ⁵³³, además de reflejar una enfermedad cerebrovascular subclínica ⁵³⁴ (Figura 12). Los pacientes con EA muestran hiperintensidades

principalmente en el lóbulo frontal ⁵³⁵, que con el progreso de la patología se correlacionan con la atrofia hipocampal y deterioros neuropsicológico y psiquiátricos ^{536,537}. La carga de hiperintensidades de la materia blanca también se han relacionado con DCL ⁵³⁸, aumentando el riesgo de demencia ^{539,540} (Figura 12). Por otro lado, en sujetos con cognición normal, algunos estudios si han asociado la carga de hiperintensidades en la sustancia blanca con posterior neurodegeneración observada por RMN ^{541,542} y PET de fluorodeoxiglucosa (PET-FDG) ⁵⁴³, mientras otros estudios no han encontrado tal asociación ^{544,545}. Aunque los estudios que analizan la asociación entre el ApoE ϵ 4 y las hiperintensidades en la estructura blanca son inconsistente, sí que demostraron mayor carga de estas en las edades avanzadas ⁵⁴⁶. En estos portadores de ϵ 4, las hiperintensidades se localizaban principalmente en los lóbulos temporales y parietales y teniendo estas mayor volumen en el lóbulo occipital ⁵⁴⁷.

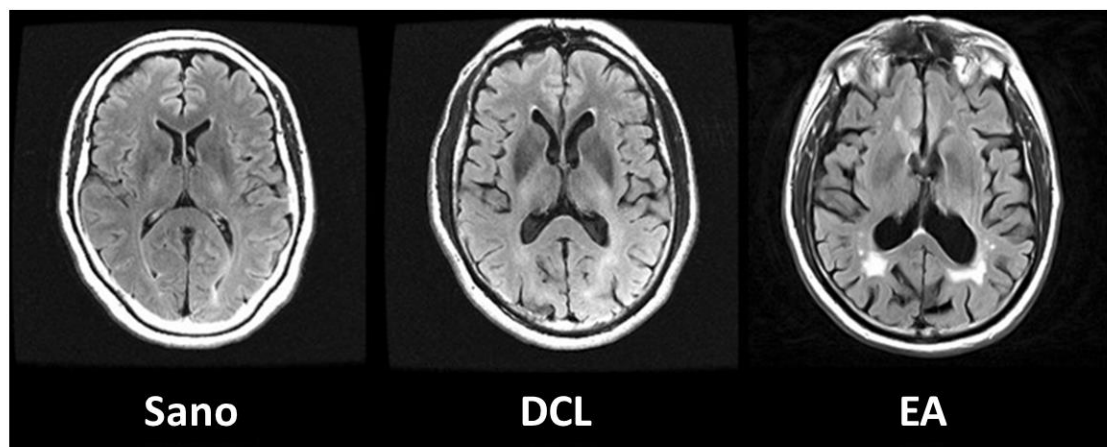


Figura 12. Imágenes de RM donde se muestran un aumento de lesiones hiperintensas en la sustancia blanca en un paciente con EA en comparación con un sujeto sano y niveles intermedios de hiperintensidades en sujetos con DCL. Modificada de Chandra et al. 2019 ⁵¹².

Estos cambios estructurales observados por RMN estructural, se cree son una expresión de la disminución de la densidad sináptica, la pérdida neuronal y la contracción celular ⁵⁴⁸.

3.4.4.2 Biomarcadores en LCR

La utilidad diagnóstica de los biomarcadores centrales del LCR para la EA está reconocida en las guías de investigación, estando estos biomarcadores ya en uso en la clínica en muchos países europeos ⁵⁴⁹. Sin embargo, la información diagnóstica derivada de estos se supone y es en parte complementaria a la de los biomarcadores de imágenes de PET. Los 3 biomarcadores en LCR más estudiados en la EA hasta la actualidad son: Péptido amiloide $A\beta$, proteína t-Tau y p-Tau. Estos biomarcadores que representan la patología amiloide, la degeneración axonal cortical y la

patologías de los ovillos neurofibrilares han sido validados como biomarcadores fundamentales de la fisiopatología de la EA ^{550,551}.

El LCR está en contacto directo con el espacio extracelular del cerebro, pudiendo reflejar los cambios bioquímicos que se producen en este, y siendo una fuente óptima de biomarcadores de EA ⁵⁵¹.

Péptido amiloide A β

El descubrimiento de que la A β se produce durante el metabolismo celular normal y se secreta en el LCR propulsó el desarrollo de un biomarcador de A β para la EA ⁵⁵².

- A β_{1-42} : Estudios demostraron que el A β_{1-42} es la especie más abundante en las placas amiloides, ⁵⁵³⁻⁵⁵⁵. Diferentes técnicas han permitido poner de manifiesto la disminución de los niveles de A β_{1-42} en LCR de aproximadamente un 50% cuando se compara con sujetos sanos pareados por edad ^{556,557}. Una explicación para la reducción de estos niveles de A β_{1-42} en la EA puede deberse, al menos en parte, a una mayor retención de esta isoforma de A β en las placas ⁵⁴⁹. Los niveles de A β_{1-42} en el LCR ha mostrado una disminución incluso 15 años antes de la aparición de los primeros síntomas de la EA ⁵⁵⁸.
- A β_{1-40} : No existen cambios en los niveles de A β_{1-40} en LCR en pacientes con EA ⁵⁵⁹⁻⁵⁶¹. Sin embargo, lo que sí que se ha demostrado en esta enfermedad es una moderada disminución de la proporción A β_{1-42} / A β_{1-40} (o aumento en la proporción de A β_{40} /A β_{42}) en el LCR, que es más marcada que la reducción del A β_{42} en el LCR ^{559,562,563}.

Proteína Tau

La proteína Tau tiene varias isoformas y numerosos sitios de fosforilación ^{564,565}. Los ovillos en la EA están formados por una forma de Tau anormalmente hiperfosforilada, por lo que esta hiperfosforilación hace la proteína Tau pierda su capacidad para unirse a los microtúbulos y estimular su ensamblaje ^{566,567}.

- Tau total (t-Tau): Diversos estudios han sugerido que los niveles de Tau total en LCR, reflejan la intensidad de la degeneración y el daño neuronal y axonal en el cerebro, como se han demostrado en estudios cerebrales tras un accidente cerebrovascular ^{568,569}. En pacientes con EA se encuentra un aumento muy marcador de t-Tau ⁵⁷⁰⁻⁵⁷². Además, los niveles elevados de t-Tau en LCR se ha asociado con una rápida progresión de DCL a EA ⁵⁷³, con un rápido deterioro cognitivo y una mayor tasa de mortalidad en pacientes con EA ^{574,575}. Estos niveles de t-Tau se correlaciona con la carga de ovillos

neurofibrilares postmortem, sugiriendo que las neuronas portadoras de ovillos neurofibrilares podrían contribuir al nivel de t-Tau en LCR ⁵⁷⁶.

- Proteína Tau fosforilada (p-Tau): Los niveles de p-Tau parecen reflejar tanto el estado de fosforilación de Tau como la formación de ovillos neurofibrilares en el cerebro ⁵⁵¹. Se han hecho estudios donde se relaciona las medidas de p-Tau en LCR con muestras tomadas en la autopsia cerebral de pacientes con EA (patología de ovillos neurofibrilares y atrofia en el cerebro) ^{492,576,577}. Además, los niveles elevados de p-Tau₁₈₁ se han relacionado con una rápida progresión de DCL a EA ⁵⁷³ y con un rápido deterioro de la cognición en EA ⁵⁷⁴.

3.4.4.3 Biomarcadores en plasma sanguíneo

Debido a que la recogida del LCR se realiza mediante punción lumbar y este es un procedimiento invasivo, investigaciones actuales han añadido biomarcadores medibles en plasma sanguíneo. Estos disminuyen tanto el coste, como el riesgo de efectos secundarios y representan marcadores fisiopatológicos de la patología amiloide y axonal ¹⁰.

Se han encontrado correlaciones entre el LCR, el A β y la Tau del cerebro con el A β y la Tau del plasma sanguíneo en la EA esporádica ^{578,579}. En etapas preclínicas de la EA también se ha informado de una disminución en los niveles plasmáticos de A β ₁₋₄₂, A β ₁₋₄₀ y de la relación A β ₁₋₄₂ / A β ₁₋₄₀. Al igual que ocurre en el LCR, los niveles de Tau en plasma se han encontrado elevados en pacientes con EA ^{580,581}. Aunque la medición en sangre periférica de proteínas y de concentraciones de péptidos que se originan en el cerebro son muy prometedoras, las técnicas de detección deben mejorar su sensibilidad para consolidarse como biomarcadores de diagnóstico de la EA ⁵⁸².

Entre los biomarcadores encontrados en plasma se encuentran: Neurofilamentos de cadena ligera NF-L, neurogranina o YKL-40.

3.4.4.4 Otros biomarcadores

Biomarcadores en saliva

Debido a que los pacientes con EA presentan un declive en las glándulas salivares ^{583,584}, parece probable que la saliva exprese APP y A β , así como que este fluido pueda reflejar los cambios que ocurren en el LCR ^{585,586}. Debido a la novedad de este fluido para el estudio de la enfermedad, aún se pueden observar controversias en los resultados. Mientras que un estudio ha revelado que no existen cambios en el A β ₄₀ entre los pacientes con EA y los controles y que los niveles de A β ₄₂ se mostraron solo elevados en el DCL ⁵⁸⁷; otro estudio demuestra que el A β ₄₀ y A β ₄₂

aumentan a medida que aumenta la gravedad de la enfermedad, llegando incluso a triplicarse los niveles de A β ₄₂ en la saliva. Esta A β ₄₂ se ha asociado más con la EA familiar que la esporádica^{588,589}. Con estos resultados es evidente que se necesitan más estudios y una unificación de las técnicas para poder alcanzar conclusiones.

Biomarcadores en lágrima

En la lágrima de los pacientes con EA, han sido documentados alteraciones en la tasa de flujo lagrimal, en la concentración total de proteínas lagrimales⁵⁹⁰, alteración del nivel de glucoproteína extracelular lacritina, lipocalina-1, lisozima-C y dermicidina⁵⁹¹, así como aumento del microARN-200b-5p⁵⁹².

Biomarcadores en orina

Debido al importante papel que juega el estrés oxidativo en la EA y la facilidad para obtener muestras de orina, se ha considerado este fluido de gran interés para estudiar las moléculas guía del daño cerebral oxidativo y poder detectar los primeros signos de la enfermedad¹⁰. Elevados niveles de metabolitos relacionados con estos procesos oxidativos se han encontrados en pacientes con EA⁵⁹³, relacionándose también con la progresión de la patología desde DCL hasta EA^{594,595}. Proteínas relacionadas con la EA también han sido encontradas en la orina como biomarcadores de la enfermedad en fases tempranas como son la AD7c-NTP^{596,597} y niveles disminuidos de osteopontina y aumentados de gelsolina, proteína de unión al factor de crecimiento, y albumina en pacientes con la enfermedad bien establecida⁵⁹⁸⁻⁶⁰¹.

3.5 El ojo como parte del sistema nervioso central

La retina y el nervio óptico tienen un origen embriológico común, siendo ambos una proyección del diencefalo, y por tanto, formando parte del SNC⁶⁰². Como tal, la retina es similar al cerebro y a la médula espinal en cuanto a anatomía, funcionalidad, respuesta a las lesiones e inmunología. Además, los mecanismos celulares y moleculares que explican la neurodegeneración también parecen comunes⁶⁰³. Por lo que, la retina y el nervio óptico, con las áreas cerebrales que de forma directa o indirecta reciben sus inputs (amígdala, hipocampo y otros núcleos hipotalámicos) constituyen las “conexiones ojo-cerebro”⁶⁰⁴.

La retina es un tejido sensible a la luz y responsable de los primeros pasos del procesamiento visual. Este tejido está compuesto por múltiples capas, las cuales contienen neuronas con diferentes morfologías y funciones específicas e interconectadas entre sí mediante sinapsis. Los fotorreceptores (conos y bastones) junto con las células melanopsínicas de la retina son las células fotosensibles de la retina. Los conos y bastones son una de las células más especializadas

y complejas del sistema nervioso, se sitúan en la capa nuclear externa de la retina y son los responsables de la conversión de la energía luminosa en señales eléctricas mediante la fototransducción. Este proceso tiene lugar en el segmento externo de los mismos, siendo el impulso eléctrico resultante transmitido a las células bipolares y horizontales. En la capa plexiforme externa se establecen los contactos sinápticos entre las terminaciones axonales de los conos (pedículos) y los bastones (esférulas) con las dendritas de las células bipolares. En la capa nuclear interna, se encuentran las células amacrinas que junto a las células bipolares forman una compleja red de conexiones sinápticas en la capa plexiforme interna. La información eléctrica es transmitida por último a las células ganglionares de la retina (CGR), las cuales envían impulsos a través de sus prolongaciones axonales que constituyen el nervio óptico, el cual conecta retina y cerebro ⁶⁰⁵.

Cuando el nervio óptico sale del globo ocular, se mieliniza con la mielina producida por los oligodendrocitos ⁶⁰⁶. Cualquier agresión al nervio óptico puede desencadenar una degeneración anterógrada y retrograda de los axones, destrucción de la mielina y la formación de cicatrices. Además, se crea un entorno neurotóxico que implica estrés oxidativo, disminución de los factores neurotróficos, aumento de los niveles excitotóxicos de neurotransmisores y una agregación anormal de proteínas y materiales de desecho. Debido a este entorno hostil, las neuronas vecinas que no sufrieron el daño inicial pueden morir, fenómeno conocido como degeneración secundaria ⁶⁰⁷⁻⁶¹⁰. En el ojo, al igual que ocurre en el cerebro la regeneración axonal es limitada, compartiendo ambos factores para la creación de un entorno que no permite el crecimiento axonal como son los restos de mielina, astrocitos reactivos, proteoglicanos de condroitín sulfato, así como la falta de promotores de crecimiento ⁶¹¹⁻⁶¹⁴. Por tanto, la degeneración y la inflamación inmunomediada pueden inducir daños irreversibles a las neuronas, alteraciones atróficas como las presentes en las enfermedades neurodegenerativas, propias del SNC o la ceguera ⁶¹⁵.

El privilegio inmunológico es la acepción en la que determinadas respuestas inmunitarias se suprimen o excluyen en determinados órganos, estando en el cuerpo humano bien desarrollado en tres regiones: el cerebro, el útero y el ojo ⁶¹⁶. El ojo y el sistema inmunológico utilizan varias estrategias diferentes pero relacionadas que previenen o alteran las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas en los ojos: ignorancia inmunológica, tolerancia periférica de antígenos derivados del ojo y el desarrollo de un microambiente inmunosupresor intraocular ⁶¹⁷. El inmunoprivilegio del ojo limita la inflamación preservando la integridad del eje visual ⁶¹⁸ y otra de las características de este, es que ciertos tejidos que componen el ojo como el endotelio

corneal y la retina neurosensorial son incapaces de replicarse y no pueden regenerarse después de una lesión o tras una inflamación destructiva ^{617,619}.

Mientras que el SNC cuenta con la barrera hematoencefálica (BHE), en el ojo existen dos tipos de barreras hemato-tisulares: la barrera hemato-retiniana (BHR) y la barrera hemato-nervio óptico (BHNO) ⁶²⁰.

La BHR está constituida por uniones estrechas de las células endoteliales de los capilares retinianos ⁶²¹. Estas células forman una capa continua y se sitúan sobre una membrana basal, la cual está cubierta por astrocitos y los procesos celulares de la glía de Müller, sellando los capilares retinianos. En muchas áreas la membrana basal se despliega alrededor de los pericitos, los cuales, al no formar una capa continua, no contribuyen físicamente a la barrera de difusión. Los astrocitos, pericitos y glía de Müller pueden influenciar en la actividad de las células endoteliales de la retina y en las propiedades de barrera, enviando señales reguladoras (como las citoquinas) que indican cambios en el microambiente neuronal ^{619,620,622,623}.

En el nervio óptico, los capilares tienen propiedades de barrera debido a la presencia de uniones celulares interendoteliales y además los vasos piales y el tejido intermedio de Kuhnt, el cual se encuentra entre las capas externas de la retina y la región prelaminar de la cabeza del nervio óptico y que también contiene astrocitos, forma la barrera hemato-tisular ⁶²⁰. En el tejido de Kuhnt la barrera está formada por las uniones estrechas entre los astrocitos de este tejido y el EPR y los desmosomas entre los astrocitos y la membrana limitante externa ⁶²⁴. Sin embargo, el tejido localizado entre la coroides y la cabeza del NO y que se denomina tejido de Jacoby, presenta defectos en la barrera permitiendo la filtración de materiales a través de ellos ⁶²⁴. Otro sitio donde la BHNO no es absolutamente perfecta es en la región prelaminar, donde los microvasos carecen de las barreras clásicas del tejido sanguíneo y muestran una permeabilidad inespecífica, posiblemente mediada por el transporte vesicular ⁶²⁵. La ausencia de BHNO en esta región haría que se perdieran las propiedades atribuidas a las barreras en los vasos sanguíneos del NO, lo que podría desempeñar un papel en el desarrollo de neuropatías ópticas no inflamatorias ⁶⁰⁶.

Debido a estas características anatómo-fisiológicas comunes y la existencia de alteraciones oculares, que en ocasiones preceden a los síntomas centrales en diversas patologías neurodegenerativas del SNC, hacen al ojo un modelo viable para el estudio del SNC, tanto en la salud como en la enfermedad. Además los avances en técnicas como la OCT, permiten conocer

si los cambios retinianos pueden reflejar las características patológicas cerebrales en las etapas más tempranas de la enfermedad ^{626,627}.

3.5.1 La retina

La retina está formada por el EPR y la retina neurosensorial que es una estructura multicapa que contiene neuronas y células de apoyo. Este tejido se organiza en 10 capas distintas siendo la más externas el EPR que se encuentra junto a la membrana de Bruch y la coroides, hasta la membrana limitante interna, que se encuentra en contacto con el humor vítreo (Figura 13). Estas 10 capas son:

1. Epitelio pigmentario de la retina (EPR): adyacente a la membrana de Bruch de la coroides y la capa de los fotorreceptores de la retina. Esta capa contiene células epiteliales con alta cantidad de melanina. Además, constituye la BHR externa.
2. Capa de fotorreceptores: donde se localizan los segmentos externos de los conos y los bastones.
3. Membrana limitante externa (MLE): contiene las conexiones entre las células de Müller a nivel de los segmentos internos de los fotorreceptores.
4. Capa nuclear externa (CNE): contiene los cuerpos celulares de los conos y bastones.
5. Capa plexiforme externa (CPE): en ella se encuentran las sinapsis entre los pedículos de los conos y las esférulas de los bastones con varios tipos de células bipolares, horizontales y las células interplexiformes.
6. Capa nuclear interna (CNI): compuesta por los cuerpos celulares de las células horizontales, bipolares y amacrinas.
7. Capa plexiforme interna (CPI): contiene los axones de las células bipolares que hacen sinapsis con las dendritas de diversas células ganglionares. En esta capa las bipolares también conectan con diferentes variedades de células amacrinas funcionalmente especializadas.
8. Capa de células ganglionares (CCG): está formada por las células ganglionares y las células amacrinas desplazadas.
9. Capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR): Contiene los axones no mielinizados de las CGR.

10. Membrana limitante interna (MLI): se encuentra adyacente al vítreo y es la capa más interna de la retina. Constituida por los pies terminales de las células de Müller cubiertos por una membrana basal. Contribuye a la secreción del humor vítreo.

La información recogida en el ojo se tramite al cerebro a través de los axones de las células ganglionares que recorren el nervio óptico y sinaptan con las neuronas del núcleo geniculado lateral (NGL) y múltiples áreas subcorticales de transmisión visual ⁶²⁸.

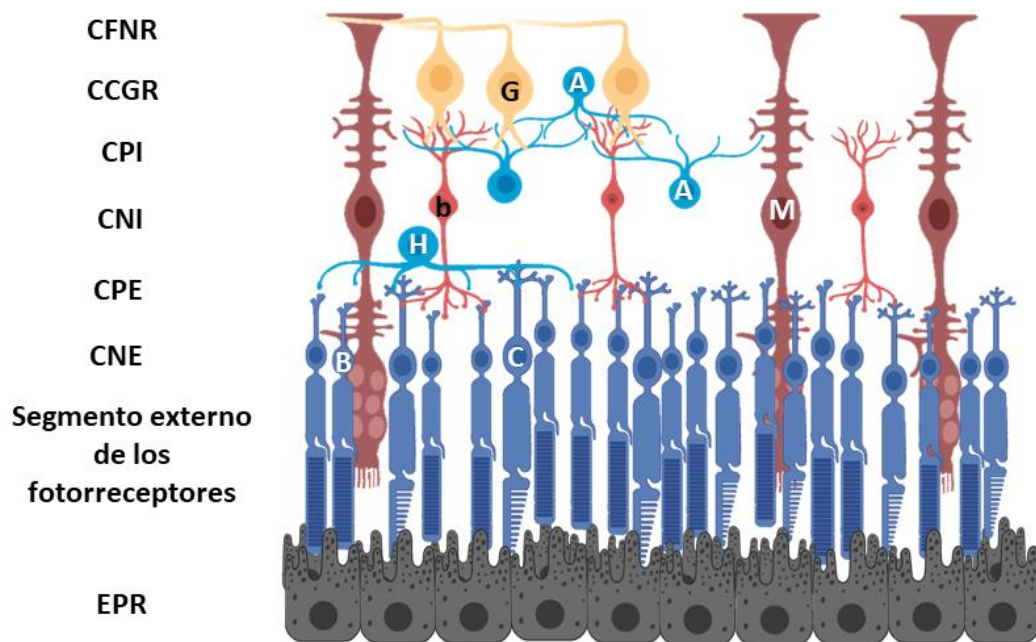


Figura 13. Esquema de las diferentes capas de la retina con los distintos tipos de celulares presentes. EPR, epitelio pigmentario de la retina; CNE, capa nuclear externa, donde se sitúa el cuerpo externo de los fotorreceptores, (B) bastón, (C) cono; CPE, capa plexiforme externa, capa donde se encuentran las sinapsis entre los fotorreceptores y diferentes células como bipolares (b), horizontales (H) y amacrinas (A); CNI, capa nuclear interna, donde se encuentran los somas de las células (b), H,A; CPI, capa plexiforme interna, capa que contiene los axones de las células bipolares que sinaptan con las células ganglionares (G); CCGR, capa de células ganglionares de la retina, que contiene el cuerpo celular de dichas neuronas (G); CFNR, capa de fibras nerviosas de la retina, con los axones no mielinizados de las CGR.

3.5.2 La vía visual

La vía visual realiza funciones de recepción, transmisión y en última instancia, procesamiento de la información. Está compuesta por diferentes estructuras, incluyendo la retina, el nervio óptico, el quiasma, los tractos, el NGL, las radiaciones, la corteza estriada y la corteza cerebral de asociación ⁶²⁹.

El comienzo de la vía visual está compuesta por 4 elementos neuronales principales: Los fotorreceptores (conos y bastones), las células bipolares y las células ganglionares que se encuentran en la retina neurosensorial. En la retina se encuentran también las células horizontales y amacrinas que son las responsables del procesamiento de la información visual basado en la modulación de la actividad de las células bipolares y de las CGR ⁶³⁰. Los axones de las CGR forman el nervio óptico, que se decusa formando el quiasma y posteriormente el tracto óptico. El cuarto elemento neuronal se encuentra en el NGL y sus axones forman las radiaciones ópticas que terminan en la corteza visual primaria V1 ⁶³⁰ (Figura 14).

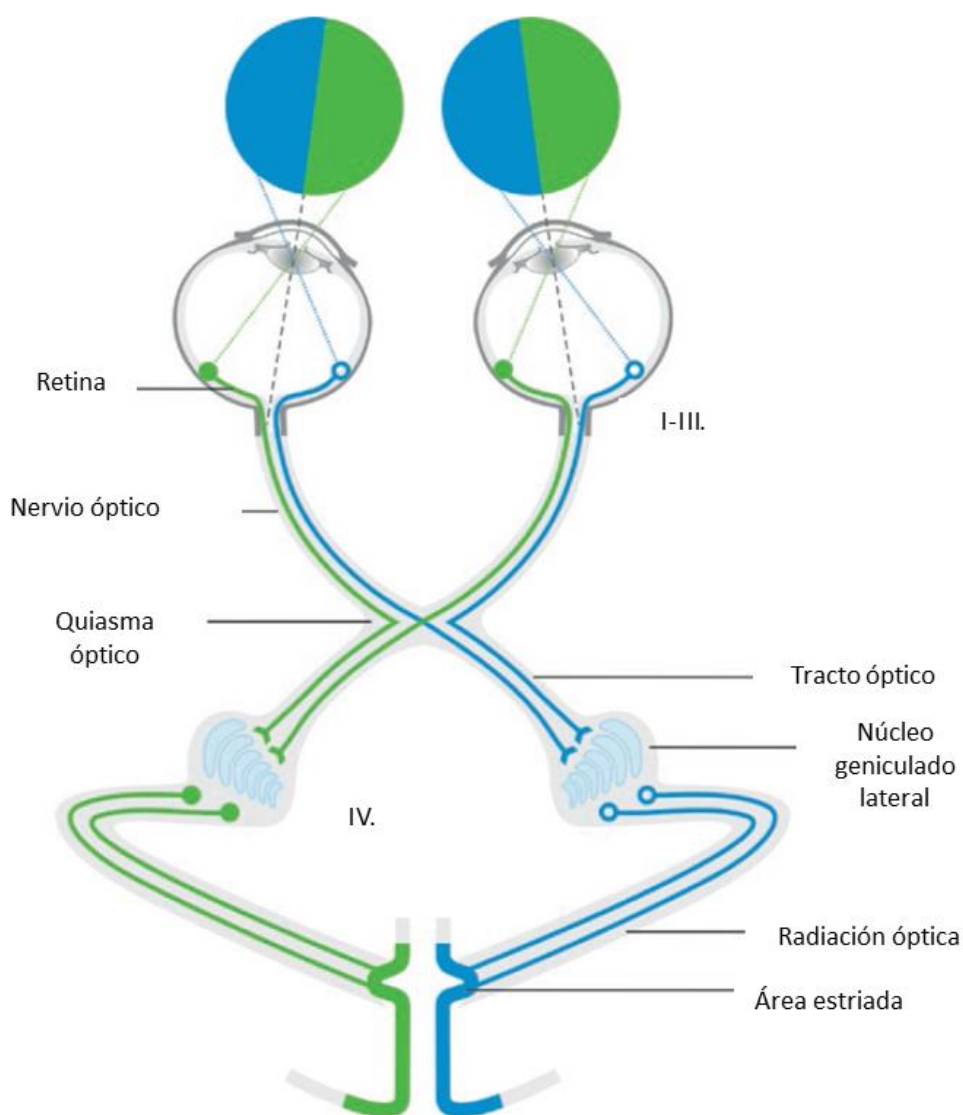


Figura 14. Esquema de la vía visual y su composición neuronal. Modificada de Joukal et al. 2017 ⁶³⁰.

3.5.2.1 La primera neurona: los fotorreceptores

Los fotorreceptores, conos y bastones, representan la primera neurona del sistema visual. En la retina existen 130 millones de bastones, que reaccionan ante cantidades de luz muy pequeñas y son los responsables de la visión escotópica.

En la fovea central existen 7 millones de conos, que son los responsables de la visión fotópica y de la percepción de la forma y el color. Hay 3 tipos de conos que absorben luz de diferentes longitudes de onda: conos S cuya máxima sensibilidad la tienen en la parte azul del espectro (longitud de onda máxima de 420 nm), los conos M, que tienen su mayor sensibilidad en la luz verde (longitud de onda máxima de 530 nm) y el tercero, los conos L, cuya sensibilidad máxima la tiene en la parte roja del espectro (longitud de onda máxima de 560 nm). Cada fotopigmento es blanqueado no sólo por la luz con las longitudes de onda a las que tiene su sensibilidad máxima, sino también por la luz más fuerte con longitudes de onda más cortas y más largas; por lo tanto, un solo tipo de cono no puede informar sobre el color^{630,631}.

3.5.2.2 La segunda neurona: células bipolares

Las células bipolares son las neuronas de segundo orden en la vía visual. Sus dendritas hacen sinapsis con los fotorreceptores y células horizontales, y su axón hace sinapsis con células ganglionares y amacrinas. Las células bipolares transmiten información de los fotorreceptores a las células horizontales, amacrinas y ganglionares, a través de sinapsis glutamatérgicas directas y excitatoria o conexiones GABAérgicas inhibitoras indirectas⁶³², recibiendo una amplia retroalimentación sináptica de las células amacrinas⁶³³. Además, las dendritas de las células bipolares tienen contacto con procesos neuronales interplexiformes⁶³⁴. Según su morfología, fisiología y contactos dendríticos con los fotorreceptores, se han clasificado 11 tipos de células bipolares, que exceptuando las células bipolares de bastón, todas están asociadas con conos⁶³⁵.

3.5.2.3 La tercera neurona: células ganglionares de la retina

La neurona de tercer orden de la vía visual, son las CGR. Estas pueden ser de tipo bipolar, cuando solo poseen un solo axón y una sola dendrita, o multipolares, que poseen un solo axón, pero varias dendritas⁶³⁵.

Las CGR reciben entradas tanto excitadoras como inhibitoras de las células amacrinas y células bipolares. Las CGR y las células amacrinas forman una subunidad funcional, el campo receptor de centros on-off que permiten que el cerebro interprete un pequeño punto que se mueve a distancia^{636,637}. Los inputs “on “ y “off” de una célula ganglionar están dispuestos para formar un campo receptivo antagónico centro-periferia^{637,638}. El potencial de acción de una ganglionar

de centro-on se alcanza cuando el estímulo luminoso se encuentra en el centro del campo receptivo y la oscuridad se encuentra circundante. Por el contrario, la frecuencia de disparo de las células ganglionares de centro-off es mayor cuando el estímulo luminoso se encuentra en el campo receptivo periférico, pero no en su centro. Así con una iluminación uniforme en todo el campo receptivo de las células ganglionares, la suma de las respuestas del centro y de la periferia se anula esencialmente. Sin embargo, cuando se produce una iluminación diferencial (por ejemplo, un borde de luz) dentro del campo receptivo, el desequilibrio entre las entradas del centro y de la periferia permiten a la célula señalar el cambio local de la intensidad de la luz ⁶³⁷. (Figura 15).

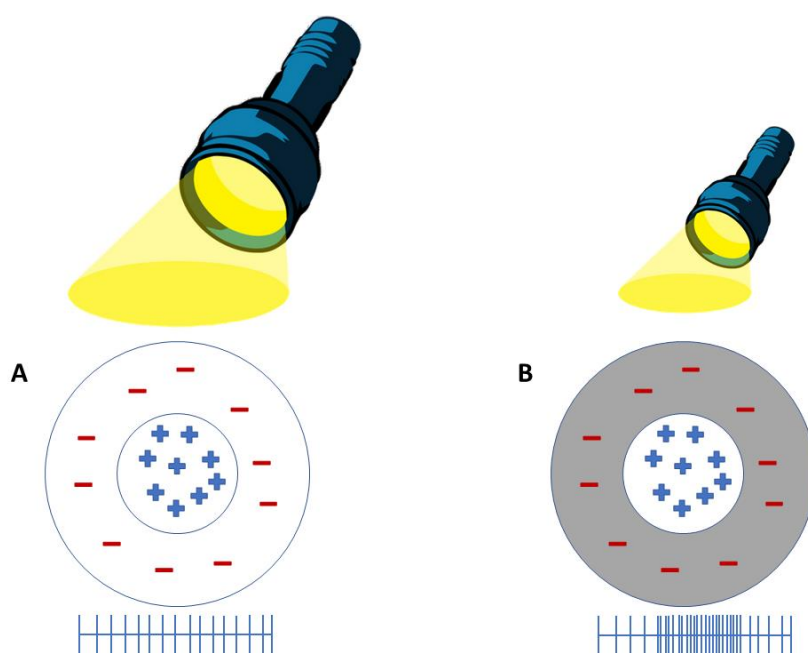


Figura 15. Campos receptores de las células ganglionares. El blanco representa la estimulación luminosa y el gris representa la oscuridad. (A) Campo receptor centro-on periferia-off. Con un estímulo de luz difusa, las entradas del centro-on y periferia-off se cancelan entre sí. (B) En un campo de centro-on periferia-off un haz de luz estrecho en el centro provoca la respuesta máxima del campo receptor.

Los diferentes métodos de clasificación de las CGR hacen que la clasificación sea bastante confusa. Una de las clasificaciones más utilizadas es la que las divide en células ganglionares enanas, células ganglionares parasol y células ganglionares biestratificadas, proyectándose en las vías Parvocelular (vía P), Magnocelular (vía M) y Koniocelular (vía K) respectivamente ⁶³⁹.

- Las células ganglionares enanas se caracterizan por estar concentradas en la fóvea. Poseen un árbol dendrítico pequeño y reciben las señales transmitidas por una célula bipolar que ha recibido los inputs de un solo cono. Estas células ganglionares tienen campos receptivos oponentes a los del cono, lo que permite la selectividad espectral a lo largo de los ejes rojo-verde o azul-amarillo. Además, estas células ganglionares se

caracterizan por un campo receptivo extremadamente pequeño, especializado en alta agudeza espacial, visión del color y estereopsis fina. La información de estas células es proyectada a la vía P, la cual transporta información del color y de la forma ⁶⁴⁰.

- Las células ganglionares parasol, se concentran principalmente en la periferia. Reciben información de varias células bipolares que han recibido los inputs de varios conos. Poseen un campo receptivo más grande y una resolución espacial más baja que las células enanas debido a su amplia arborización dendrítica. Su organización espacialmente oponente, las permite detectar los bordes, pero no son capaces de distinguir colores. La información de estas células es proyectada a la vía M, la cual lleva información sobre la luminancia y el movimiento ⁶⁴¹.
- Las células ganglionares biestratificadas pequeñas, son las más desconocidas debido a su complejidad para estudiarlas de forma aislada ⁶²⁹. Sus campos receptivos forman mosaicos ordenados, con superposición y regularidad similares a las de las células parasol-on. Por lo tanto, a pesar de su morfología distintiva y propiedades cromáticas, estas células exhiben: antagonismo entre centro y periferia y muestreo regular en mosaico del espacio visual ⁶⁴². La información de estas células es proyectada a la vía Koniocelular transportando información del color oponente azul-on/amarillo-off ⁶³⁹. Se puede observar un cuadro resumen de las características de las vías P, M y K en la Tabla 1.




Vía	Fuente de la retina	Tamaño del campo receptor	Fuente/tipo de información	Proyección en el CGL	Proyección en V1	Ilustración de la célula ganglionar
Vía P	Células enanas	Pequeño	Color y forma	Capas magnocelulares (1y 2)	4C β	
Vía M	Células parasol	Grande	Luminancia y movimiento	Capas parvocelulares (3-6)	4C α	
Vía K	Células biestratificadas	Grande	Color oponente azul-on/amarillo-off	Entre cada capa parvocelular y magnocelular	Capas 2-3, blobs CO	

Tabla 1. Características de los tipos de células ganglionares en las vías P, M y K. P, parvocelular; M, magnocelular; K, koniocelular; NGL, núcleo geniculado lateral; CO, citocromo oxidasa. Modificada de Prasad et al., 2011 ⁶²⁹.

Además de los bastones y los conos, existe un tercer tipo de célula fotosensible en la retina: las células ganglionares intrínsecamente fotosensibles (CGRif). Estas células, que contienen melanopsina, representan entre el 0,3% y el 0,8% del total de las células ganglionares de la retina⁶⁴³. A pesar de su pequeña proporción, tienen funciones muy diversas como el mantenimiento del sistema circadiano, el reflejo pupilar a la luz,⁶⁴⁴ y estas células dan lugar al tracto retinohipotalámico y transmiten el nivel general de iluminación ambiental al núcleo supraquiasmático del hipotálamo donde se localiza el centro regulador del ritmo circadiano. También están conectadas con el área pretectal del cerebro medio y están implicados en la respuesta lumínica de la pupila⁶⁴⁵⁻⁶⁴⁷.

Los axones de las CGR viajan en la CFNR, forman el nervio óptico y se decusan formando el quiasma. Esta decusación sirve para reunir la información de las mitades de cada retina que ven el mismo hemicampo del campo visual, por lo que los axones de las CGR nasales se cruzan y se unen a los axones de las CGR temporales del ojo contralateral⁶⁴⁸. La porción principal de todos los axones, un 90% forma la raíz lateral del tracto óptico que continua hasta el NGL⁶²⁹. El 10% restante de los axones constituyen la raíz medial del tracto óptico, terminando en el tectum del mesencéfalo, en concreto en el colículo superior y los núcleos pretectales. Estas fibras son importantes para los reflejos ópticos, como el reflejo pupilar o el reflejo vestíbulo-ocular. Además, algunas fibras del tracto óptico terminan en el hipotálamo (tracto retino-hipotalámico) contribuyendo a la regulación de los ritmos circadianos^{649,650}.

3.5.2.4 La cuarta neurona: el núcleo geniculado lateral

El NGL forma parte del rombencéfalo y contiene los cuerpos de la cuarta neurona de la vía óptica. Está compuesto por seis capas celulares (1-6 en dirección ventrodorsal) separadas por axones y dendritas. Las dos capas anteriores están formadas por cuerpos de neuronas de gran tamaño, por lo que se denominan capas magnocelulares. Las cuatro capas posteriores están formadas por células pequeñas y se denominan capas parvocelulares. Las células ganglionares parasol de la retina envían sus axones a las capas magnocelulares del núcleo geniculado lateral, mientras que las células ganglionares enanas envían sus axones a las capas parvocelulares. Tres capas reciben los axones cruzados mientras que las otras tres capas reciben los axones no cruzados. Los cuerpos de las neuronas de las capas 2, 3 y 5 reciben la información de la hemirretina temporal ipsilateral, mientras que las capas 1, 4 y 6 reciben la información de la hemirretina nasal contralateral^{630,651,652}. Además, entre cada una de las 6 capas principales de forma intercalada e intralaminar se encuentran las llamadas células koniocelulares^{653,654}. Esta estructura realiza un control dinámico sobre la cantidad y la naturaleza de la información que se

transmite a la corteza visual⁶⁵⁵, ya que las aferencias retinianas solo constituyen entre el 5-10% de las sinapsis, y reciben amplias conexiones moduladoras del núcleo reticular talámico y de la capa 6 de la corteza visual^{629,656}.

Las neuronas del NGL envían sus axones a la corteza calcarina en el lóbulo occipital. Estos axones forman las radiaciones ópticas, las cuales se agrupan en dos grandes haces: las radiaciones temporales, las cuales siguen curso anterior a través del lóbulo temporal, denominado bucle o asa de Meyer, y luego atraviesa el lóbulo temporal para terminar en la corteza visual primaria por debajo de la fisura calcarina en la superficie medial del lóbulo occipital y las radiaciones parietales⁶⁵⁷⁻⁶⁶⁰.

3.5.2.5 La corteza visual primaria

La corteza visual primaria, área estriada o también conocida como V1 o área visual, se localiza junto al surco calcarino en la parte medial del lóbulo occipital. Está constituida por 6 capas de neuronas (I-VI) como parte del neocórtex y forma el área 17 de Brodmann. Los axones provenientes del NGL entran en la capa 4, pero con una segregación anatómica y funcional⁶³⁰. Las neuronas de las capas magnocelulares (vía M) hacen sinapsis en la capa cortical 4C α , mientras que las de las parvocelular (vía P) sinaptan en la capa 4C β . Además, tanto las neuronas de la vía M como las de la vía P envían entradas colaterales a la capa 6, que a su vez envía proyecciones recíprocas de vuelta al tálamo. Las neuronas de la vía K envían proyecciones directamente a las "manchas de CO" en la capa 3 y la capa 1 de la corteza visual, en lugar de a las capas 4 o 6⁶²⁹. Las células del área estriada con similar selectividad de orientación están organizadas en columnas perpendiculares a la superficie de la corteza, conocidas como columnas de dominancia ocular, por lo que esta área estriada puede dividirse en tres sistemas básicos responsables de procesar modalidades particulares de la visión^{661,662}. Estos sistemas son:

- El primer sistema constituido por 3 columnas corticales específicas para la percepción del ojo derecho y del ojo izquierdo, siendo esta organización importante para la visión binocular y necesaria para la percepción de la profundidad.
- El segundo sistema está compuesto por células que reciben información de posiciones retinianas idénticas y tiene los mismos ejes de orientación, proporcionando la percepción del movimiento
- El tercer sistema está organizado en columnas que forman spots irregulares en las secciones transversales llamadas "blobs". Estas son responsables de la percepción del

color. Entre el área de Blobs hay neuronas localizadas y conocidas como “interblobs”, que son específicas para la percepción de la forma.

La información procesada en el área visual primaria se envía a los centros corticales asociados llamados áreas visuales extraestriadas, donde tiene lugar el procesamiento final de la información.

3.5.2.6 Corteza visual extraestriada

La corteza visual extraestriada, también conocida como V2-V5, está compuesta por las áreas de Brodman 18-19 con varias subdivisiones⁶⁶³. La información procedente de V1 llega a las áreas extraestriadas a través de dos vías, la vía ventral y la vía dorsal (Figura 16).

- La vía ventral, conocida como vía del “qué”. Comienza en la capa 4C β del área V1, la cual envía proyecciones a las regiones delgada e interestriadas. La región delgada se encarga principalmente de la información del color, mientras que las regiones interestriadas representan la forma^{664,665}. Estas regiones se proyectan posteriormente al área V4⁶⁶⁶, que en última instancia se proyecta a la corteza infero-temporal. Aquí, las neuronas especializadas están implicadas en el procesamiento visual de los objetos.
- La vía dorsal, conocida como vía del “dónde”. Comienza en los componentes sensibles al movimiento de la capa 4C α del área V1. Desde aquí, se envían proyecciones a las franjas gruesas de las áreas V2 y V3^{664,665}. Posteriormente, estas áreas envían conexiones al área V5, y finalmente estos inputs llegan al complejo temporal superomedial que participa en el análisis de movimiento de orden superior^{667,668}.

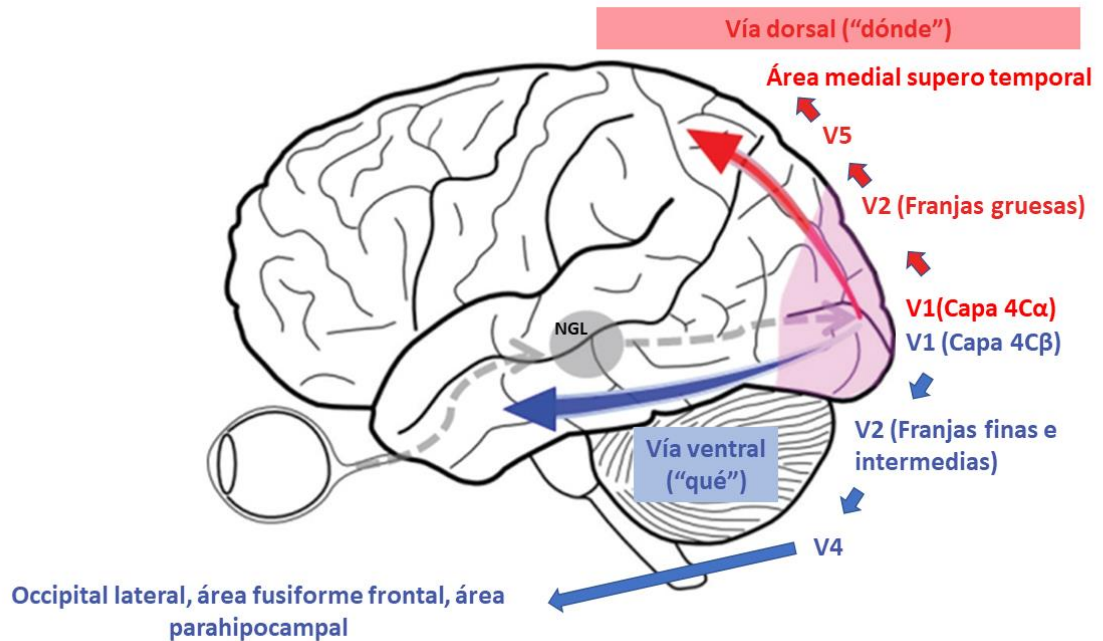


Figura 16. Esquema de las vías de procesamiento visual dorsal y ventral Modificada de Kafaligonul et Al.2014 ⁶⁶⁹1

Por último, el envío de la información visual hasta áreas corticales distantes para que se lleve a cabo un procesamiento de nivel superior, hace que la información visual interactúe con otros procesos visuales. Así, los inputs a la corteza entorrinal (a través de las áreas perirrinial y parahipocampal) median en la formación de los recuerdos a largo plazo de los objetos visuales, las entradas a la corteza prefrontal son fundamentales para la memoria de trabajo visual, y las entradas de información directas en la amígdala sirven para atribuir valor emocional a un estímulo visual. Hay que destacar que los mecanismos relacionados con la atención interactúan con el procesamiento visual en todas las etapas ⁶⁷⁰⁻⁶⁷².

Los déficits de la percepción visual se han encontrado entre un 20% y un 40% de los pacientes con EA ⁶⁷³. Además, las alteraciones visuoespaciales han sido encontradas en sujetos incluso 5 años antes del diagnóstico de la EA ^{674,675} y en fases preclínicas y en etapas tempranas de la enfermedad también se han detectado signos de agnosia visual perceptiva ^{676,677}. Por lo que no es de extrañar que el análisis de la función visual en sus diferentes niveles se haya propuesto como un marcador clínico que podría ayudar en el diagnóstico de la enfermedad, incluso en etapas preclínicas de la misma ⁶⁷⁴.

3.5.3 Análisis de la retina

3.5.3.1 Pruebas funcionales

3.5.3.1.1 Análisis de la agudeza visual (AV)

La agudeza visual (AV) es la capacidad que tiene nuestro sistema visual de discriminar dos estímulos próximos entre sí y separados por un ángulo determinado ⁶⁷⁸. La menor separación de los elementos para la identificación de un objeto se conoce como mínimo ángulo de resolución (MAR) y el valor de la AV será la inversa de este MAR ⁶⁷⁹.

3.5.3.1.2 Análisis de la sensibilidad al contraste

La sensibilidad al contraste (SC) es la capacidad que tiene nuestro sistema visual para diferenciar un objeto del fondo en el que se encuentra ⁶⁸⁰. Esta medida determina el nivel de contraste más bajo detectada por un individuo para una medida determinada de estímulo. Esta puede ser medida con objetos de rejillas sinusoidales de varias frecuencias espaciales ⁶⁸¹.

Las propiedades más interesantes de esta función no se deben atribuir a la óptica del ojo, sino que deben entenderse en términos de las actividades de procesamiento de imagen, existiendo evidencia que la función de SC está mediada por las características espacio-temporales de las neuronas magnocelulares, las cuales se examinan mediante frecuencias espaciales bajas y temporales altas y las neuronas parvocelulares que se examinan con frecuencias espaciales altas y temporales bajas ^{682,683}.

Los test empleados para valorar la sensibilidad al contraste hacen posible la evaluación de diferentes frecuencias espaciales de los pacientes, detectar patologías en fases tempranas y poder hacer un seguimiento de las mismas ⁶⁸⁴.

La sensibilidad al contraste se define simplemente como el inverso del valor del contraste. Cuanto menor sea el contraste que se pueda detectar para cualquier rejilla, mayor será la sensibilidad al contraste. La frecuencia espacial de la rejilla se especifica como ciclos por grado (o cpg) ⁶⁸⁵. La función de sensibilidad al contraste tiene una SC máxima alrededor de la región pico de 3 a 6 cpg, por lo que las personas son más sensibles visualmente para ver objetos e información contenida alrededor de ese rango de frecuencias espaciales.

La importancia clínica de la sensibilidad al contraste puede ayudar a la detectar enfermedades oculares en fases tempranas, determinar cuándo un paciente necesita tratamiento y juzgar la eficacia de tratamientos farmacológicos ⁶⁸⁶.

3.5.3.1.3 Análisis de la percepción del color

La visión del color es una interpretación creada por las interacciones de las neuronas de nuestro cerebro que está íntimamente ligada a la percepción de la forma ya que el color facilita la detección de los bordes de los objetos ^{687,688}. La percepción del color implica un flujo de procesamiento que incluye conos que contiene opsina en la retina, respuestas del color opoente en las células ganglionares de la retina, cálculos del contraste del color en la corteza estriada y una red de áreas temporales que subyacen a la aparición de una percepción del color estable ⁶⁸⁹.

Los test empleados para el análisis de la percepción del color se empezaron a desarrollar en 1917 cuando el doctor Shinobu Ishihara desarrolló sus famosas láminas pseudoisocromáticas ⁶⁹⁰. Este test junto con el test de Farnsworth-Munsell, cuya última versión de 85 piezas fue creado en el 1957 ⁶⁹¹, son los test empleados con mayor frecuencia ⁶⁹².

Los test de ordenación basan su principio en ordenar un conjunto de fichas siguiendo un patrón cromático mostrando generalmente la primera y la última fila. Entre los test más empleados se encuentran las diferentes versiones del Test de Farnsworth-Munsell. Estos test son capaces de analizar los tres ejes, por lo que adquieren un importante papel en el seguimiento de las deficiencias adquiridas en la visión del color ⁶⁹³. Este test requiere un mínimo de destreza manual y comprensión, pero es una herramienta útil para determinar la presencia o no de discromatopsia.

3.5.3.1.4 Análisis de la integración visual

La integración visual, también conocida como “organización perceptual” es el proceso mediante el cual los fragmentos de información que están presentes en la imagen retiniana se estructuran en unidades más grandes de los objetos percibidos y su interrelación. Este proceso es un nivel superior al registro del color, orientación, movimiento y profundidad ^{694,695}. Según la teoría de Gestalt, la agrupación perceptiva de características visuales esta guiada por reglas simples como el cierre de proximidad, la similitud, la simetría, el destino común y la buena orientación ⁶⁹⁶, estando además fuertemente influenciadas por el contexto visual circundante ⁶⁹⁷.

La integración visual ha sido ampliamente estudiada utilizando un paradigma de integración de contorno, siendo dos mecanismos biológicos especialmente importantes para esta integración ^{698,699}. El primero son las conexiones horizontales de largo alcance entre detectores de frecuencia espacial sintonizados por orientación en V1 y en V2 (especialmente importantes para integrar elementos dentro de los 2º del ángulo visual) ^{700,701} y el segundo es la

retroalimentación reentrante de V2 o áreas visuales superiores (lo más importante para agrupar elementos espaciados más distantes) (Kinoshita, Gilbert, and Das 2009; Li, Piëch, and Gilbert 2008; Zhang and Von Der Heydt 2010).

La integración visual permite desarrollar lo que conocemos como habilidades visoperceptivas, que son aquellas que nos permite reconocer y discriminar los estímulos visuales, permitiéndonos realizar actividades de reconocimiento, recuerdo y manipulación de la información visual.

3.5.3.1.5 Análisis del campo visual

El campo visual se puede definir como el espacio en el que el sistema visual puede detectar la presencia de estímulos.

El estudio funcional del campo visual permite detectar alteraciones perimétricas producidas por la pérdida de los elementos neurorretinianos que se asocian a pérdidas funcionales que pueden ser evaluadas y cuantificadas.

Dentro de las posibilidades de evaluación del campo visual disponemos de diversos instrumentos para su análisis, siendo uno de los más empleados el perímetro Humphrey Field Analyzer (HFA). Este perímetro computerizado, cuenta con varias estrategias de análisis, las cuales vienen definidas por las localizaciones analizadas y el algoritmo de búsqueda del nivel de sensibilidad de cada punto. Otro de los parámetros definitorios es el área de análisis del campo visual, siendo comunes las estrategias que estudian los 24 o 30 grados centrales.

Las estrategias 24-2 y 30-2 de umbral completo determinan el valor mínimo de sensibilidad visual en cada punto explorado, pero estas consumen un tiempo excesivo de exploración y favorecen los artefactos generados por la fatiga, por lo que se han desarrollado las estrategias SITA (Swedish Interactive Threshold Algorithm) las cuales son mucho más rápidas que las de umbral completo, y reducen el tiempo de exploración a la mitad (4 a 8 minutos por ojo de paciente). Otra estrategia como es la SITA-Fast, disminuye el tiempo de exploración de SITA-Standard a 2-6 minutos por ojo, siendo muy útil en exploraciones de despistaje o en pacientes con dificultades para mantener la concentración en exploraciones de mayor duración.

En el campímetro Humphrey el análisis del campo visual se realiza mediante el programa STATPAC que permite analizar si los niveles de sensibilidad encontrados en cada punto del

campo visual entran dentro del rango de normalidad al compararlos con unos valores de referencia establecidos por una base de datos de normalidad ajustada por edad ⁷⁰⁴.

3.5.3.2 Pruebas estructurales

3.5.3.2.1 Retinografía

Esta prueba consiste en una fotografía digitalizada y magnificada, realizada con un microscopio adaptado con una cámara con flash, y que nos permite la observación del polo posterior del ojo a color. Esta prueba, no necesita preparación previa, además de ser una prueba rápida e indolora, tan solo se precisa la dilatación pupilar de los pacientes para poder observar más extensión de retina. Además, la evolución de esta nueva tecnología y el desarrollo de retinógrafos de campo ultra amplio han permitido realizar imágenes panorámicas que permiten la visualización del 200% de la retina, permitiendo el análisis de la retina periférica.

3.5.3.2.2 Tomografía de coherencia óptica (OCT)

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es una técnica de imagen confiable y no invasiva comúnmente utilizada en las prácticas de oftalmología que permite la visualización y cuantificación del grosor y volumen de las diferentes capas retinianas, tanto de forma individual como en su conjunto. Esta técnica permite la observación de las características anatómicas de los cambios patológicos en la retina, el nervio óptico y el grosor coroideo ⁷⁰⁵.

La OCT genera imágenes a partir de patrones de interferometría de luz infrarroja cercana de baja coherencia cuando interactúa con tejidos biológicos. La luz retrodispersada se mide con una configuración interferométrica para reconstruir el perfil de profundidad de la muestra en la ubicación seleccionada. Esta técnica de imagen tiene una resolución mucho mayor que otras técnicas de imagen empleadas en medicina como los ultrasonidos o la RMN. La OCT combina una resolución axial que puede alcanzar la de la microscopía confocal con una resolución lateral comparable a la de la oftalmoscopia láser de barrido confocal. Normalmente, los sistemas OCT tienen una resolución de 20-5 μm . Debido al método de medición interferométrica, la resolución axial está definida por la fuente de luz, no por la óptica de enfoque. Por lo tanto, se superan las limitaciones del enfoque óptico debido al tamaño limitado de la pupila del ojo. El enfoque ampliado y el funcionamiento con luz en el infrarrojo cercano mantienen una profundidad de penetración de unos cientos de micras, cubriendo toda la retina ^{706,707}.

Con la OCT de dominio espectral se ha conseguido hacer visibles estructuras retinianas con precisión casi histológica debido a las mejoras en la resolución axial (3-5 μm) y un número de A-Scans de hasta 40.000 por segundo ⁷⁰⁸.

3.5.3.2.3 Angiografía por tomografía de coherencia óptica (OCTA)

La angiografía por tomografía de coherencia óptica, conocida por sus siglas en inglés como OCTA, consiste en una técnica de imagen que permite analizar la vascularización retiniana y coroidea de forma no invasiva ⁷⁰⁹. Además, esta técnica permite realizar una evaluación cuantitativa de la densidad vascular y el flujo coroideo en ambas estructuras ⁷¹⁰. La OCTA es una extensión técnica de la OCT, y su técnica está basada no sólo la intensidad de la luz reflejada, sino también los cambios temporales en la reflexión causados por partículas en movimiento, como los eritrocitos que fluyen por los vasos. Estos cambios en la señal de la OCT se detectan capturando repetidamente imágenes de la OCT en cada punto de la retina y permitiendo crear un contraste de imagen entre los vasos perfundidos y los tejidos circundantes estáticos. La OCTA calcula la diferencia de amplitud, fase o ambas entre las señales generadas a partir de dos escaneos OCT secuenciales en la misma ubicación, también conocida como señal de descorrelación ⁷⁰⁷. La detección de movimiento conduce a la posible codificación de píxeles, por lo que los cambios en la señal de un área en el B-scan el sistema los codifica como píxeles brillantes asumiendo que se trata de flujo sanguíneo, mientras que ningún cambio en la señal se codifica como color oscuro ⁷¹¹

La OCTA revela más detalles de la vascularización de los plexos vascular retinianos superficial y profundo que su antecesora la angiografía con fluoresceína ⁷¹². Esta técnica se ha demostrado de gran utilidad para el diagnóstico de la neovascularización coroidea, la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) ⁷¹³, oclusión de vena central de la retiniana ⁷¹², vasos retinianos anormales ⁷¹⁴ e incluso DMAE no exudativa ⁷¹⁵ y tumores melanocíticos ⁷¹⁶.

Aunque es una tecnología no invasiva y rápida hay que tener en cuenta uno de los principales problemas que tiene esta tecnología, los artefactos de movimiento que aparecen en el fondo, siendo necesaria una fijación constante para obtener imágenes con alta calidad o un sistema de *tracker* ⁷¹⁷.

3.6 Afectación visual en la EA

La visión es un proceso que requiere la participación de un gran número de neuronas y a menudo, se ve afectada durante la EA. Durante las últimas décadas, las investigaciones han demostrado que varias funciones y estructuras visuales están comprometidas durante la enfermedad y que además pueden ser utilizadas para diferenciar a las personas afectadas de las personas que muestran un envejecimiento normal ⁷¹⁸.

En las últimas décadas, los biomarcadores visuales se han convertido en un área de interés con estudios que muestran que la fisiopatología de la EA afecta las estructuras relacionadas con la visión. La primera evidencia histológica de degeneración de la estructura visual en la EA fue reportada en 1986, observándose en tejidos histológicos post mortem de personas afectadas por la enfermedad una marcada degeneración axonal del nervio óptico y pérdida de células ganglionares de la retina ⁷¹⁹.

También se ha informado de depósitos de A β y Tau en diversas estructuras subcorticales y corticales del cerebro relacionadas con la visión, lo que produce síntomas visuales en pacientes con EA ⁷²⁰. Además, se han encontrado placas de amiloide y ovillos neurofibrilares en el NGL y en la corteza visual primaria, así como en el colículo superior y el núcleo pulvinar, que participan en el control de los movimientos oculares ⁷²¹. Clásicamente, se pensaba que en la fisiopatología de la EA inicialmente estas estructuras permanecían intactas, con afectación solo en la etapa tardía de la enfermedad ⁷²². Sin embargo, hay estudios que sugieren que en la fisiopatología de la EA puede haber afectación en estructuras cerebrales relacionadas con la visión en una etapa anterior. Se han encontrado ovillos neurofibrilares y placas neuríticas en la corteza de asociación visual del área 19 de Brodmann de pacientes con enfermedad preclínica y DCL ⁷²³. Más recientemente, se han descubierto placas de amiloide en las retinas *post mortem* de pacientes con EA temprana, pero no en los controles. Las placas retinianas se correlacionan con la carga de A β de la corteza cerebral y visual y los experimentos *in vivo* sugieren que las placas de amiloide en la retina pueden preceder a las del cerebro ^{724,725}. Además, se ha descrito acúmulos de Tau retiniana en forma de ovillos neurofibrilares y p-Tau en pacientes con EA ^{721,726}. Estos hallazgos proporcionan evidencia histopatológica de que el sistema visual puede verse alterado mucho antes de lo que se pensaba en el proceso de la enfermedad de la EA y, por lo tanto, corrobora el uso de biomarcadores visuales en la detección temprana de la enfermedad.

3.6.1 Polo posterior en la EA

3.6.1.1 Humor vítreo

Los datos del humor vítreo en la EA se han reportado como parte de otros estudios, por lo que son escasos. Se ha informado que en los pacientes con EA los niveles de APP soluble son particularmente altos en el humor vítreo, siendo los niveles de A β_{40} y A β_{42} aproximadamente dos veces mayores en el cuerpo vítreo que en el acuoso ⁷²⁷. Sin embargo, en un estudio del 2019, bajas puntuaciones en el MMSE fueron asociadas significativamente con niveles más bajos de biomarcadores relacionados con la EA como son A β_{40} , A β_{42} y t-Tau ⁷²⁸.

3.6.1.2 Retina

En la EA las alteraciones visuales, entre las que se encuentran: déficits en la AV, en la SC, en la visión al color, percepción del movimiento y déficits en los campos visuales, pueden ser detectables desde etapas muy tempranas de la enfermedad ⁷²⁹⁻⁷³¹. Algunos estudios patológicos intentan explicar estos cambios en los pacientes de EA, demostrando una degeneración axonal difusa con pérdida de CGR y pérdida de la CFNR *post mortem* ⁷³².

3.6.1.2.1 Células ganglionares de la retina en la EA

En 1986 se reportó por primera vez la disminución del número CGR en retinas *post mortem* de pacientes con EA, descubriéndose así la posibilidad de realizar un aislamiento de CGR afectas como un posible método de análisis molecular de la enfermedad una vez que estas hayan sido aisladas. Esta disminución también provocaba un adelgazamiento de la CFNR ⁷¹⁹. La pérdida de este tipo de neuronas, cuyo soma se encuentra en la CCG compartiendo espacio con los cuerpos celulares de la amacrinas desplazadas ⁷³³, se daba tanto en la retina macular, afectándose predominantemente la fovea, como en la retina periférica, así como en los cuadrantes superior e inferior, reportándose una pérdida global que ascendía al 36,4% ^{734,735}.

Otra población de CGR que ha cobrado gran interés en las enfermedades neurodegenerativas son las CGRif siendo la disminución del número total de estas y las anomalías en su morfología posibles causas de la reducción de la amplitud del reflejo pupilar a la luz ⁷³⁶ y de la alteración del ritmo circadiano en los pacientes con EA ^{644,737,738}.

Los estudios que se han realizado con tejido *post mortem* cuentan con pequeños tamaños muestrales, por lo que en algunos estudios se han replicado en modelos animales confirmando esta reducción de CGR ⁷³⁹.

3.6.1.2.2 Depósitos de A β y Tau en la retina

Los estudios llevados a cabo en retinas *post mortem* revelan la acumulación tanto de proteína A β ^{724,725,738} como de Tau, acumulándose esta última en forma de ovillos neurofibrilares, y p-Tau en pacientes con EA ^{721,726}.

Los depósitos de A β se encontraron tanto en montajes planos de retina como en cortes transversales, localizándose principalmente en las áreas perimaculares y perivasculares ^{724,725,738} y desde la CNE hasta la CFNR, siendo más abundante en la región superior de la retina donde se ha detectado mayor degeneración neuronal ⁷⁴⁰⁻⁷⁴². En retinas de donantes con EA y aprovechando las propiedades de polarización los depósitos de A β , también ha sido posible

detectarlos mediante la polarimetría de matriz de Mueller ⁷⁴³. La presencia de placas en la retina fue reportada en un estudio con tamaño de muestra mucho más pequeño como el llevado a cabo por Tsai y colaboradores ⁷⁴⁴. La Figura 17 es una representación esquemática de los eventos asociados a la neuroinflamación en la EA entre los que se encuentran el acúmulo de A β en distintas capas.

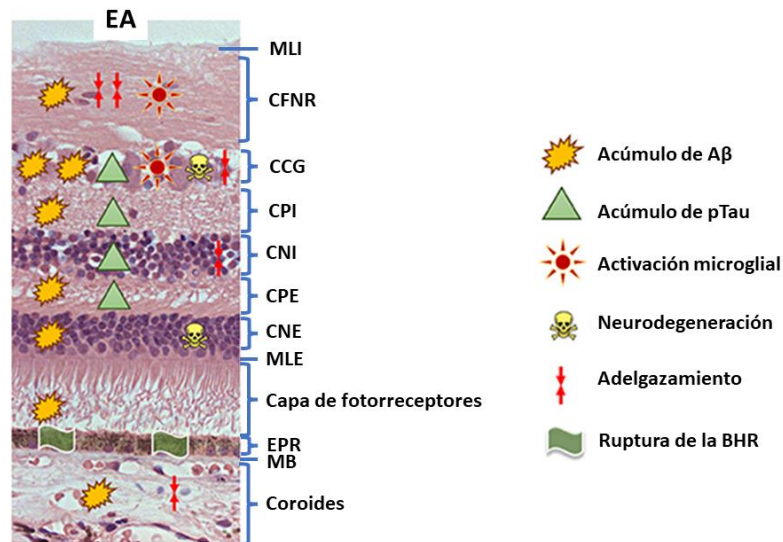


Figura 17. Representación esquemática de los eventos ocurridos en la retina en la EA. EA: enfermedad de Alzheimer, MLI: membrana limitante interna, CFNR; capa de fibras nerviosas de la retina, CCG: capa de células ganglionares, CPI: capa plexiforme interna, CNI: capa nuclear interna, CPE: capa plexiforme externa, CNE: capa nuclear externa, MLE: membrana limitante externa, EPR: epitelio pigmentario de la retina, MB:membrana de Bruch, A β : beta-amiloide; pTau; Tau hiperfosforilada , BHR: barrera hemato-retiniana. Tomada y modificada de Ramirez et al. 2017 ⁷⁴²

In vivo, también ha sido posible la observación de estas placas en retinas humanas mediante técnicas de imagen y la ingesta de curcumina como marcador de los depósitos de A β ⁷²⁵. Recientemente y empleando técnicas de imagen hiperespectral *in vivo* se han reportado diferencias significativas en los espectros de reflectancia de la retina entre individuos con alta carga de A β en las imágenes cerebrales de PET y DCL, en comparación con controles negativos en el PET de la misma edad. Además, las puntuaciones de las imágenes en la retina se correlacionan con las cargas de A β en el cerebro. Estos hallazgos indican que las imágenes hiperespectrales de la retina pueden predecir la carga de A β en el cerebro. ⁷⁴⁵.

También se ha demostrado la presencia de depósitos de A β en la retina de modelos murinos de EA como: APP/PS1, Tg2576 y en el modelo de rata TgF344-AD, localizándose estos depósitos principalmente en la CCG y en la CNI; aunque también se localizaban en la CNE, en el segmento externo de los fotorreceptores y en la CFNR en los tiempos de estudio más avanzados ^{739,744,746,747}.

Que la mayor cantidad de placas de A β se localicen en la CCG ⁷³⁹, podría explicar la degeneración de las CGR durante la EA ⁷⁴⁸. En otro estudio se ha mostrado que estos depósitos también se encuentran asociados a la vascularización retiniana ⁷³⁹ e incluso en la coriocapilar ⁷⁴⁶. En el modelo APP/PS1 de EA y utilizando técnicas de imagen hiperespectrales, se encontró un aumento de la dispersión de la luz Rayleigh producido por la presencia de agregados de A β ₁₋₄₂, siendo esta acumulación significativa a los 7 meses de seguimiento ⁷⁴⁹. Esta técnica también ha mostrado cambios de reflectancia entre controles de 9 a 14 meses y ratones 5xFAD ⁷⁴⁵.

Los estudios llevados a cabo en *Octodon degus*, que es un roedor sudamericano que presenta patología A β y pTau, así como deterioro cognitivo relacionado con la edad demostraron la acumulación en la retina de ambas proteínas ⁷⁵⁰.

La p-Tau fue localizada en retinas *post mortem* de pacientes con la EA, incrementando la inmunorreactividad en las CPI, CPE, CNI y CCG, y sobre todo en la retina periférica ^{726,742,751} (Figura 17).

La detección *in vivo* de Tau fibrilar también se ha podido llevar a cabo en las retinas del modelo murino P310S el cual expresa Tau mutante humana. Las inclusiones fibrilares de pTau se localizaron dentro de las CGR y fundamentalmente en la retina periférica ⁷⁵¹.

Los depósitos de Tau también han sido localizados en las retinas de ratones, en secciones adyacentes a las placas de A β ^{739,747,751}. En el modelo de ratón 3xTg-AD se ha demostrado alteraciones tempranas de la Tau retiniana, incluyendo la acumulación anormal que precede a los cambios patológicos en el cerebro ⁷⁵².

3.6.1.2.3. Vascularización de la retina en la EA

Las redes vasculares retinianas muestran similitudes con las cerebrales, por lo que no es de extrañar que personas con EA y DCL muestren cambios vasculares retinianos, al igual que ocurre en el cerebro de estos pacientes ⁷⁵³⁻⁷⁵⁵.

Los primeros estudios analizaron la vascularización retiniana mediante láser Doppler, demostrando que los pacientes con EA tenían un estrechamiento significativo del diámetro de la columna de la sangre venosa y una tasa de flujo sanguíneo venoso significativamente reducida en comparación con los sujetos sanos ^{756,757}. Con esta tecnología también se observaron una disminución de la velocidad del flujo sanguíneo en pacientes con DCL con respecto a los controles, con valores intermedios con respecto a los pacientes con EA ⁷⁵⁷.

Mediante retinografías también ha sido posible analizar el sistema vascular retiniano de pacientes con EA, que presentan anomalías vasculares como: atenuación vascular, aumento de la desviación estándar de la anchura de los vasos, reducción de la complejidad del patrón de ramificación y disminución/aumento de la tortuosidad venular. Además, se reportaron relaciones entre los parámetros vasculares de la retina, la carga de placa amiloide del cerebro neocortical y la EA ^{80,758,759}.

Otro método de estudio de la vascularización ha sido el análisis de la saturación de oxígeno de la hemoglobina en los vasos sanguíneos de la retina utilizando imágenes con un oxímetro de retina espectrofotométrico no invasivo. Así, los pacientes con EA moderada y DCL presentan una saturación de oxígeno en arteriolas y vénulas significativamente elevadas en comparación con los sujetos sanos ⁷⁶⁰⁻⁷⁶². Sin embargo, en pacientes con EA leve, el porcentaje de oxihemoglobina en la cabeza del nervio óptico, mediante el análisis Laguna ONhE no mostró cambios significativos en comparación con los sujetos sanos ⁷⁶³.

En modelos animales de la EA también se han encontrado depósitos de A β en la microvascularización, tanto en la retina como en la coriocapilar ⁷⁴⁶

3.6.1.3 Coroides en la EA

En un estudio realizado por Tsai y colaboradores demostraron cambios en la coroides, reducción de su grosor y una respuesta inflamatoria en el modelo Tgf344-AD de rata. Esta reducción del grosor corioideo es estadísticamente significativa en comparación con los WT aparecía a los 14 meses. En este mismo estudio, aunque con una muestra pequeña de ojos humanos *post mortem* de donantes con EA, también reportaron un adelgazamiento significativo de la coroides en comparación con ojos controles ⁷⁴⁴. En un estudio reciente realizado en 8 retinas *post mortem* de pacientes con EA, se encontraron diferencias de grosor, estando más adelgazada la coroides en el área nasal y mostrándose más gruesa en el área temporal en comparación con los sujetos sanos. Además, la coroides era notablemente más gruesa en la región macular central y este engrosamiento estaba fuertemente asociado al número de vasos en la capa vascular estromal ⁷⁶⁴.

Tanto en el modelo de ratón APP/PS1 y en el de rata Tgf344-AD se observaron depósitos de A β en la coroides ^{744,746}

3.6.1.4 Nervio óptico en la EA

Ya en 1986, en su estudio realizado en nervios ópticos *post mortem* de pacientes con EA, Hinton et al. encontraron una degeneración axonal generalizada⁷¹⁹. Estos cambios histopatológicos se confirmaron en varios estudios de seguimiento⁷³⁵ demostrándose que los nervios ópticos de personas afectas de la enfermedad revelaba una pérdida predominante de fibras de gran calibre, las cuales provienen de las células ganglionares magnocelulares⁷⁶⁵. Sin embargo, un estudio posterior no encontró diferencias en el número de axones mielinizados en muestras de pacientes con EA⁷⁶⁶. En un realizado por Syed y colaboradores⁷⁶⁷, donde se empleó el azul de toluidina para teñir el contorno de los axones, se encontraron diferencias significativas de la densidad axonal tanto en las zonas centrales como en las periféricas del nervio óptico cuando se comparaba entre sujeto con EA y controles de edad avanzada. En este estudio se encontró una disminución de axones de menor tamaño, que tienen una sección transversal inferior a las $1,99 \mu\text{m}^2$, y que son difíciles de identificar en un análisis morfométrico, lo que posiblemente hizo que se esta población de axones se subestimara en estudios anteriores⁷⁶⁸.

Estudios posteriores realizados *in vivo* mediante oftalmoscopia láser de barrido también han confirmado esta reducción en el número de fibras nerviosas del nervio óptico de pacientes con EA⁷⁶⁹. Esto se confirmó con la evaluación volumétrica mediante RM del nervio óptico de personas con probable EA, las cuales mostraron una reducción del volumen en comparación con sujetos sanos cognitivamente⁷⁷⁰.

3.6.2 Polo anterior en la EA

3.6.2.1 La cornea y el humor acuoso

Se sabe poco sobre la posible presencia de mecanismos patológicos de la EA en la córnea y el humor acuoso, de hecho, los estudios que investigan la presencia de A β , APP así como otros cambios relacionados con la enfermedad tienen un alcance escaso y se han informado como parte de los otros resultados publicados⁷⁷¹.

Se ha encontrado que las presenilinas asociadas a la EA también se expresan y se procesan proteolíticamente en el epitelio corneal humano, de ratones y monos de manera similar al procesamiento de la presenilina en las neuronas^{772,773}.

En el humor acuoso de personas con EA, se ha identificado la presencia de concentraciones A β ₁₋₄₀ comparables a las detectadas en el LCR de ancianos⁷³². También se han detectado cantidades significativas de A β ₄₀ y A β ₄₂ en el humor acuoso de ratones transgénicos de Alzheimer y bovinos

mediante análisis de ELISA, sugiriendo que los derivados del APP y A β pueden producirse en la retina, secretarse al humor vítreo y transportarse al humor acuoso ⁷²⁷. Se necesitarían más estudios para confirmar la presencia de A β y APP en el humor acuoso de personas con EA; sin embargo, la obtención de muestras es un procedimiento invasivo e incluso a pesar de sus resultados prometedores, esto no podría convertirse en un procedimiento viable para el cribado de la enfermedad.

3.6.2.2 La pupila

La pupila está inervada por la vía colinérgica y simpática. Por lo que, cualquier anomalía en el sistema autonómico, combinado con las alteraciones adicionales de la vía aferente, que implica a las CGRif, tiene algún efecto sobre las reacciones de esta ^{645,774}.

En la EA existe una anomalía en la vía colinérgica, por lo que los cambios en la pupila podrían ser un potencial biomarcador diagnóstico de la enfermedad ⁶²¹. En pacientes con sospecha de EA se ha demostrado una hipersensibilidad en respuesta a la tropicamida al 0,001% , la cual es un agonista colinérgico ⁷⁷⁵⁻⁷⁷⁸. Además, los pacientes con cambios pupilares hipersensibles, tienen más riesgo de desarrollar deterioro cognitivo en áreas relacionadas con la memoria, la atención y el lenguaje ⁷⁷⁹.

Las reacciones a la luz también se ven afectadas en los pacientes con EA y depende del estadio de la enfermedad ⁷⁷⁴. Los estudios que han evaluado el valor de la pupilometría en la EA, han mostrado resultados compatibles con la disfunción parasimpática y muestran un aumento de la latencia de la constricción pupilar a la luz, disminución de la amplitud de constricción, una redilatación más rápida tras el desplazamiento de la luz, una disminución de la velocidad máxima de constricción y de la aceleración máxima de la constricción en comparación con los controles, demostrando la utilidad de la pupilometría dinámica en pacientes con EA ^{736,780-783}. Estos cambios también se han estudiado en etapas preclínicas de la enfermedad ^{784,785}. Por último, una posible explicación es que estas alteraciones de la respuesta pupilar a la luz, pueden ser consecuencia de la afectación producida por la enfermedad en el *locus coeruleus*, el cual se encuentra ubicado en la protuberancia y está involucrado en el control simpático del tamaño de la pupila ^{786,787}, así como en el núcleo de Edinger Westphal, involucrado en el control parasimpático de la pupila ^{788,789}.

3.6.2.3 Cristalino

Se ha identificado depósitos de A β en el cristalino tanto de modelos animales como en humanos con EA ⁷⁹⁰⁻⁷⁹². Además, en el estudio histopatológico de cristalinos humanos *post mortem* se han

encontrado concentraciones de $A\beta_{1-40}$ y $A\beta_{1-42}$ comparables a las del cerebro ⁷³². Incluso, el uso de nuevas técnicas de imagen ha permitido detectar el $A\beta$ en el cristalino *in vivo* y relacionarlo con las imágenes cerebrales obtenidas con el PET de amiloides de pacientes con EA ⁷⁹³. En modelos murinos que expresan $A\beta$ humano se han encontrado cataratas corticales profundas y supranucleares ⁷⁹¹, siendo este patrón de localización similar en cristalinos de pacientes afectados por la enfermedad ⁷³². Además, en el síndrome de Down (trisomía 21), un alelo adicional de APP da lugar a una acumulación cerebral de $A\beta$, a una neuropatología de aparición temprana y a defectos cognitivos dependientes de la edad ^{794,795}; desarrollando estos pacientes una opacificación supranuclear acompañada de una acumulación supranuclear acelerada de $A\beta$, patología amiloide y agregados de $A\beta$ en el citoplasma de las células de las fibras cristalinas, que es idéntica a la patología del cristalino en los pacientes con EA; lo que sugiere que la acumulación de $A\beta$ es el determinante patológico clave en la catarata supranuclear tanto en el síndrome de Down como en la EA ⁷⁹⁶. Estos hallazgos han sido confirmados en modelos murinos de síndrome de Down, los cuales tienen una copia de la APP humana y una mayor expresión de la APP endógena humana y de ratón, desarrollando una degeneración del cristalino relacionada con la edad ⁷⁷². Por último, un estudio proporcionó aún más evidencia de la relación entre la catarata relacionada con la edad y la EA. Esto es debido a que la δ -catenina está asociada genética y biológicamente con la catarata cortical y a los cambios cerebrales estructurales y funcionales futuros relacionados con el Alzheimer ⁷⁹⁷.

3.6.3 Afectación de los test psicofísicos en la EA

Además de los hallazgos anatómicos estudiados en tejidos *post mortem* de humanos con EA y en modelos animales, esta enfermedad ejerce un impacto en la mayoría de los aspectos del procesamiento visual. Por este motivo, las pruebas funcionales utilizadas en el diagnóstico de anomalías oftalmológicas pueden utilizarse como valiosas herramientas en el diagnóstico de la enfermedad ⁷⁹⁸.

3.6.3.1 AV en la EA

Aunque algunos estudios no han encontrado déficits en estos pacientes respecto a los controles ⁷⁹⁹⁻⁸⁰⁷, otros sí encuentran una pérdida de AV ^{808,809}, tanto en pacientes con EA leve ⁷³⁰ y EA moderada ⁷⁹⁸. Además, algunos autores reportan que cuando la pérdida de AV es muy grave los pacientes pueden llegar a mostrar alucinaciones ⁸¹⁰⁻⁸¹².

Además, se ha descrito una correlación entre el empeoramiento de la AV y la progresión de la EA ⁸¹³, y un descenso de la AV en condiciones de baja luminosidad en pacientes con EA y demencia vascular ^{799,814}.

3.6.3.2 SC en la EA

Los estudios que analizan la SC en pacientes con EA muestran resultados variables. Algunos estudios no han encontrado déficits en la SC espacial en la EA ^{801,803}. En un estudio, donde se analizó la SC espacial y temporal y se comparó con los potenciales evocados visuales se demostró que la latencia de los potenciales se asocia más estrechamente con la SC temporal que con la espacial ⁸⁰³. Sin embargo, en la mayoría de estudios, se ha reportado una reducción en la SC en todas las frecuencias espaciales ^{730,799,800,804,808,815-819}, siendo esta disminución de la SC mayor en las frecuencias espaciales altas ^{730,798,815,816,820} o frecuencias espaciales bajas ^{800,805,821,822}.

Además, en pacientes con DCL se ha informado de una disminución general significativa de la SC en todas las frecuencias y a lo largo del todo el campo visual cuando se mide mediante tecnología de doble frecuencia ^{718,823,824}.

La degeneración de las CGR y/o la vía visual puede ser la base de los déficits funcionales en la SC que se observa en los pacientes con EA ⁸²⁴. La función de SC en humanos se ve disminuida cuando existen cambios en la retina, el nervio óptico y lesiones de las cortezas occipital, temporal y/o parietal ⁸²⁵.

3.6.3.3 Percepción del color en la EA

Existe bastante controversia en realizar las pruebas de percepción al color en pacientes con EA debido a los problemas de denominación y, por tanto, en la verbalización de los colores que ven. A pesar de ello, algunas pruebas no requieren la verbalización del color, aunque sí necesitan recordar la tarea y concentración ^{814,826}.

Estudios llevados a cabo con el test de Farnsworth y el de Ishihara no encuentran diferencias en la percepción del color entre personas con EA y controles ^{817,827,828}. Sin embargo, otros autores mostraron errores inespecíficos en el eje tritán que se correlacionan con el grado de demencia ^{730,808,826,829-831}, mientras que otros han encontrado una protanomalia ⁸³².

Por otro lado, un estudio en el que se analizaba la percepción del color con Ishihara y el PV-16 encontraron alteraciones en la visión al color que consistían en errores inespecíficos que no

estaban relacionadas con la gravedad de la enfermedad ⁸³³. Sin embargo, un estudio reciente demostró que el test de Ishihara podía discriminar entre la EA y la demencia vascular. En el test de Ishihara, los problemas de percepción del color resultan en la incapacidad de reconstruir el patrón debido a la simultagnosia causada por una disfunción occipitoparietal ⁸³⁴.

Otro estudio en el que se empleó el test de Farnsworth-Munsell 100-hue, se encontró una discriminación del color disminuida en la EA y el número de errores estaba inversamente relacionado con la puntuación del MMSE ⁸³⁵.

Debido a los diferentes métodos que se han empleado para el estudio de la percepción al color, la comparación de los resultados resulta compleja y difícil de interpretar.

3.6.3.4 Test digital de percepción en la EA

La prueba del TDP está diseñada para evaluar el reconocimiento visual de situaciones familiares y tiene una correlación significativa con el deterioro cognitivo del paciente con EA, indicando que los pacientes con EA leve tienen significativamente más fallos con el TDP que los controles ^{730,836}.

3.6.3.5 Campo visual en la EA

Debido a la alta colaboración que precisa esta prueba por parte del paciente, los estudios del CV en pacientes con EA son escasos y la mayoría de ellos son de casos aislados ^{814,837}.

En pacientes con probable EA la anomalía más común del CV era la constricción inferior bilateral en un patrón de tipo arqueada ^{838,839}. También se han encontrado pérdidas de sensibilidad difusa y defectos que afectan al campo central. Se ha demostrado que casi el 40% de sujetos con EA la mayor cantidad de placas de A β y ovillos de Tau se localizan en el giro cuneal en comparación con el giro lingual, apoyando la teoría de que la enfermedad cortical es la responsable de la pérdida del CV ⁸³⁸. Además, recientemente se ha demostrado que la atrofia occipital lateralizada predice el lado del defecto homónimo del CV en estos pacientes ^{840,841}.

Actualmente, en lo que se considera la variante visual de la EA, la cual es un subgrupo de demencia degenerativa progresiva que comienza con la función conductual visual, y en la que los síntomas visuoespaciales se manifiestan antes del deterioro cognitivo, los sujetos se mostraron hemianopsia homónima del lado derecho ⁸⁴².

3.6.4 Afectación de las pruebas estructurales en la EA

3.6.4.1. Tomografía de Coherencia óptica en la EA.

El área macular de pacientes con EA ha sido analizada mediante OCT en muchos estudios, reportando en la mayoría de ellos un adelgazamiento generalizado del grosor total de la retina y de manera individual de la CFNR en diferentes sectores^{756,843}.

Además estas reducciones de grosor macular de la CFNR (CFNRm) se han reportado en diferentes estadios de las EA, como EA leve⁷⁵⁶ y EA moderada⁷⁹⁸, así como DCL⁸⁴⁴. En pacientes con la EA establecida se ha demostrado una reducción de la CFNRm en diferentes sectores, siendo este adelgazamiento mayor en los sectores superior e inferior del anillo macular externo^{729,798,845,846}. Además de estos adelgazamientos algunos autores han puesto de manifiesto la presencia de engrosamientos de algunas capas en el área macular (Salobar-García, de Hoz, Ramírez, López-Cuenca, et al. 2019), pudiendo ser estos cambios inflamatorios producidos por el depósito de A β o el desarrollo de membranas granulares secundarias a la gliosis retiniana (Zhang, Onishi, et al. 2019).

En pacientes con DCL son escasos los estudios que hayan analizado el grosor de la CFNRm, mostrando además, resultados dispares en sus hallazgos^{847,848}. Estos resultados son similares a los que reportan los estudios con pacientes con alto riesgo de desarrollar la enfermedad. Mientras que algunos autores no reportan cambios significativos⁸⁴⁹, otros estudios detectan ya pequeños cambios en el grosor de diferentes capas de la retina, pudiendo ser estos los primeros cambios que se producen, incluso antes, que los síntomas clínicos⁸⁵⁰⁻⁸⁵⁶.

Esta reducción de grosor también se ha dado en las capas retinianas maculares que contiene células ganglionares, como la CPI, la CCG y el complejo constituido por ambas capas. La disminución del grosor de la capa de CGR es la principal causa de adelgazamiento de la retina en pacientes con EA⁸⁴⁵, mostrándose también en pacientes con EA leve⁷²⁹, EA moderada⁷⁹⁸ e incluso en pacientes con DCL, sugiriéndose como una herramienta para detectar lesiones neuronales⁸⁵⁷. Además, un estudio demostró que el análisis punto a punto de las capas de la retina era mucho más preciso que el análisis medio de la capa completa y mostró un adelgazamiento estadísticamente significativo en regiones irregulares de la retina total y en la CFNR, CCG, CPI, CNI y el segmento externo de los fotorreceptores en pacientes con EA en comparación con sujetos sanos⁸⁵⁸. En un estudio, basado en la teoría de campos aleatorios, también mostró que todas las capas excepto la CNI y la capa del segmento externo de los fotorreceptores mostraban regiones engrosadas y que estas regiones se intercalan con regiones

adelgazadas. Estas regiones adelgazadas muestran una tendencia significativa a superponerse, mientras que las regiones engrosadas no se superponen ⁸⁵⁸. La superposición de estas regiones adelgazadas y engrosadas genera asperezas en los mapas de grosor de las capas de la retina, haciendo que cobre cada vez más fuerza la hipótesis de que la rugosidad de estas capas retinianas, evaluadas por la dimensión fractal sean un biomarcador temprano de la EA. Se ha demostrado que el coeficiente de dimensión fractal de las capas de la retina es estadísticamente mayor en los sujetos con EA en comparación con los controles sanos, y que está se correlación con la puntuación cognitiva, la AV y la edad alcanzando significación estadística en 7 capas ⁸⁵⁹.

El volumen total macular también se ha reportado adelgazado en pacientes con EA cuando se compara con sujetos controles, correlacionándose con la gravedad de la enfermedad ⁸⁴³.

En el área peripapilar los sujetos con EA presentan también un adelgazamiento significativo de la CFNR en comparación con los sujetos control, siendo más significativo este adelgazamiento en los cuadrantes superior e inferior ^{845,860-865}. También se ha reportado adelgazamiento en la región temporal ⁸⁶⁶. Los adelgazamientos en la CFNR en el área peripapilar se dan en las etapas más avanzadas de la enfermedad, asociándose con la progresión de la enfermedad y el avance del deterioro cognitivo determinado por la puntuación del MMSE ^{730,798,867,868}.

Los avances tecnológicos han permitido mejorar la resolución de las imágenes y con la incorporación de OCT de imágenes de profundidad mejorada (EDI-OCT), es posible analizar estructuras más profundas como es el caso de la coroides ⁸⁶⁹, siendo la medida del grosor coroideo, aunque no exista un protocolo internacional unificado ⁸⁷⁰, un potencial biomarcador en las enfermedades neurodegenerativas entre las que se incluye la EA ^{865,871,872}. El grosor coroideo subfoveal se encuentra significativamente adelgazado en pacientes con EA en comparación con sujetos sanos ^{763,865,871,873-878}, al igual que ocurre con pacientes con DCL cuando se comparan con personas cognitivamente sanas ⁸⁷⁸.

3.6.4.2 Tomografía de coherencia óptica en modelos animales de la EA.

En modelos animales también se han llevado a cabo estudios con OCT para conocer las variaciones estructurales de la retina a lo largo del curso de la enfermedad.

En el modelo transgénico APP^{NL-F/NL-F} el grosor retiniano mostró adelgazamiento a los 6 meses en un estadio leve, posiblemente producido por neurodegeneración, mostrando a los 17 meses un engrosamiento de la retina, que podría ser provocado por depósitos y neuroinflamación en algunas zonas ⁸⁷⁹.

En el modelo APP/PS1 se analizó la retina desde los 3 a los 12 meses de edad encontrándose una disminución significativa del grosor de la retina en las capas internas a los 9 meses de edad y en las capas externas a los 12 meses⁸⁸⁰. Aunque estos hallazgos no pudieron ser confirmados por un estudio posterior donde no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio⁸⁸¹.

En el modelo 3xTg-AD, la neurodegeneración comienza a los 4 meses de edad en las capas más internas de la retina. A medida que avanza la enfermedad, se encontraron cambios significativos en cada capa analizada, a excepción de la CNE, donde se observó un engrosamiento a los 12 meses de edad⁸⁸². Un estudio posterior demostró que las retinas de este modelo animal presentan un mayor número de células microgliales; además, su soma ocupa un área mayor en comparación con controles del mismo grupo de edad. Además, los autores demostraron que la microglía migra, se reorienta y retrae sus procesos, cambiando su localización de una posición paralela a una perpendicular respecto a la superficie de la retina⁸⁸³, pudiendo ser esta la causa de los engrosamientos encontrados en otros estudios. En estos ratones también se mostró una adelgazamiento de la CFNR en comparación con los controles⁸⁸⁴.

3.6.4.3. Angiografía por tomografía de coherencia óptica en la EA

En pacientes con EA se ha informado de una disminución en la densidad de la red vascular retiniana y los plexos vasculares superficial (PVS) y profundo (PVP) en comparación con los controles, principalmente en la región parafoveal^{710,878,885}. En los sujetos con DCL, la disminución de la densidad vascular se reporta principalmente en el PVP, en concreto en el cuadrante nasal superior⁷¹⁰.

Los plexos superficiales y profundos crean un área libre de capilares en la zona foveal, que se denomina zona avascular foveal (ZAF). Esta se encuentra agrandada en los pacientes con EA⁸⁷⁸, los sujetos con DCL⁸⁸⁶ y aquellos con EA preclínica⁸⁸⁷ con respecto a los controles. Sin embargo, en otros trabajos llevados a cabo en pacientes con EA leve no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el área de ninguno de los plexos de la ZAF respecto a los controles⁷⁶³.

En sujetos portadores de ApoE ϵ 4, un estudio reciente ha demostrado un descenso en el índice de flujo capilar en el sector temporal y en la densidad de perfusión en el anillo ETDRS, mostrándose aún más disminuida en el anillo de 6mm y en el anillo externo tras dos años de seguimiento pero sin diferencias en las tasas de cambio entre los grupos⁸⁵⁶.

Un reciente estudio ha analizado las posibles diferencias en la microvasculatura de la retina entre hombres y mujeres con EA en comparación con sujetos controles. En dicho estudio no se encontraron diferencias significativas entre hombres y mujeres en la densidad vascular y la densidad de perfusión en el plexo capilar superficial de la retina. Sin embargo, las mayores diferencias en estas variables se encontraron entre las mujeres con EA y sus controles que los hombres con la patología en comparación con los sujetos control ⁸⁸⁸.

3.6.5 Afectación de otras estructuras del SNC en la EA

3.6.5.1 Núcleo geniculado lateral en la EA

El NGL que es un centro de relevo fundamental para las proyecciones de las CGR a la corteza visual primaria. En pacientes con EA la afectación de núcleo provoca defectos de procesamiento visual ⁸⁸⁹. Además, se han descrito depósitos de A β y Tau en esta estructura ⁷²¹.

En estudios realizados en tejido *post mortem*, los sujetos con EA presentaban mayor gravedad en la gliosis de las capas magnocelulares y una pérdida moderada de neuronas parvocelulares en comparación con sujetos sanos ⁸⁹⁰. También en tejidos de donantes preclínicos y gravemente afectados por la enfermedad se estudió la expresión de la melanopsina, encontrándose una disminución progresiva del marcador Brn3a en el NGL a través de las diferentes etapas de gravedad de la EA. Sin embargo, aunque no hubo reducción en la señal de melanopsina en los pacientes preclínicos, esta proteína disminuyó drásticamente en las muestras de EA severa ⁸⁹¹.

3.6.5.2 Corteza visual en la EA

Los déficits visuales que sufren las personas con EA, desde los déficits de nivel más bajo (cambios en la SC, discriminación de color, percepción visuoespacial y velocidad de procesamiento visual), así como los de nivel superior (problemas en la atención visual y en el reconocimiento de caras), podrían atribuirse a un patrón aleatorio de neurodegeneración en las regiones de la corteza visual ⁸⁹². Aunque otros estudios, han demostrado que la acumulación de placas de A β y ovillos neurofibrilares aumenta de forma constante desde la corteza visual primaria a la asociativa ^{721,893-896}. Actualmente, se conoce que la neuropatología de la EA generalmente se observa primero en las cortezas límbicas y perilímbicas, extendiéndose posteriormente a las áreas de asociación posterior de orden superior, luego a las áreas de asociación de orden inferior y finalmente a las regiones motoras y sensoriales primarias ^{106,897,898}. Aunque estos cambios se pensaban que no se daban hasta las etapas más avanzadas de la enfermedad, se han encontrado ovillos neurofibrilares y placas neuríticas en la corteza de asociación visual del área 19 de Brodmann de pacientes con EA preclínica y DCL ^{723,898}.

Diversos estudios de neuroimagen apoyan la conclusión de que la disfunción visual central es una parte importante del deterioro funcional en la EA. Los estudios realizados con PET sugieren una mayor afectación de las áreas relacionadas con la vía dorsal que las áreas involucradas en la vía ventral^{899,900}. Estudios llevados a cabo con RMf han mostrado que la hipoactivación de las áreas de asociación visual posterior se asocia fuertemente con las alteraciones de la navegación o la desorientación visuoespacial en pacientes con EA^{898,901,902}.

3.6.5.3 Afectación de otros núcleos cerebrales en la EA

3.6.5.3.1. Colículo superior

Los colículos superiores desempeñan un papel fundamental en la generación de los movimientos de la cabeza y de los ojos orientándolos hacia los estímulos visuales y otros estímulos sensoriales repentinos. Estos están ubicados en el mesencéfalo dorsal dentro de la placa tectal y están organizados estructural y funcionalmente en capas superficiales y profundas. Las capas superficiales procesan únicamente información visual, con inputs retinianos directos que comprenden un mapa visuotópico del campo contralateral⁹⁰³. Estas capas superficiales tienen conexiones eferentes con los núcleos talámicos; estas señales luego se transmiten a las áreas visuales corticales. Las capas profundas de los colículos reciben entradas sensoriales multimodales y ayudan a mediar los movimientos sacádicos del ojo a través de sus conexiones eferentes con los sistemas motores oculares⁶²⁹. Además, el colículo superior se ha implicado en varios modelos de alucinaciones visuales. En pacientes con EA se ha reportado la presencia de depósitos de A β y Tau en esta estructura^{721,904-906}.

En estudios realizados en tejidos *post mortem* de pacientes con demencia con cuerpos de Lewy se demostró que los depósitos de α -sinucleína y Tau eran más numerosos en las capas más profundas del colículo superior. En estos estudios en los casos de DCL se observaban reducciones de la densidad neuronal en el estrato griseum intermedio, una estructura importante para dirigir la atención hacia los objetivos visuales. Por el contrario, la densidad neuronal estaba reducida en todas las láminas del colículo superior en la EA⁹⁰⁷.

3.6.5.3.2. Núcleo supraquiasmático

Las CGRif dan lugar a una vía separada, no mielinizada, a través del quiasma y los tractos ópticos, transmitiendo en última instancia la información luminosa directamente al núcleo supraquiasmático, que se localiza en la base del hipotálamo anterior. El núcleo supraquiasmático tiene una respuesta mantenida de hasta 20 segundos, que junto con los campos receptivos le permiten controlar los niveles de luz ambiental de forma fiable. Este

núcleo tiene conexiones eferentes con la glándula pineal, donde se produce la secreción de melatonina para impulsar los ritmos circadianos ⁶²⁹.

La alteración del sueño y otras alteraciones del ritmo circadiano se observan con frecuencia en pacientes con demencia. En un estudio realizado en hipotálamos de donantes con EA, con anticuerpos específicos dirigidos contra vasopresina, neurotensina, neuropéptido Y, péptido intestinal vasoactivo, beta-amiloide (B/A4) y proteína gliofibrilar ácida (GFAP), se observó pérdida neuronal, la formación de ovillos neurofibrilares, una disminución significativa de las neuronas de vasopresina y neurotensina, así como un aumento correspondiente en la proporción de astrocitos teñidos con GFAP/neuronas teñidas con Nissl. Estos resultados proporcionan evidencia de que las neuronas de vasopresina y neurotensina se pierden en la EA y que la proporción astrocitos/neuronas es un indicador confiable de patología relacionada con la enfermedad dentro del núcleo supraquiasmático ⁹⁰⁸.

3.6.5.3.3. Núcleos pulvinares

Este es uno de los mayores núcleos del tálamo, el cual recibe impulsos de los cuerpos geniculados, de la corteza de asociación parietal posterior, occipital y temporal posterior, hecho que lo capacita para un procesamiento sensorial de nivel superior y complejo de las informaciones visuales. Este núcleo se ha implicado en la atención visual y en el control de los movimientos oculares, y también puede ayudar a mediar en tareas dependientes de la atención en los sistemas auditivo y somatosensorial. En consecuencia, una interrupción hipotética de las funciones mediadas por el núcleo pulvinar puede ayudar a comprender los síntomas visuales y no visuales comunes en pacientes con EA. Los estudios patológicos *post mortem* han demostrado una degeneración de los núcleos pulvinar intralaminar y dorsolateral del tálamo en la EA ⁹⁰⁹.

En los análisis histológicos de donantes con EA se han encontrado numerosas placas de A β y algunas placas neuríticas en las diversas subdivisiones del núcleo pulvinar. Los hilos de neurópilos también estaban presentes entre las placas seniles y los ovillos neurofibrilares de Tau que se encontraban en grupos a lo largo del núcleo ^{721,910} En la Figura 18 se muestra un resumen de las manifestaciones oculares en la EA.

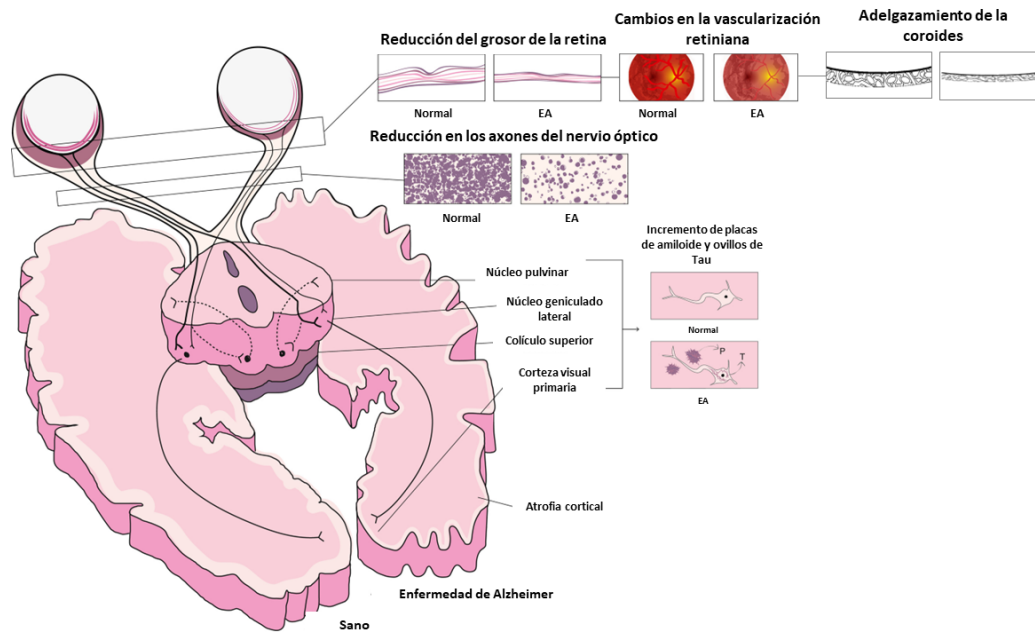


Figura 18. Manifestaciones de la EA en el sistema visual. En la retina de los pacientes con EA se produce una reducción del grosor, cambios en la vascularización retiniana, disminución del grosor coroides y se produce una reducción de los axones del nervio óptico. En el hemisferio derecho se encuentran las alteraciones visuales encontradas en pacientes con EA. El acumulo de las placas de amiloide y los ovillos de Tau se encuentran en diversas regiones cerebrales que están relacionadas con la función visual como son el núcleo geniculado lateral, la corteza visual, el núcleo pulvinar, el colículo superior y el núcleo supraquiasmático Modificada de Kusne et al.2017 721.

3.6.6 Relaciones entre áreas retinianas y estructuras cerebrales

Los cambios retinianos también se han asociado con cambios en las estructuras cerebrales relacionadas con la visión y con el lóbulo temporal en sujetos mayores cognitivamente sanos. La reducción de la CFNR y el grosor de la CCG se han asociado con una menor densidad de materia gris en la corteza visual y la circunvolución lingual y una menor integridad de la materia blanca de las radiaciones ópticas en la RMN ⁹¹¹. El grosor del cuadrante temporal de la CFNR se ha asociado con el volumen del hipocampo y el cuadrante inferior con el volumen de la circunvolución lingual ⁹¹². La disminución del grosor de la CCG, la CPI y el complejo formada por estas dos, se asoció con un volumen entorrinal reducido en el lóbulo temporal medial, pero no con regiones asociadas con el envejecimiento como la corteza frontal media bilateral o con regiones relacionadas con etapas posteriores en la EA como son la corteza temporoparietal, precuneous o la región cingulada, lo que sugiere la posibilidad de que la retina sufra cambios en las etapas preclínicas o prodrómicas de la enfermedad ⁹¹³.

Además, un reciente estudio llevado a cabo en sujetos mayores de 55 años sin deterioro cognitivo, pero con biomarcadores positivos en LCR para la pTau y tTau encuentran correlaciones significativa entre el volumen del hipocampo con la CCG y la CFNR ⁹¹⁴.

3.6.7 Patologías oculares y hallazgos oftalmológicos frecuentes en la EA.

3.6.7.1 Retinopatía diabética y EA

La diabetes tipo I y tipo II están asociadas con la EA, pudiendo estas provocar retinopatía diabética (RD) ⁹¹⁵⁻⁹¹⁸. Los pacientes con diabetes tipo I, suelen desarrollar RD tras 15 años, mientras que entre el 50-80% de pacientes con DM-II, la suelen desarrollar tras 20 años de enfermedad ⁹¹⁹, asociándose esta RD con la EA ^{602,920}. Un estudio ha demostrado que los individuos con diabetes sin RD tenían menos probabilidades de desarrollar EA en comparación con las personas sin diabetes. Sin embargo, las personas con RD tenían un 34% más de riesgo de sufrir EA en comparación con las personas con diabetes sin RD ⁹²¹.

En pacientes con RD se ha descrito una disminución significativa en el nivel de $A\beta_{42}$ y un aumento significativo en el nivel de tau en el humor vítreo, como previamente se había encontrado en el LCR de pacientes con EA ⁹²².

3.6.7.2. Glaucoma y EA

La tasa de incidencia de glaucomas es mayor en pacientes con EA que en controles cognitivamente sanos ⁹²³. Se ha descrito una progresión más rápida y agresiva de la neuropatía óptica glaucomatosa en los pacientes diagnosticados de demencia que en los pacientes con glaucoma solo. En estos pacientes, donde conviven ambas patologías el nervio óptico parecía ser menos resistente a los niveles elevados de presión intraocular ⁹²⁴. Estudios realizados en modelos animales han mostrado que las CGR sometidas a una hipertensión ocular crónica presenta un procesamiento anormal de la APP, lo que conduce a la producción de $A\beta$ ⁹²⁵. Este péptido $A\beta$ se encuentra en el 40% del humor acuoso de pacientes con glaucoma ⁹²⁶ a una concentración comparable a la del LCR ⁷³².

Algunos estudios han mostrado que no hay mayor riesgo de desarrollar EA en pacientes con glaucoma ⁹²⁷⁻⁹²⁹, por el contrario, la disminución de la producción y del recambio de LCR en pacientes con EA puede contribuir a un mayor riesgo de desarrollar glaucoma ⁹³⁰. Los pacientes con glaucoma normotensivo presentan una presión intracraneal más baja en comparación con pacientes con glaucoma primario de ángulo abierto y sujetos control no glaucomatosos, por lo que no es de extrañar que estudios recientes hayan encontrado una relación entre el glaucoma normotensivo, el deterioro cognitivo ⁹³¹ y la EA ⁹³². La asociación entre el glaucoma primario de ángulo abierto y la EA también ha sido ampliamente estudiada con resultados controvertidos ^{920,923,928,933,934}.

3.7 Degeneración macular asociada a la edad (DMAE) y EA

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) es una degeneración retiniana compleja pero común, siendo la edad, al igual que ocurre en la EA, uno de los principales factores de riesgo⁹³⁵. Esta enfermedad, que es una de las principales causas de ceguera en los países desarrollados⁹³⁶, se caracteriza por una afectación macular que produce una reducción irreversible de la visión central y en detalle, afectando a tareas como la conducción, el reconocimiento facial y la lectura⁹³⁷.

El envejecimiento se relaciona con cambios en la retina incluyéndose la aparición de pequeñas drusas duras, las cuales se consideran parte del envejecimiento normal y se encuentran presentes en un 95 % de la población mayor de 43 años⁹³⁸. Las drusas son depósitos acelulares, localizados entre el EPR y la membrana de Bruch⁹³⁹. Cuando la visión se ve comprometida debido a los cambios fisiopatológicos que se producen en la membrana de Bruch y el EPR, que se acompañan de hipo y/o hiperpigmentación de las células del EPR y se produce un agrandamiento o confluencia de las drusas nos encontramos en etapas tempranas/intermedias de la DMAE. Las etapas más avanzadas se caracterizan por la presencia de una atrofia geográfica en la forma seca, mientras que la forma húmeda o exudativa, denominada también DMAE neovascular, se caracteriza por la presencia de neovasos coroideos que invaden la retina produciendo un fluido intrarretiniano y subretiniano que conducirá a la cicatrización de esta región macular⁹³⁷.

Debido a la similitud en las características patológicas entra la DMAE y la EA existe un gran interés en investigar el vínculo entre las dos enfermedades. Aunque varios estudios previos han documentado la asociación entre la DMAE, el DCL y la demencia⁹⁴⁰⁻⁹⁴⁴, otro estudio epidemiológico no encontró un mayor riesgo de demencia y EA en personas con DMAE⁹⁴⁵.

Con alguna controversia, se conoce que ambas patologías comparten condiciones neurodegenerativas relacionadas con el envejecimiento^{920,946-948}. Además, ambas enfermedades pueden compartir factores de riesgo ambientales como, por ejemplo: la dieta, características histopatológicas, como son los depósitos de A β ⁹⁴⁹ y en cierta medida mecanismos histopatológicos como el estrés oxidativo e inflamación⁹⁴⁵. Sin embargo, el perfil de riesgo genético es diferente, siendo uno de los genes compartidos el ApoE ϵ 4, que se asocia con un mayor riesgo genético para la EA, pero que podría ejercer un factor protector en la progresión de la DMAE^{950,951}.

3.7.1 Etiología y Genética de la DMAE y la EA

Aunque la etiología de la DMAE es desconocida, las investigaciones han sugerido que esta es una enfermedad genéticamente compleja y causada por varios defectos moleculares ⁹⁵².

En la DMAE hay evidencias de un mal plegamiento de proteínas similar al de la EA, de hecho un estudio reciente muestra que la expresión diferencial de los miRNAs (miR-9, miR-23a, miR-27a, miR-34a, miR-146a, miR-155) se ha encontrado desregulada tanto en la DMAE como en la EA ⁹⁵³.

Los alelos del gen ApoE también están asociados fuertemente a la DMAE y a la EA. Así, en pacientes con DMAE, la prevalencia del alelo $\epsilon 4$ es significativamente baja en comparación con sujetos sanos, sugiriendo el factor protector de este alelo en la enfermedad. Por el contrario, el alelo $\epsilon 2$ del ApoE se ve aumentado en los pacientes con esta degeneración retiniana, asociándose con la progresión de la enfermedad ⁹⁵⁴⁻⁹⁵⁹. Además, los portadores de 2 copias del alelo $\epsilon 4$ han mostrado niveles reducidos de proteína C reactiva en comparación con los no portadores, sugiriendo el papel del ApoE como mediador de la respuesta inflamatoria implicada en la etiología de la DMAE ⁹⁶⁰. Otro papel que desempeña el ApoE es el de la remodelación de la membrana celular que es esencial para la función normal y mantenimiento de la retina ⁹⁵⁵. El alelo $\epsilon 4$ facilita el transporte de los lípidos a través de la membrana de Bruch en comparación con los alelos $\epsilon 2$ y $\epsilon 3$. Esto es debido a que las cargas positivas de las proteínas codificadas por los alelos $\epsilon 4$ contribuyen a mejorar la capacidad de eliminación de residuos por que interactúan con la barrera hidrofóbica generada por la acumulación de lípidos neutros ⁹⁵⁴.

En relación con el ApoE, en la EA es completamente opuesto al anteriormente expuesto en la DMAE. El mayor factor de riesgo genético para padecer EA es el alelo $\epsilon 4$ del ApoE, cuya prevalencia es muy alta entre los pacientes con EA, mientras que el alelo $\epsilon 2$ es el menos frecuente en personas con esta enfermedad ^{5,958,961}.

La implicación de la vía del complemento es común tanto en la DMAE como en la EA. Otro de los factores de riesgo genéticos más importantes para el desarrollo de la EA se encuentra en los poliformismos genéticos del gen del factor de complemento H (CFH) ⁹³⁷. En la DMAE, especialmente a través de la vía alternativa, se produce una reacción inflamatoria. Múltiples alelos del inhibidor de la vía alternativa, entre ellos el factor H, se han asociado fuertemente con un mayor riesgo de desarrollo de DMAE ^{962,963}, así como otros componentes reguladores del complemento, incluyendo el factor B y el C3 ⁹⁶³. A partir de los análisis histológicos y de

proteínas, se ha descrito que los componentes del complemento, incluidos los fragmentos activos de C3, C5 y C6-9 (que forman el complejo de ataque a la membrana) y los factores reguladores B, H e I, se encuentran tanto en las drusas⁹⁶⁴⁻⁹⁶⁶, como en las placas seniles⁹⁶⁷⁻⁹⁷⁰. Estos hallazgos sugieren una vía inflamatoria común en la DMAE y la EA.

3.7.2 Similitudes y diferencias moleculares y estructurales entre drusas y placas de A β en el cerebro y la retina

Los depósitos extracelulares son una característica común en ambas enfermedades, en la DMAE estos depósitos son las drusas y en la EA las placas de A β . Sin embargo, se ha descubierto que los ensamblajes esféricos de A β , así como otras proteínas proinflamatorias comúnmente observadas en las placas de EA también se encuentran presentes en las drusas^{964,971}.

Las drusas se localizan entre el EPR y la membrana de Bruch, clasificándose según su ultraestructura como: depósitos laminares basales (DlamB) y depósitos lineales basales (DlinB). Los DlamB están constituidos por material membranoso y colágeno y se encuentran localizados entre la membrana plasmática y la lámina basal del EPR, mientras que los DlinB están formados por material vesicular y se sitúan entre la membrana basal del EPR y la capa colágena interna de la membrana de Bruch⁹⁷² (Figura 19).

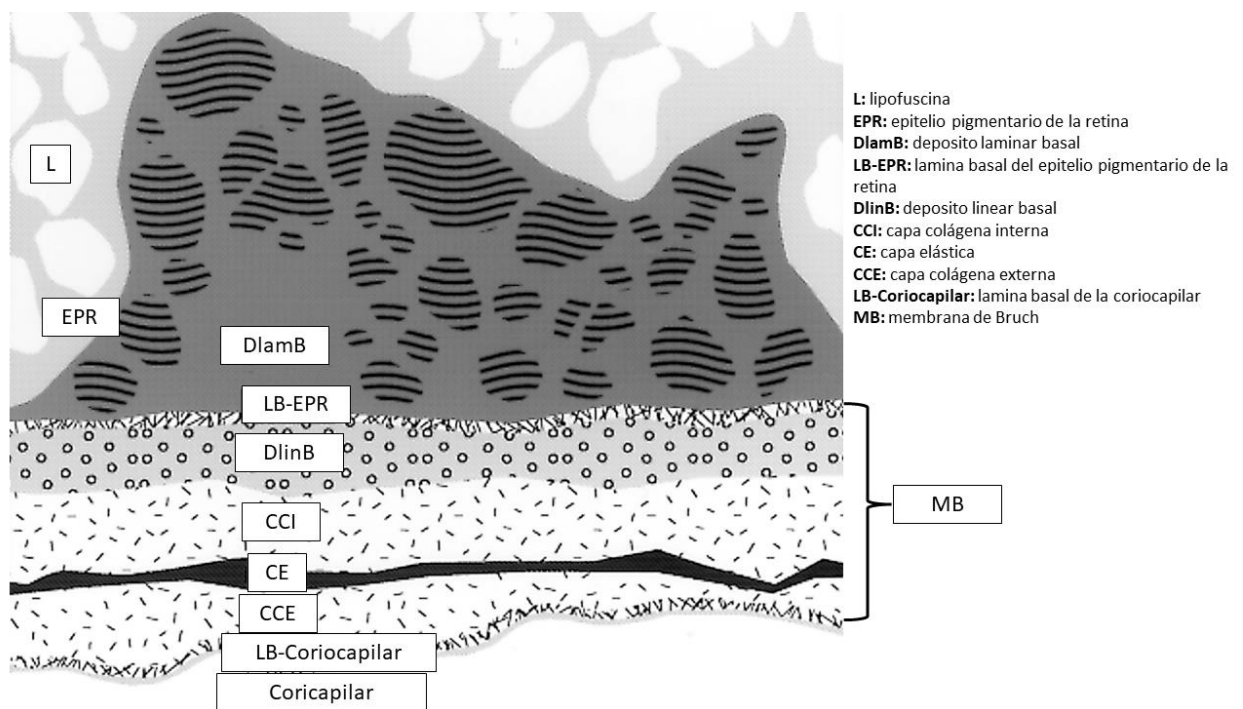


Figura 19. Esquema del EPR, la membrana de Bruch (MB) y los depósitos basales. Modificada de Curcio et al. 1999

⁹⁷².

Las placas de A β se localizan en el cerebro de personas con la EA, depositándose principalmente en el hipocampo y la corteza cerebral. Estas se caracterizan por ser placas difusas, neuríticas con núcleo o compactas⁹⁷³. Se ha propuesto que las placas difusas evolucionan a placas con núcleo cuando existe una mayor afectación neuronal⁹⁷⁴.

Se sabe que en cerebros sanos se encuentran presentes pequeñas cantidades de A β ⁹⁷⁵, al igual que ocurre en las retinas normales tanto de modelos murinos como de humanos, aumentando estos depósitos con la edad^{876,976}. Este A β se acumula principalmente entre el segmento externo de los fotorreceptores y en la interfaz entre el EPR y la MB. El material extracelular que contiene A β parece acumularse inicialmente en la punta apical del segmento externo de los fotorreceptores, progresando con la edad a lo largo de su longitud. Por tanto, se establece el foco de acumulación en la interfaz del EPR y las puntas de los segmentos externos de los fotorreceptores, relacionando esta acumulación con la disminución de la capacidad fagocítica del EPR^{876,977}. El A β también se deposita en la red vascular de la retina interna y externa. Las formas más comunes de A β presentes en la retina y el EPR son los oligómeros de 22 a 36⁹⁷⁸.

Se ha identificado A β en las drusas de los ojos con DMAE, siendo este un componente vesicular subestructural dentro de las drusas⁹⁷¹. Además, estos depósitos eran específicos de las drusas de pacientes con DMAE, no encontrándose en pacientes sanos⁹⁷⁹ y siendo más frecuentes en ojos con un número moderado/alto de drusas, sugiriendo su relación con etapas más avanzadas de la DMAE⁹⁸⁰. Diferentes estudios se han realizado para dilucidar la estructura interna de las drusas, encontrándose estructuras como las “vesículas amiloides” que representan una proporción significativa del volumen total de las mismas⁹⁷¹. Estructuras similares a estas se han identificado en los cerebros de ratones transgénicos que expresan APP humana⁹⁸¹. Otros estudios han encontrado una amplia gama de estructuras amiloides presentes en las vesículas de las drusas, siendo los oligómeros no fibrilares los más abundantes, mientras que la corteza de las vesículas amiloides estaba compuesta por fibrillas amiloides maduras⁹⁸². La formación de fibrillas de A β está precedida por la formación de varios tipos de intermedios no fibrilares derivados de los oligómeros solubles de A β ⁹⁸³, los cuales se distribuyen de forma diferente del A β fibrilar en los cerebros de personas con EA⁹⁸⁴. En las drusas de pacientes con DMAE también se han demostrado la presencia de oligómeros tóxicos no fibrilares⁹⁸⁵. Además de las diferentes formas de A β anteriormente mencionadas se ha descrito la presencia de diferentes proteínas y lípidos en las drusas: vitronectina, componente P, ApoE, transtiretina, fracciones del complemento C3 y C5b9⁹⁸⁶. La mayoría de los investigadores señalan el hecho de que la A β , la ApoE, las proteínas del complemento encontradas en las drusas son los componentes de las placas seniles en la EA^{982,987}.

Se ha propuesto que la cantidad de drusas retinianas podrían estar relacionadas con la EA. Así un estudio realizado en tejido ocular *post mortem*, de pacientes sanos y con EA, y agrupándolos en pacientes jóvenes con edades menores de 55 y pacientes mayores de 55, reveló que los pacientes con EA tenían mayor cantidad de drusas duras en la región temporal que los ojos de sujetos sanos. Además, se encontró una relación estadísticamente significativa entre la gravedad de la angiopatía amiloide cerebral y el número de drusas duras⁹⁸⁸. En un estudio longitudinal de dos años de seguimiento, se observó un aumento del número de drusas en la periferia retiniana de un 25,4% en pacientes con EA, mientras que en pacientes sanos este aumento era tan solo de un 4,2%⁹⁸⁹.

En las retinas de pacientes y de modelos murinos de EA también se han demostrado acúmulos de A β , mediante técnicas de análisis de tejido *post mortem* y técnicas *in vivo*^{724,725,738,990}. En las retinas humanas se han identificado un aumento de péptidos de A β_{1-42} mediante análisis bioquímico, aunque en menor grado que los observados en tejidos corticales y, además, la presencia de pTau^{744,751,990}. En modelos animales de la EA, los depósitos de A β , se localizan principalmente en las capas más internas de la retina como la CCG y la CFNR^{724,744,750,987,991}. En muestras de retinas de pacientes con EA, la tinción para el A β es positiva en capas internas de la retina y dentro de los vasos sanguíneos, perivasculares y a lo largo de las paredes de los vasos, siendo estos depósitos de diverso tipo (incluidas placas clásicas, difusas y compactas)^{724,725}. También se observó una notable acumulación de A β dentro y alrededor de las CGRif degenerativas, reguladoras del ciclo circadiano⁷³⁸. Incluso en pacientes con sospecha de EA en estadio temprano, las placas de A β se teñían positivamente en la retina, correlacionándose cualitativamente con la gravedad del diagnóstico clínico⁷²⁴. *In vivo*, y mediante tinción con curcumina, los pacientes con EA mostraban un aumento de la fluorescencia de la curcumina donde se encontraban las placas de A β , que solía encontrarse por encima del EPR, en las capas externas de la retina y localizadas principalmente en la periferia⁷²⁵. La observación de las placas de A β mediante esta técnica se muestra en la Figura 20.

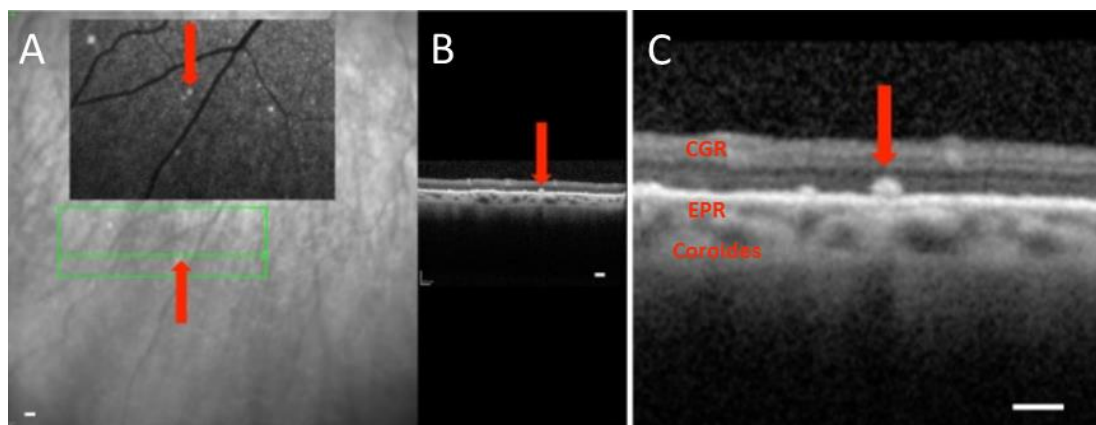


Figura 20. Observación de placas de A β en la retina de pacientes con EA (A) Fundografía de fluorescencia de curcumina que indica cierta placa retiniana de A β marcada con flecha roja. (B) Corte transversal de la OCT donde se muestra una placa de A β en las capas externas de la retina. (C) La imagen de OCT de gran aumento muestra un depósito de A β teñido por curcumina que se localiza por encima del EPR, manteniéndose este intacto. Tomada y modificada de Koronyo-Hamaoui et al., 2017 ⁷²⁵.

Los depósitos intracelulares de A β causan inflamación y degeneración de los axones de las neuronas de la retina, disfunción y destrucción de las sinapsis. El efecto citotóxico intracelular de A β se asocia con su capacidad para activar la principal proteína de la apoptosis-p53 que inicia directamente la cascada de caspasas, la vía de señalización dependiente del receptor y la vía de señalización mitocondrial de la muerte celular apoptótica ⁹⁴⁷.

Por lo que la clave de la patogénesis de la DMAE y la EA podría ser la agregación de A β subyacente a la citotoxicidad y la neurodegeneración de las neuronas en el tejido cerebral y la retina, incluyendo las células del EPR ⁹⁴⁷.

4. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

4.JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Tras la edad, dos de los factores genéticos más importantes para desarrollar la EA son: tener un familiar de primer grado afecto, es decir un padre o madre con EA, y ser portador de al menos un alelo $\epsilon 4$ para el gen del ApoE. Es conocido que la acumulación en el cerebro de placas de A β y de ovillos neurofibrilares puede iniciarse hasta 20 años antes de los primeros signos de la enfermedad. También se sabe que los cambios retinianos que ocasiona la EA aparecen antes que los cerebrales, pudiendo ser estos cambios analizados mediante pruebas oftalmológicas no invasivas.

Los test psicofísicos como son: la medida de la AV, la SC, la percepción del color, el TDP y la campimetría computarizada nos permiten conocer cuál es el estado de la función visual en diferentes áreas del procesamiento. Además, este tipo de test junto con las pruebas funcionales cerebrales como la MEG y la tactografía por RMN nos permiten conocer el estado de la conectividad y actividad neuronal de estos sujetos que no presentan aún signos de la enfermedad.

A nivel estructural, la OCT y la OCTA permiten la exploración de la retina, la coroides, así como la vascularización de ambos tejidos con una precisión micrométrica, posibilitando así encontrar cambios casi imperceptibles en otros tejidos afectados en la enfermedad. Además, la elevada reproducibilidad de estas pruebas nos permite realizar un seguimiento de estos cambios desde las etapas más preclínicas.

La relación entre el volumen y el grosor de áreas retinianas medidas mediante OCT y el volumen de ciertas áreas cerebrales analizadas mediante RMN, ha mostrado una alta correlación, lo que permite conocer su estado tanto en la salud como en la enfermedad. Por lo que estas técnicas en conjunto podrían ser útiles para conocer el estado de los sujetos en fases preclínicas de la enfermedad, incluso antes de la aparición de los primeros síntomas de demencia.

El progresivo envejecimiento de la población hace que la EA sea cada vez más prevalente, lo que implica un gran coste económico y de recursos humanos en países desarrollados. Esto hace que la búsqueda de nuevos biomarcadores no invasivos y costo-efectivos sea un gran desafío para la investigación. El desarrollo de nuevas tecnologías de análisis ocular nos puede permitir la búsqueda de nuevos biomarcadores en etapas preclínicas de la EA.

En concreto, nuestra hipótesis de trabajo es que la retina y la función visual podría actuar como un biomarcador temprano de posible neurodegeneración en pacientes que son

cognitivamente sanos, pero con tiene alto riesgo genético para desarrollar EA. Además, estas pruebas no invasivas, económicas y altamente reproductibles junto con las pruebas cerebrales clásicas, podrían emplearse para el seguimiento y monitorización de los cambios que sufren estos sujetos hasta el posible establecimiento enfermedad, así como en un diagnóstico en etapas muy precoces la enfermedad, donde nuevos fármacos podrían actuar frenando los cambios fisiopatológicos de esta.

5. OBJETIVOS

5.OBJETIVOS

5.1 Objetivo primario

- Detectar los posibles cambios que puedan aparecer en la vía visual y que pueden ser detectados mediante test psicofísicos oftalmológicos no invasivos, así como los posibles cambios retinianos, tanto estructurales como vasculares en una población de sujetos cognitivamente sanos, pero con alto riesgo para el desarrollo de la EA y compararlas con un grupo control, cognitivamente sano y sin factores de riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad.
- Detectar en esta población de sujetos cognitivamente sanos, pero con alto riesgo genético para el desarrollo de la EA, las correlaciones entre sus pruebas psicofísicas con los potenciales cerebrales medidos mediante MEG y las correlaciones entre los parámetros de las áreas retinianas medidas por OCT con los volúmenes de estructuras cerebrales medidas mediante RM comparándolas con un grupo control, cognitivamente sano y sin factores de riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad

5.2 Objetivo secundarios

- Analizar la AV de los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad.
- Analizar las posibles variaciones de la SC en las distintas frecuencias espaciales 3, 6, 12, 18 ciclos por grado en los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad.
- Analizar la percepción cromática de los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad.
- Analizar el procesamiento de la función visual mediante el TDP en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA comparado con el grupo control pareado por edad.
- Analizar la sensibilidad del campo visual en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA comparado con el grupo control pareado por edad.

- Analizar el espesor retiniano, tanto en el área macular como en el área peripapilar, en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad.
- Analizar el grosor coroideo en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA comparado con el grupo control pareado por edad.
- Analizar la zona avascular foveal del plexo superficial y profundo de los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad.
- Analizar la densidad vascular del área macular y peripapilar de los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad.
- Realizar la cuantificación y análisis descriptivos de los depósitos drusoides que aparecen en de los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA en comparación con el grupo control pareado por edad
- Analizar las correlaciones entre la AV y la SC con los potenciales cerebrales medidos mediante MEG.
- Correlacionar volúmenes y grosores de áreas retinianas tanto maculares como peripapilares con volúmenes de estructuras cerebrales medidas mediante RM.
- Analizar los cambios que pueden aparecer en las pruebas oftalmológicas tanto funcionales como estructurales en estos participantes a los 27 meses de la primera visita.

6.MATERIAL Y MÉTODOS

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Selección de pacientes y controles

Los participantes incluidos en esta tesis doctoral forman parte de un proyecto coordinado titulado “Caracterización cognitiva y neurofisiológica de sujetos de alto riesgo para el desarrollo de demencia: un estudio multidimensional”, con acrónimo (COGDEM) y con referencia PSI2015-68793-C3-1-R.

La segunda parte del proyecto se desarrolló mediante otro proyecto titulado “Estudio del conectoma anatómico-funcional de familiares de enfermos de Alzheimer: una propuesta de interés temprana cognitiva y de estudio de vida” con el acrónimo (CONNECT-AD).

El reclutamiento de pacientes para el proyecto fue llevado a cabo por el grupo del Hospital Clínico San Carlos (HCSC) y el grupo Cog-TRa. Los coordinadores principales fueron Alberto Marcos, Ramón López y Fernando Maestú. En esta tarea fueron involucrados 3 centros clínicos:

- Centro de Prevención del Deterioro cognitivo de Madrid Salud, Ayuntamiento de Madrid.
- El departamento de Neurología del HCSC. En la Unidad de Memoria de este departamento se evalúa a más de 3000 pacientes al año, por lo que tienen un contacto muy estrecho con los familiares de los pacientes con EA, lo que facilitó su reclutamiento.
- La Unidad de Memoria del departamento de Geriátrica del HCSC. Esta unidad evalúa a más de 4000 sujetos entre los que se encuentran ancianos cognitivamente sanos, sujetos con DCL y pacientes con EA. En esta unidad también tiene un fácil acceso a familiares de pacientes afectados por la enfermedad.

Los pacientes control fueron reclutados de diferentes fuentes. Por un lado, muchos de los pacientes que acudieron a alguno de los centros clínicos anteriores venían acompañados de un cuidador, que no era familiar directo del enfermo, y a los que se les dio la opción de participar como sujetos control. Además, se incluyeron anuncios informativos del estudio en diferentes instituciones como la fundación CIEN y el Colegio Oficial de Ingeniero de Telecomunicaciones de Madrid.

Los dos grupos de estudio principales fueron:

- Grupo con antecedentes familiares de EA (HF+): constituido por sujetos de mediana edad con al menos un progenitor con EA esporádica. Estos sujetos no presentaron antecedentes de trastornos neurológicos o psiquiátrico, ni tenían ninguna enfermedad grave.

Para el diagnóstico de EA en el progenitor, los registros médicos de los padres fueron revisados por un panel de consenso diagnóstico multidisciplinar. Además, los diagnósticos fueron revisados por expertos del HCSC para seleccionar aquellos diagnósticos de EA que se realizaron bajo criterios aceptados internacionalmente. Los informes de autopsia verificados por patólogos eran aceptados, pero la no presentación de este no podía ser un criterio de exclusión, ya que en la mayoría de los pacientes con EA no se realiza este procedimiento.

En este grupo de estudio no se incluían familias con mutaciones autosómicas dominantes conocidas como son las PSEN1 y PSEN2.

- Grupo control, sin antecedentes familiares de EA (HF-): constituido por sujetos de mediana edad en los que se determinó la ausencia de antecedentes familiares de primer grado de EA a través de un cuestionario detallado sobre su historia clínica. Los sujetos que formaron parte de este grupo de estudio no podían tener trastornos neurológicos o psiquiátricos, ni ninguna condición médica grave.

Los participantes de ambos grupos de estudio debían mostrar puntuaciones normales en las pruebas neuropsicológicas tradicionales, como es una puntuación igual o superior a 26 en el MMSE. También mostraron una RMN normal sin evidencias de lesiones vasculares, tumores u otros signos de lesión o patología cerebral.

Antes de la inclusión en el estudio, todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito (Anexo 1). Todos los participantes debían estar dispuestos y ser capaces de someterse a los diferentes procedimientos y estar de acuerdo con el seguimiento longitudinal.

Ambas partes del proyecto han seguido la declaración de Helsinki y los estudios fueron aprobados por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos con nº interno 15/382-E_BS y nº interno.18/422-E_BS. (Anexos 2 y 3).

Con los participantes de estos dos grupos se constituyó una base de datos de 251 sujetos.

Además, a los sujetos del estudio se les realizó un genotipado para la ApoE, para la que se extrajo ADN de muestras de sangre en ácido etilendiaminotetraacético de los sujetos de los grupos HF+ y HF-. El estudio se detectó utilizando la tecnología de ensayo TaqMan en una máquina de PCR en tiempo real rápido 7500 de Applied Biosystems (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.). Los alelos de ApoE se determinaron analizando dos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), genotipos rs7412 y rs429358, con los ensayos de genotipado TaqMan (C___904973_10 y C___3084793_20, respectivamente).

Desde las instalaciones de la Clínica el Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo, donde se llevó a cabo los exámenes oftalmológicos, nos pusimos en contacto telefónico para asignarles una cita. Durante la llamada aprovechamos para realizar un pequeño screening telefónico. Las preguntas que se les realizaba a los pacientes pueden ser encontradas en la Tabla 2.

Tabla 2. Preguntas de Screening oftalmológico realizado a los participantes del estudio COGDEM.

Preguntas de Screening telefónico
¿Utilizas gafas? SI/NO
¿Sabe si tienes miopía, hipermetropía o astigmatismo? SI/NO
¿Sabes cuantas dioptrías tienes? SI/ NO
¿Tienes alguna patología ocular? SI/NO
¿Está bajo algún tipo de tratamiento ocular? SI/NO
¿Ha sido sometido a algún tipo de cirugía ocular? SI/NO

6.2 Criterios de inclusión y exclusión oftalmológicos

6.2.1 Criterios de inclusión

Tanto el grupo de familiares como el grupo sin historia familiar no debían presentar ningún tipo de problema cognitivo y la puntuación del MMSE debía ser igual o superior a 26.

Los criterios de inclusión oftalmológicos fueron los siguientes:

- PIO < 20 mmHg
- Sin patología ocular
- Sin malformaciones oculares congénitas

6.2.2 Criterios de exclusión

- Agudeza visual inferior a 0,6
- Tener un error refractivo esferocilíndrico superior a ± 5 dioptrías
- Padecer glaucoma o sospecha del mismo

6.3 Protocolo de obtención de datos

Todos los exámenes oftalmológicos de los pacientes se llevaron a cabo en la clínica del Instituto de Investigaciones oftalmológicas Ramón Castroviejo, situada en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid.

El examinador fue el mismo en todos los casos y a todos los pacientes se les realizó una exploración oftalmológica completa que incluía:

- **Historia clínica:** en la que se incluía los antecedentes familiares de la EA, antecedentes oftalmológicos (cirugías previas, traumatismos, tratamientos oftalmológicos previos o que estuvieran en curso), y patologías sistémicas tales como diabetes, hipertensión arterial o colesterol, además de otras enfermedades que precisaran medicación en el momento del examen.
- **Determinación de la AV y refracción.** La refracción objetiva de los pacientes se obtuvo mediante el refractómetro automático (AR-610; Nidek, Tokio, Japón) . Además, se comprobó la graduación de aquellos pacientes que tenían gafas midiendo la graduación de la misma con el frontofocómetro automático (CL-100, Topcon Lensmeter Tokio, Japón). Posteriormente se comprobaba la AV que alcanzaban los pacientes con su gafa (en el caso de que tuvieran). Por último, se les realizaba una graduación subjetiva con gafa de prueba con el fin de que alcanzaran su mejor AV. Entonces se tomaba su mejor agudeza visual corregida.
- **Biomicroscopia** anterior mediante lámpara de hendidura (Haag-Streit 900, Bern, Suiza)
- **Campimetría computerizada** mediante campímetro Humphrey740i (Zeiss Meditec, Alemania).
- **Test de percepción del color** Farnsworth Roth 28-hue (Luneau, París).
- **Test Digital de Percepción (TDP)** (Rami et al.)⁸³⁶
- **Estudio de la sensibilidad al contraste** con el test CSV-1000E (VectorVision, Greenville, OH)
- **Medición de la PIO** con tonómetro de aplanación (tonómetro de mano Perkins tipo MK2, Clement Clarke International, Essex, Inglaterra).
- **OCT Spectralis®** (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemania) con el módulo OCT2 y el módulo de angiografía.

6.4 Descripción de las pruebas

6.4.1 Mini Mental State Examination

A cada participante que acudía a la consulta oftalmológica se le realizaba este test como cribado rápido para conocer el estado cognitivo de los participantes en el momento que acuden a la revisión oftalmológica.

Mediante este test se evalúan características esenciales como son la orientación espacio-temporal, capacidad de atención, memoria, concentración, capacidad de abstracción, capacidades lingüísticas, capacidades de seguir instrucciones básicas y percepción visoespacial.

Para llevar a cabo la prueba no se limitó el tiempo de respuesta de los sujetos, siendo puntuada de 0 a 30 y descartándose aquellos sujetos con una puntuación por debajo de 26 puntos.

6.4.2 Genotipado del ApoE

El genotipado del ApoE fue realizado por la Dra. Ana Barabash en el departamento de Endocrinología y Nutrición del Hospital clínico San Carlos.

El ADN genómico se extrajo de muestras de sangre de 10 ml en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) utilizando métodos estándar de aislamiento de ADN (DNAzol®; Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, EE.UU.) Dos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), rs7412 y rs429358, se genotipificaron mediante ensayos de genotipificación TaqMan en un instrumento de PCR rápida en tiempo real Applied Biosystems 7500 (Applied Biosystems, Forster City, CA, EE.UU.). En consecuencia, se establecieron los haplotipos de ApoE. En cada ensayo se incluyeron controles de muestra negativos y controles de muestra para cada genotipo. Se incluyeron varios duplicados intra e interplaca de muestras de ADN.

6.4.3 OCT Spectralis para medida del grosor de la mácula segmentada en capas, la capa de fibras nerviosa en el área peripapilar y el espesor de la coroides

La OCT de Spectralis se caracteriza por combinar las modalidades de imágenes de fondo de ojo con un confocal láser de barrido (cSLO) con imágenes de OCT de dominio espectral (SD-OCT) simultáneamente. El principio confocal minimiza los efectos de dispersión de la luz para producir imágenes de alto contraste y detalle, mientras que la tecnología SD-OCT proporciona imágenes de OCT bidimensionales de alta resolución de la retina. Además, la SD-OCT ofrece mayor calidad

de imagen desde el vítreo hasta la coroides, una velocidad de exploración de 85 kHz y una resolución lateral de 6 micras lo que permite la visualización de estructuras vasculares y haces de fibras nerviosas.

Este equipo cuenta con un sistema de seguimiento ocular activo que recibe el nombre de *TruTrack Active Eye tracking*. Esta tecnología utiliza dos sistemas de escaneo láser simultáneamente para realizar un seguimiento activo del ojo en tiempo real durante la adquisición de la imagen. Esta tecnología mitiga los efectos del movimiento del ojo, y por tanto proporciona imágenes de OCT de alta resolución y crea un mapa de la retina cada vez que se toman imágenes de una paciente. Este mapa es empleado por la función *AutoRescan* para colocar automáticamente las exploraciones de seguimiento en la misma ubicación que la exploración de referencia, eliminando la colocación subjetiva del operador. Con esta función se pueden supervisar los cambios a lo largo del tiempo con una precisión micrométrica.

6.4.3.1 Análisis del grosor macular y peripapilar

Para el análisis del grosor de cada una de las capas de la retina en el área macular y de la CFNR peripapilar se utilizó el módulo *Glaucoma Premium Edition*. Este módulo ofrece un sistema de posicionamiento anatómico (APS) basado en dos puntos fijos: el centro de la fovea y el centro de la abertura de la membrana de Bruch. En la cabeza del nervio óptico, se adquirió un escaneo radial de alta resolución de 4 líneas y escaneos de tres círculos, ambos centrados en la BMO, para proporcionar resultados de espesor de RNFL altamente reproducibles. En la zona macular, que se centró en el APS del Módulo de Glaucoma Premium, se realizaron 121 B escaneos densos por ojo.

El grosor total de la retina y el grosor de cada capa retiniana en la zona macular se midieron con el software de segmentación de Heidelberg (Heidelberg, Alemania, versión 1.10.4.0). Esta segmentación fue comprobada por el mismo optometrista y modificada manualmente si era necesario. Se analizaron los grosores de las siguientes capas de la retina: capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR), capa de células ganglionares (CCGR), capa plexiforme interna (CPI), capa nuclear interna (CNI), capa plexiforme externa (CPE), capa nuclear externa (CNE) y epitelio pigmentario de la retina (EPR). Los anillos maculares interno y externo se analizaron según la cuadrícula macular estándar del Estudio de Retinopatía Diabética de Tratamiento Temprano (ETDRS) (un área foveal de 1 mm de diámetro, 1-3 mm alrededor de la fovea en el anillo interno y 3-6 mm para el anillo externo). El grosor del CFNR peripapilar (pCFNR) se midió en seis sectores (nasal, supero-nasal, infero-nasal, temporal, supero-temporal, infero-temporal), obteniendo también una media sobre todos los sectores (Global). Según la calibración proporcionada por los fabricantes, las mediciones se dieron en micras. Se escanearon ambos ojos de cada sujeto,

pero en este estudio sólo se utilizó un ojo de cada participante elegido al azar. Las exploraciones se llevaron a cabo en una sala a oscuras, para que la pupila dilatara levemente. Los escaneos de alta calidad se definieron por una relación de señal/ruido de 25 y un promedio de 16 β -Scan. La segmentación del área macular y del área peripapilar así como las capas de la retina analizadas en el área macular pueden observarse en la Figura 21.

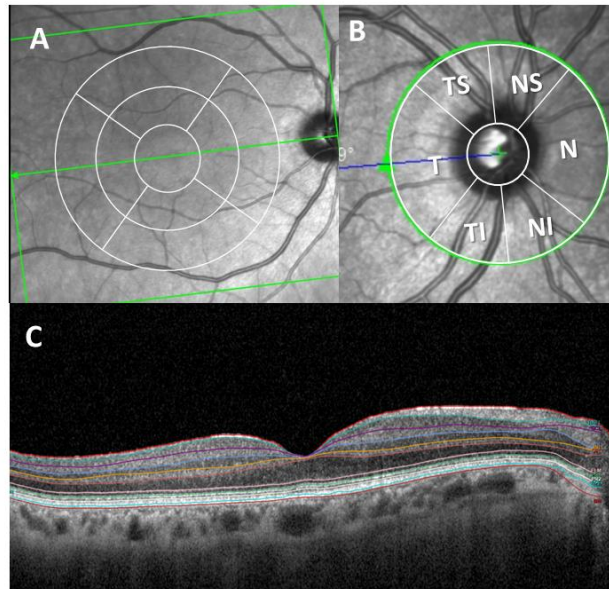


Figura 21. Análisis del área macular y del área peripapilar mediante OCT. A) Análisis macular mediante anillos concéntricos y sectores. B) Análisis del área peripapilar en sectores. C) Segmentación de todas las capas de la retina del área macular. (TS: temporoal-superior; NS: nasal superior, N: nasal, NI: nasal inferior, TI: temporoal-inferior, T: temporal). Tomada de López-Cuenca et al. 2020⁸⁵⁰.

La clasificación de los participantes por grupos se puede observar en la Figura 22.

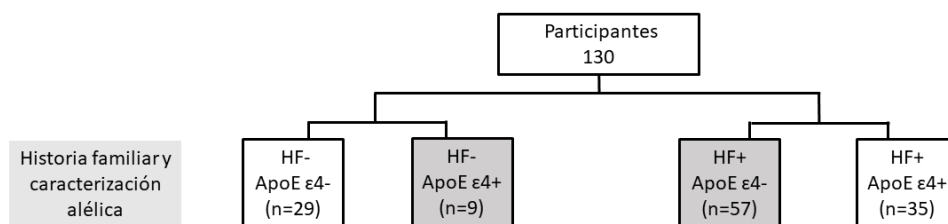


Figura 22. Diagrama de flujo de participantes incluidos en el estudio del grosor macular y de la CFNRp. En tono gris aquellos grupos que no se muestran en los resultados.

6.4.3.2 Análisis del espesor coroideo

El espesor de la coroides se delimitó manualmente y de forma perpendicular a la retina con la herramienta de medición que tiene el propio software de Heidelberg. El espesor coroideo se midió desde la línea hiperreflectante externa del EPR hasta la superficie interna de la esclera.

Se realizó una medida subfoveal y desde ese y 3 medidas más cada 500 micras en los sectores superior, inferior, nasal y temporal. Así se obtiene una cruz de 13 medidas a 500, 1000 y 1500 μm . Las medidas se han realizado como se indica en la Figura 23.

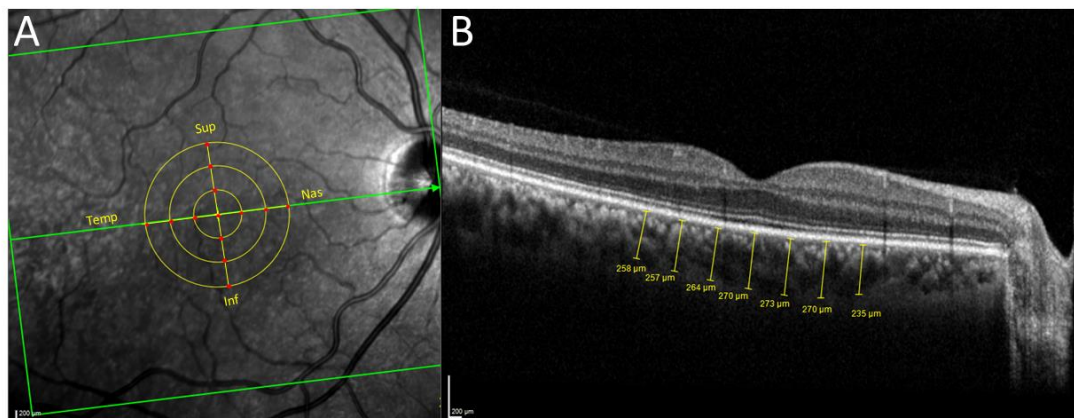


Figura 23. Análisis del grosor coroideo. A) Los punto rojos indican donde se realizaron las mediciones del grosor coroideo. Sup: superior, Nas; Nasal, Inf: inferior y Temp: temporal. B) Medidas del grosor coroideo (μm). Tomada de López-Cuenca et al.2021⁹⁹².

El análisis del grosor coroideo se llevó a cabo en 184 participantes y en la Figura 24 se muestra el diagrama con los diferentes subgrupos del estudio.

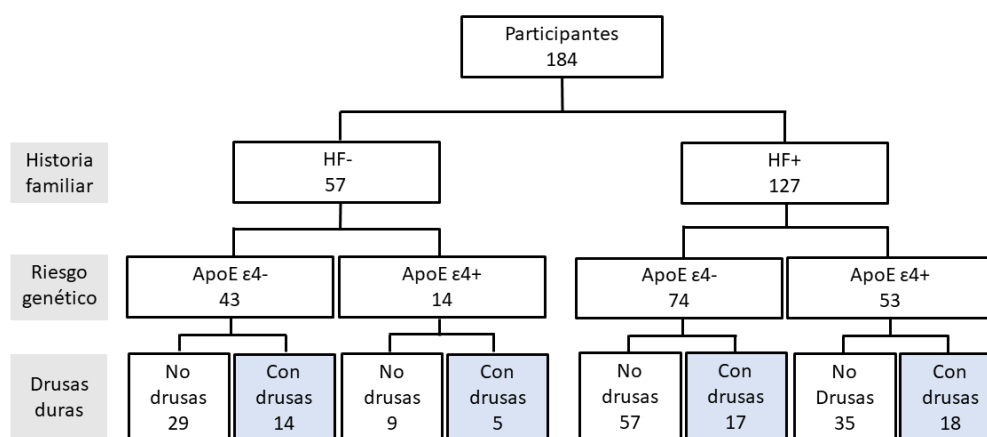


Figura 24. Diagrama de flujo de los participantes que fueron incluidos en la medida del grosor coroideo y ZAF clasificados por grupos de estudio. En azul aquellos grupos que presentaban drusas duras

6.4.4 OCT para la caracterización de las drusas retinianas duras

En la OCT las drusas duras fueron identificadas como formas hiperreflectantes en las imágenes de fondo de ojo de alta reflectancia (HRA) (Figura 25 A) y como material hiperreflectante que se

ubicaba entre la lámina basal del EPR y la capa interna de colágeno de la membrana de Bruch en los escáneres transversales de la OCT. En estos mismos Scans y con el Software de la propia OCT se llevó a cabo la medida de estas como puede observarse en la Figura 25 B. Para la toma de medida se trazó una línea vertical entre la lámina basal del EPR y el punto más elevado de la cúpula de la drusa que coincide con la capa interna de colágeno de la membrana de Bruch.

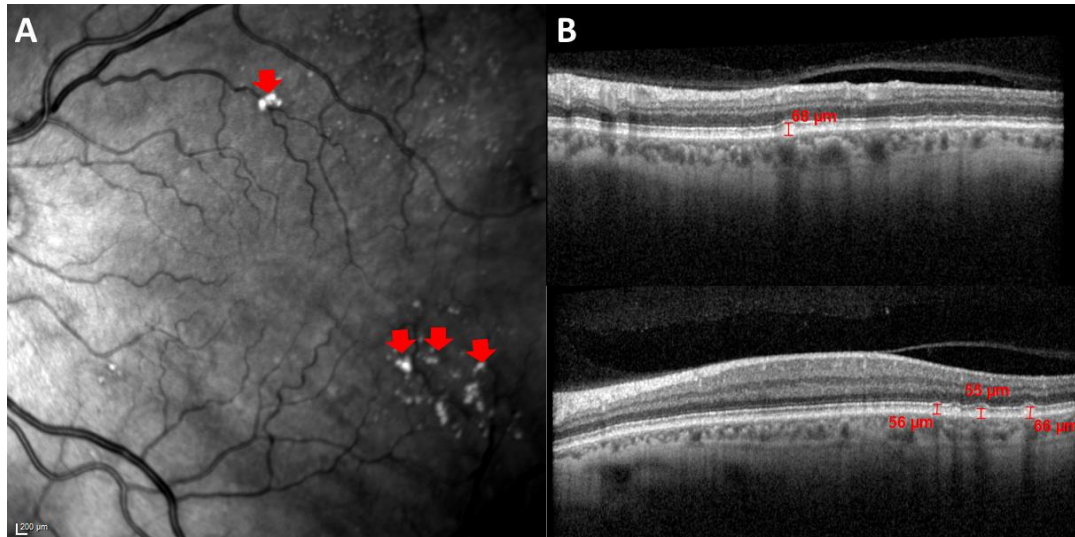


Figura 25. Análisis de las drusas mediante OCT. (A) Imagen HRA del fondo de ojo. Las flechas rojas señalan formas hiperreflectantes. (B) OCT transversal- Escáneres transversales donde se muestra las medidas de las drusas en μm . Este acumulo de material hiperreflectivo se localiza entre la lámina basal del EPR y la capa interna de colágeno de la membrana de Bruch.

La clasificación de estas drusas se llevó a cabo en base a las directrices del *Protocolo de diagnóstico, seguimiento y recomendaciones generales en la degeneración asociada a la edad (DMAE) precoz e intermedia: consenso de un panel de expertos*⁹⁹³.

Siguiendo estas directrices las drusas pueden clasificarse por su disposición, localización, tamaño y tipo de drusa. En la Tabla 3 siguiente encontramos un resumen de los criterios para la clasificación de estas.

Tabla 3. Criterios de clasificación de las drusas retinianas según el Protocolo de diagnóstico, seguimiento y recomendaciones generales en la degeneración asociada a la edad (DMAE) precoz e intermedia: consenso de un panel de expertos ⁹⁹³

Disposición	Localización	Tamaño de la drusa
Unilateral	Foveal: localizadas debajo de la fovea	Pequeña ($\leq 63 \mu\text{m}$)
Bilateral	Macular: localizada en el área macular entre las arcadas vasculares	Mediana (>65 y $\leq 125 \mu\text{m}$)
	Periférica: localizada fuera de las arcadas vasculares	Grande ($>125 \mu\text{m}$)
	Macular +periférica: Combinación de las anteriores	

En todos los pacientes contabilizamos el número total de drusas y la media de la medida se tomó como la media de la medida de diferentes drusas hasta un máximo de 10.

La clasificación y medida de estas drusas se realizó “a ciegas” para evitar que la información sobre la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$, así como los factores de riesgo cardiovascular pudieran influenciar en las medidas realizadas.

La clasificación de los pacientes puede encontrarse en la Figura 26. En primer lugar, clasificamos a los participantes en dos grupos de estudio por la historia familiar de EA (HF- o HF+). En segundo lugar se subdividieron los grupos según el genotipo del gen ApoE (ApoE $\epsilon 4$ - y ApoE $\epsilon 4$ +). Además, se analizaron los grupos, teniendo en cuenta ambos alelos del gen ApoE, con los siguientes grupos: ApoE $\epsilon 2\epsilon 2$, ApoE $\epsilon 2\epsilon 3$, ApoE $\epsilon 2\epsilon 4$, ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$, ApoE $\epsilon 3\epsilon 4$ y ApoE $\epsilon 4\epsilon 4$.

Por último, se subdividió teniendo en cuenta también los factores de riesgo vascular (hipercolesterolemia (HCL), hipertensión arterial (HTA) y diabetes) (Figura 26).

La información sobre el estado cardiovascular de los pacientes se extrajo de una anamnesis completa. Se preguntó a los participantes si tenían y estaban en tratamiento por HCL, HBP o diabetes. Debido a la detallada clasificación de los participantes, no se realizaron estadísticas para grupos con menos de 6 sujetos.

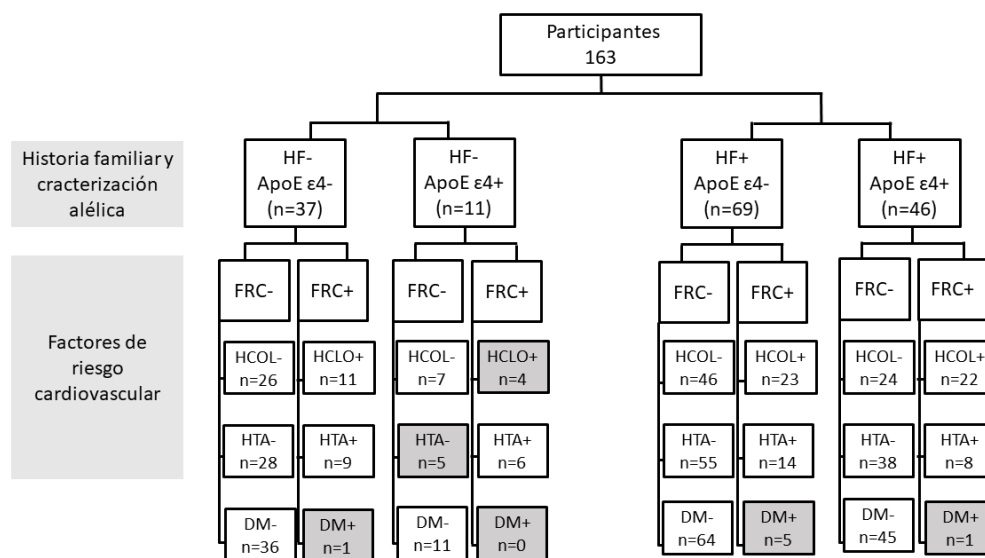


Figura 26. Diagrama de flujo de los participantes incluidos en la caracterización de las drusas clasificados por grupos. Aquellos grupos que tenían un n<6 fueron descartados del análisis estadístico y aparecen en color gris en el diagrama.

6.4.5 OCTA para análisis de las zonas avasculares superficial y profunda, y la densidad vascular.

Para las imágenes de OCTA se empleó el módulo de angiografía de la OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Alemania). Este módulo ofrece imágenes con una resolución lateral de 5,7 μm por píxel, facilitando una evaluación más detallada y segura de las anomalías vasculares a nivel capilar. Además, la alta resolución axial de 3,9 μm/píxel permite distinguir los diferentes plexos vasculares retinianos /plexo retiniano superficial, plexo retiniano profundo y coriocapilar.

En nuestro estudio el área macular se analizó con un ángulo de 15°x15° y una resolución lateral de 5,7 μm/píxel, lo que dio lugar a una sección retiniana de 2,9 × 2,9 mm. Para la obtención del área peripapilar, el estímulo fue movido a la lámpara flexible de fijación externa para centrar el área peripapilar del sujeto y para la adquisición de la imagen se empleó un ángulo de 10°x10°, una resolución de 5,7 μm/píxel, dando lugar a una sección retiniana de 2,9 x1,9 mm.

6.4.5.1 Análisis de las zonas avasculares foveales

Las áreas de las zonas avasculares foveales (ZAF) de los pacientes, tanto del plexo superficial como del plexo profundo, fueron delimitadas manualmente con la herramienta de medición de área que incluye el software Heidelberg (Figura 27).

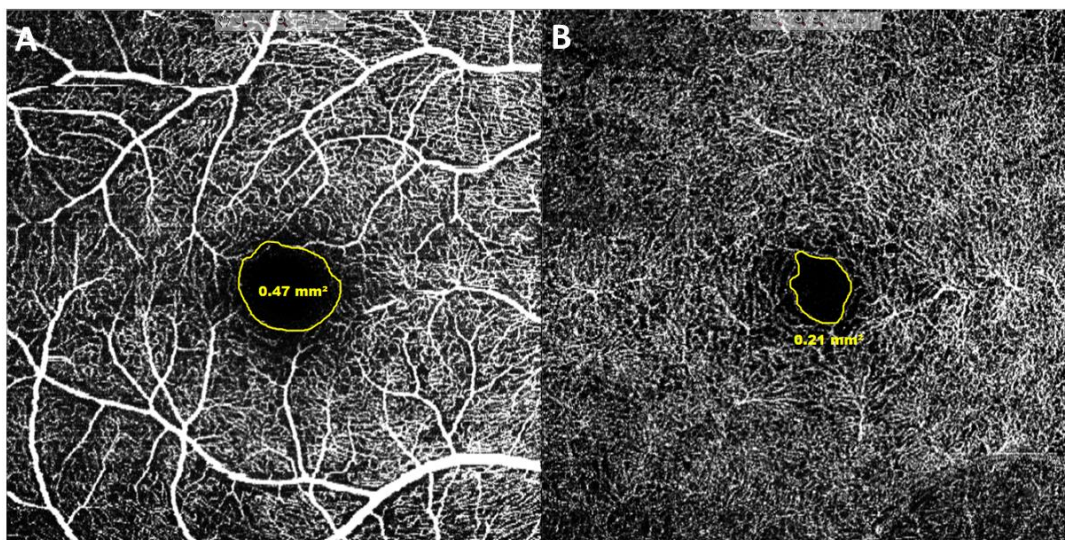


Figura 27. Medidas de las ZAF mediante OCTA. (A) OCTA del plexo superficial con el área avascular delineada de color amarillo. (B) OCTA del plexo profundo con el área avascular delineada de color amarillo.

Para el estudio se clasificó a los participantes teniendo en cuenta la HF, la caracterización alélica para el ApoE $\epsilon 4$ y la presencia o ausencia de drusas duras como se muestra en la Figura 24.

Para el análisis de la densidad y otros parámetros vasculares del área macular y peripapilar se emplearon dos programas de análisis de imágenes diferentes, siendo los escaneos revisados para detectar artefactos o sombras, y descartando las imágenes que los presentaran antes de ser analizadas.

6.4.5.2 Análisis vascular con el programa AngioTool

Por un lado, empleamos el programa AngioTool, en la versión 0,6 a, el cual es un software ligero para el análisis cuantitativo de la angiogénesis. Este software, que es de código abierto y se distribuye como un ejecutable de Windows, está escrito en Java y aprovecha un ImageJ de código abierto, software que permite el procesamiento y análisis de imágenes (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>), y varios complementos de ImageJ, Mines Java Toolkit, Apache POI, el cual es compatible con Excel y JIDE Common Layer. El programa muestra una interfaz sencilla con botones en la parte superior y dos pestañas con controles para ejecutar el análisis y personalizar tanto la salida de resultados como de imagen (

Figura 28 A).

Las imágenes obtenidas por la OCTA se caracterizan por mostrar la vascularización retiniana en color blanco sobre un fondo oscuro, haciendo que estas sean compatibles con este programa.

Para poder analizar estas imágenes estas fueron extraídas del visor de imágenes de Heidelberg en formato TIF y se recortó el área de análisis (

Figura 28 B). La segmentación de los perfiles de los vasos se logra utilizando un filtro rápido multiescala de mejora basado en una matriz Hessiana^{994,995}. Las imágenes se convierten primero en un núcleo gaussiano recursivo rápido y en estructuras tubulares y luego se calculan en base a una combinación de los valores propios de la matriz hessiana 2D. La relación de los vasos se calcula para un conjunto de escalas (sigmas, que denotan la anchura estándar del filtro gaussiano y se interpretan como el diámetro del vaso en la interfaz gráfica del usuario) elegidas por el usuario (

Figura 28 C). Tras la segmentación, los vasos se esqueletizan y se analizan. Al finalizar el análisis, la imagen resultante muestra una superposición que indica el área que abarca todos los vasos, una representación esquelética de la red vascular y los puntos de ramificación calculados dentro de esta área (

Figura 28 D). Esta imagen se guarda junto con un archivo de Excel que contiene los parámetros de análisis y los resultados calculados (

Figura 28E). Se calculan varios parámetros morfométricos, como la longitud total y media de los vasos, la densidad de puntos de ramificación y la densidad vascular Tabla 4. Algunas métricas se normalizan con respecto al área de la zona convexa que contiene la región cubierta por los vasos, lo que permite comparar redes vasculares de distinto tamaño. Además, se ha implementado un algoritmo rápido de recuento de cajas para el cálculo de la lacunaridad, un índice de no uniformidad estructural vascular, que se presenta como la lacunaridad media en todos los tamaños de caja. AngioTool ha implementado las nuevas características de concurrencia incluidas en Java 7 para acelerar las tareas de cálculo intensivo que permiten el análisis en tiempo real de las redes vasculares en sistemas multinúcleo. Además, el tiempo de análisis se reduce significativamente a medida que aumenta el número de unidades centrales de procesamiento del sistema utilizado.

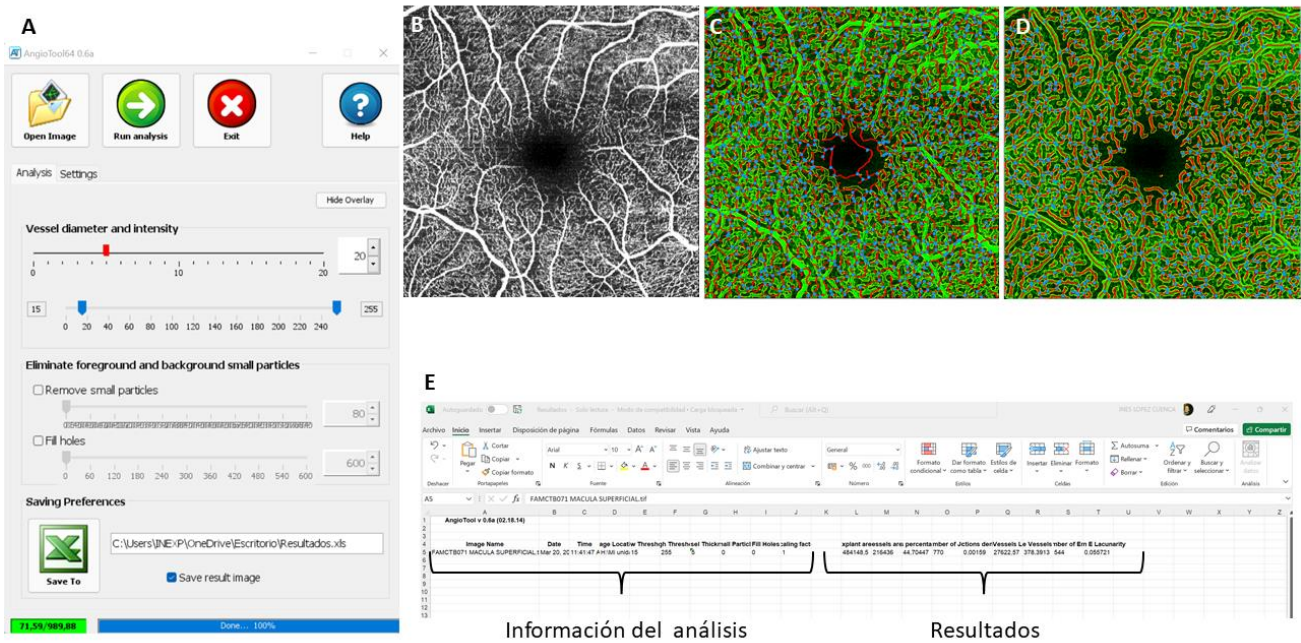


Figura 28. Análisis de imagen con el software AngioTool. A) Interfaz del programa para los usuarios. B) Imagen de OCT extraída del visor de imágenes de Heidelberg en formato TIF y recortada para el análisis. C) Segmentación y esqueletización de los vasos. D) Imagen resultante del análisis que muestra una superposición que indica el área que abarca todos los vasos, una representación esquelética de la red vascular y los puntos de ramificación calculados dentro de esta área. E) Archivo de Excel con los parámetros del análisis y los resultados del mismo.

Para AngioTool un vaso es definido tras la segmentación como un segmento entre dos puntos de ramificación o un punto de ramificación y un punto final^{996,997}.

Tabla 4. Resumen de los parámetros relacionados con la vascularización retiniana calculados por AngioTool.

Parámetro analizado	Descripción
Área de exploración (mm²).	Área ocupada por la cubierta convexa que contiene los vasos en la imagen
Área ocupada por los vasos (mm²)	Área de los vasos segmentados
% de área ocupada por los vasos	Porcentaje de área ocupada por los vasos dentro del área de la exploración
Número total de uniones	El número total de uniones de vasos en la imagen
Índice de ramificación	El número de uniones de vasos normalizado por unidad
Longitud total de los vasos(mm)	La suma de las distancias euclidianas entre los píxeles de todos los vasos de la imagen
Longitud media total de los vasos	Longitud media de todos los vasos de la imagen
Número total de puntos terminales	Número de segmentos abiertos
Lacunaridad	Se define como la falta de uniformidad de los vasos, evaluando la variación en la densidad de masa de píxeles de primer plano y de fondo en una imagen

El análisis vascular se realizó tanto en el área macular (plexo vascular superficial y profundo) y en el área peripapilar, analizando la vascularización peripapilar radial.

6.4.5.3 Análisis vascular con el programa Erlangen-Angio-Tool

Erlangen-Angio-Tool ([EA-Tool] versión 1.0) realiza múltiples segmentaciones lo que permite analizar la densidad de los vasos. El software está codificado en MATLAB, pero presenta una interfaz gráfica de usuario lo que permite trabajar de forma independiente al programa. En esta pantalla el usuario escoge los parámetros con los que se va a realizar el examen como son el ojo y el plexo vascular analizado, así como, los ajustes de segmentación o el directorio donde se va a guardar el Excel con los datos cuantitativos (Figura 29 A). Las imágenes de OCTA tanto del plexo superficial como del plexo profundo maculares y el plexo capilar peripapilar se

exportaron a la aplicación como imágenes en formato PNG y se analizaron por separado. En primer lugar, se generó una imagen binaria en la que cada pixel de un vaso era de color blanco y cada pixel del tejido era de color negro. Para definir un “pixel de vaso”, la imagen original se convino con un filtro de vasos de Frangi, basado en el análisis de valores propios de la respuesta del filtro de imagen multiescala de Hessian^{998,999}, en esta imagen infrarroja, el usuario debe delimitar manualmente el área de análisis (Figura 29 B). Tras la segmentación, el centro de la región macular, se marca manualmente por el usuario. Por lo tanto, el centro de la mácula se marca por una rejilla geométrica y se confirma manualmente con un retículo con un punto de mira que definía 4 cuadrantes iguales de la ZAF en las imágenes de OCT-A en fase (Figura 29 C). La imagen resultante se binariza utilizando el algoritmo de umbralización de Otsu¹⁰⁰⁰ (Figura 29 D). La región de interés (ROI) se define como 4 anillos concéntricos (C0,C1,C2 y C3), que a su vez se subdividen en 12 sectores (S1-S12) de 30° cada uno. Para el análisis se fijó que el diámetro del anillo interior tenía un radio de 0,40 mm y el anillo exterior tenía un radio de 1,45 mm, dando lugar a un área total analizada de 6,1mm² (Figura 29).

Para el análisis estadístico de los datos, el anillo C0 fue eliminado ya que coincidía el área macular con la zona avascular foveal y el nervio óptico con la excavación y la salida de los grandes vasos.

El programa genera una gráfica de barras con el porcentaje de la densidad vascular en cada sector y los datos también se guardan en un Excel como se muestra en las Figura 29 F y G .

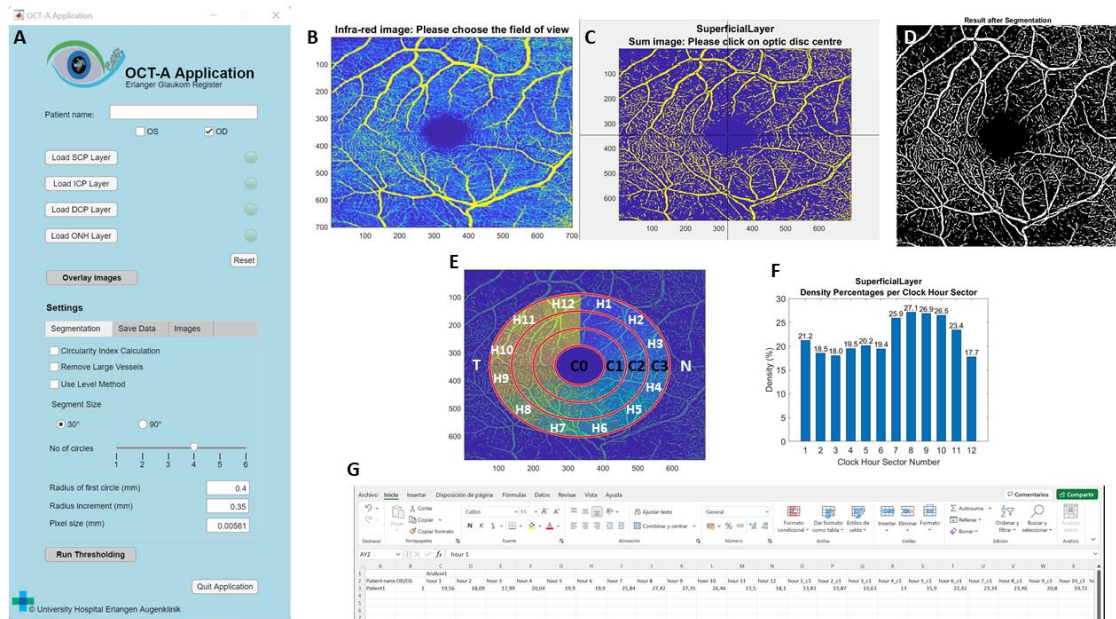


Figura 29. Análisis de la densidad vascular mediante Erlangen-Angio-Tool software. A) Interfaz del usuario. B) Imagen infra-rojo donde el usuario debe delimitar el área de análisis. C) Selección manual del centro de la macula o del nervio óptico que se marca por una rejilla geométrica y se confirma manualmente con un retículo y con un punto de mira. D) Imagen resultante tras la segmentación. E) Segmentación en anillos concéntricos y sectores horarios en los que se lleva a cabo el análisis del porcentaje de la densidad vascular. F) Gráfico de barras que proporciona el programa cuando se lleva a cabo el análisis de los resultados. G) Salida de los resultados cuantitativos en programa Excel.

Las Figura 30 y la Figura 31 muestran la clasificación de los participantes en los diferentes grupos de estudio según la HF de la EA, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y los factores de riesgo cardiovascular.

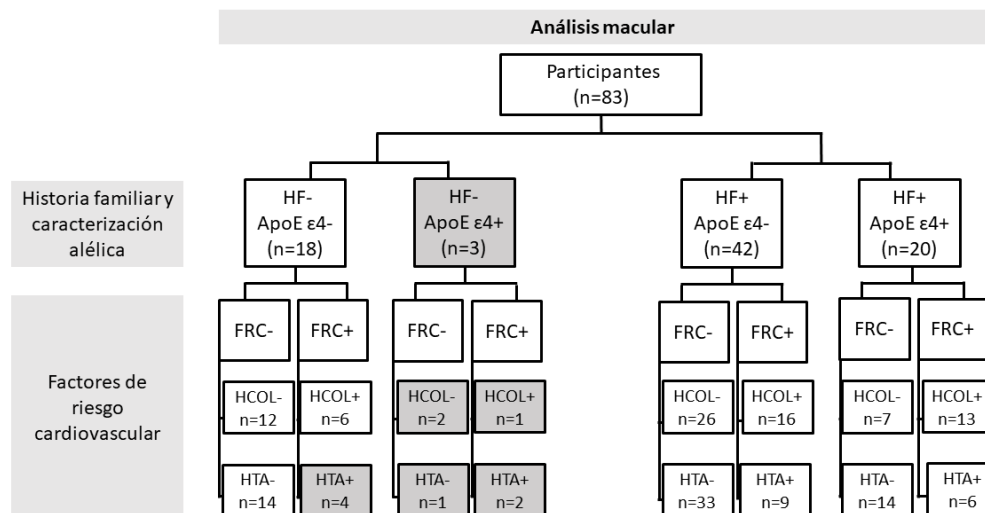


Figura 30. Diagrama de flujo de los participantes clasificados por grupos para el estudio de la red vascular macular. En tonos gris aquellos grupos que no fueron analizados por tener un número de participantes inferior a 6.

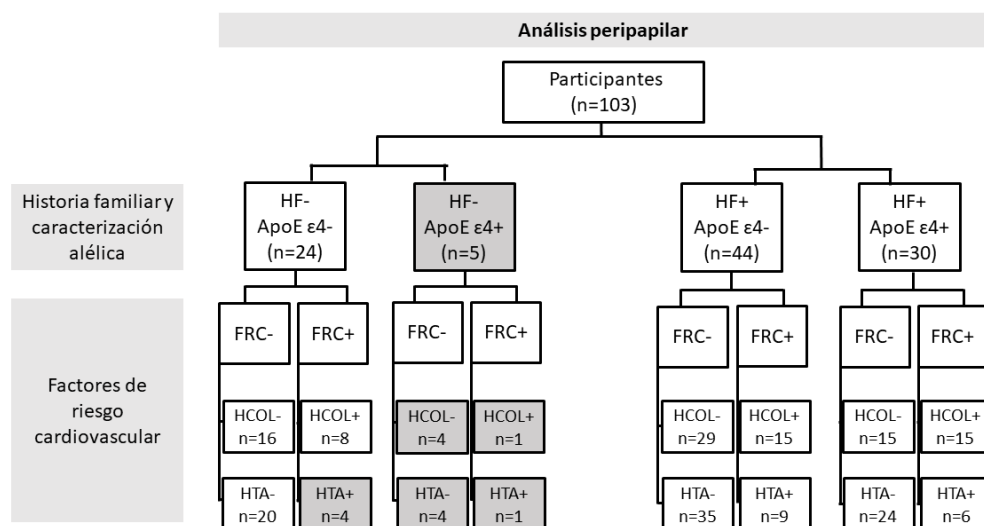


Figura 31. Diagrama de flujo de los participantes clasificados por grupos para el estudio de la red vascular peripapilar. En tonos gris aquellos grupos que no fueron analizados por tener un número de participantes <6.

6.4.6 Resonancia magnética

Las resonancias magnéticas de los pacientes fueron realizadas en el departamento de diagnóstico por imagen del Hospital Universitario Clínico San Carlos y su análisis fue realizado por el departamento de neurología del mismo hospital. Estos análisis fueron realizados por los Dr. Alberto Marcos Dolado y Dr. Miguel Yus Fuertes y sus respectivos equipos de los servicios de Neurología y Diagnóstico por imagen respectivamente.

Para cada sujeto, se adquirió la RMN utilizando un escáner de 1,5 Tesla (General Electric Medical Systems, Waukesha, WI, EE.UU.) modelo con HDxt release 16.0 y una bobina de cabeza de alta resolución de ocho canales. Además de la secuencia isotrópica T1 ponderada por 1 mm³ de eco de gradiente rápido en 3D de toda la cabeza, la secuencia T2 ponderada por 1,6 mm de espesor CUBE FLAIR y la secuencia T2 de eco de gradiente en 2D, también se obtuvieron imágenes DTI.

A partir de las secuencias 3DT1 de cada individuo, tras una revisión de la calidad de la imagen, se extrajeron medidas regionales seleccionadas de volumen y grosor cortical con la suite de análisis de imágenes Freesurfer (versión 6.0), que está documentada y disponible gratuitamente para su descarga en línea (<http://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>). Brevemente, este procesamiento incluye la corrección de movimiento y el promediado ¹⁰⁰¹ de las imágenes volumétricas ponderadas en T1, la eliminación del tejido no cerebral utilizando un procedimiento híbrido de watershed/deformación de la superficie ¹⁰⁰², la transformación

automatizada de Talairach, la segmentación de la materia blanca subcortical y las estructuras volumétricas de la materia gris profunda^{1003,1004} la normalización de la intensidad¹⁰⁰⁵, teselación de los límites de la materia gris y blanca, corrección topológica automatizada^{1006,1007}, y deformación de la superficie siguiendo gradientes de intensidad para situar los límites gris/blanco y gris/líquido cefalorraquídeo en el lugar donde el mayor cambio de intensidad define la transición a la otra clase de tejido¹⁰⁰⁸⁻¹⁰¹⁰. Una vez completados los modelos corticales, se pueden llevar a cabo una serie de procedimientos deformables para el posterior procesamiento y análisis de los datos, entre los que se incluyen el inflado de la superficie¹⁰¹¹, el registro en un atlas esférico, que se basa en los patrones de plegado cortical individuales para hacer coincidir la geometría cortical entre los sujetos¹⁰¹², la parcelación de la corteza cerebral en unidades con respecto a la estructura giral y sulcal^{1013,1014}, y la recopilación de una variedad de datos basados en la superficie, incluidos los mapas de curvatura y profundidad sulcal. Este método utiliza la información de intensidad y continuidad de todo el volumen tridimensional de la IRM en los procedimientos de segmentación y deformación para producir representaciones del grosor cortical, calculadas como la distancia más cercana desde el límite gris/blanco al límite gris/CSF en cada vértice de la superficie teselada¹⁰¹⁰. Los mapas se crean utilizando gradientes de intensidad espacial a través de las clases de tejido y, por lo tanto, no dependen simplemente de la intensidad de la señal absoluta. Los mapas producidos no están restringidos a la resolución de los vóxeles de los datos originales, y por lo tanto son capaces de detectar diferencias submilimétricas entre los grupos. Los procedimientos para la medición del grosor cortical, la superficie cortical y el volumen cortical han sido validados frente al análisis histológico¹⁰¹⁵ y las mediciones manuales^{1016,1017}. Se ha demostrado que los procedimientos morfométricos de Freesurfer muestran una buena fiabilidad de prueba-retest entre los fabricantes de escáneres y las intensidades de campo^{1018,1019}.

6.4.7 Agudeza visual

La mejor agudeza visual corregida fue determinada usando las **cartas de AV Snellen**. La mejor corrección se obtuvo con la refracción subjetiva, que se hizo previa a la toma de la AV. El paciente comenzó a leer cada fila de letras desde la parte superior a la inferior y la AV umbral se determinó cuando el paciente no era capaz de reconocer el 50% de las letras presentadas en una fila.

Analizamos la AV teniendo en cuenta la edad de los pacientes, clasificándolos así en un primer tramo de edad entre 40-60 años y un segundo tramo formado por aquellos pacientes con edades mayores a los 60 años.

6.4.8 Sensibilidad al contraste

Para determinar la sensibilidad al contraste (SC) de los participantes se empleó el test **CSV-1000E** (VectorVision, Greenville, OH). La prueba se llevó a cabo con la mejor corrección de los pacientes, a 2,5 metros de distancia siguiendo la recomendación de la casa comercial y de forma monocular, por lo que el ojo no examinado era ocluido. Este test presenta 4 frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 ciclos por grado (cpg), representándose una en cada fila y nombradas de la A a la D. Los niveles de sensibilidad al contraste en cada fila varían de 0,70 a 2,08, 0,91 a 2,29, 0,61 a 1,99 y 0,17 a 1,55.

En cada fila aparecen dos veces 8 columnas numeradas del 1 al 8 y en cada columna dos círculos encontrándose la rejilla sinusoidal en uno de ellos. Los círculos que muestran la rejilla sinusoidal presentan una disminución del contraste a medida que aumenta el número de la columna, siendo esta disminución de forma logarítmica uniforme en pasos de 0,17 unidades logarítmicas para los niveles de contraste 1–3 y 0,15 unidades logarítmicas para los pasos 3–8. Se ordenó al sujeto que observara el primer círculo de muestra y se le dijo que buscara el patrón de rejilla en cada columna. Mientras leía a lo largo de la fila, el paciente indicó si la rejilla aparecía en el círculo superior o en el círculo inferior para cada columna. Si la rejilla no era visible en ninguno de los círculos, el paciente debía informar que no existía la rejilla. Se animó al paciente a adivinar si una rejilla era al menos parcialmente visible cuando se acercaba al umbral. Sin embargo, se advirtió al participante que, si no había rejillas visibles, la respuesta debe ser “no lo veo”. Se registró el nivel de contraste de la última respuesta correcta. Se puede observar una imagen del test y de la hoja de recogida de datos en la Figura 32.

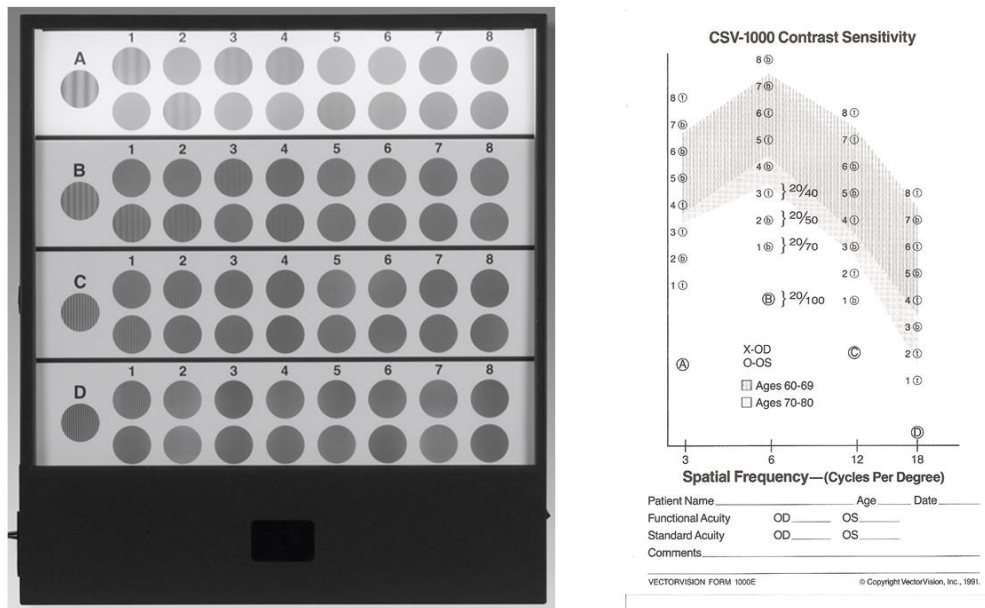


Figura 32. Test CSV-1000E de VectorVision, Greenville utilizado en la medida de SC de los participantes del estudio y hoja de recogida de datos de la prueba.

Esta prueba facilita una curva de sensibilidad al contraste completa del paciente. En la hoja de recogida de datos cada columna corresponde a cada fila del test. Dentro de una fila determinada cada número encima de una rejilla en el test corresponde a un número en la columna del registro de puntuación. Así, para trazar la curva de sensibilidad al contraste se debe marcar en cada columna los resultados del paciente y se debe dibujar una línea que conecte estos resultados, pudiéndolos comparar con el rango normal representado en la hoja de recogida de datos como una región sombreada.

Estos resultados se pasan a la escala logarítmica, empleando la tabla de conversión encontrada en la página web del proveedor <https://www.vectorvision.com/csv1000-norms/>, siendo así la SC la inversa del contraste. Esto da como resultado que los umbrales de contraste bajo se notifiquen como sensibilidades de alto contraste. La explicación de esta conversión logarítmica en base 10 se lleva a cabo por que los sistemas sensoriales responden de forma logarítmica a los cambios en la estimulación sensorial¹⁰²⁰. Esta conversión logarítmica hace que las medidas de SC se encuentren en una escala lineal que es más apropiada para análisis estadísticos¹⁰²¹.

Al igual que con la AV, la SC fue analizada teniendo en cuenta la edad de los pacientes, así los sujetos se clasificaron en aquellos que tenían edades comprendidas entre los 40 y 60 años y aquellos sujetos que tenían más de 60 años.

6.4.9 Test de percepción del color

Para analizar la percepción del color de los participantes se empleó el test **Farnsworth Roth 28-hue** (Luneau, París). Esta prueba fue descrita por primera vez por Roth¹⁰²² y es una modificación del test de Farnsworth-Munsell de 100 tonos (FM-100), este último test es complicado y requiere mucho más tiempo tanto para el participante como para el examinador que el test de **Farnsworth Roth 28-hue**. Por otro lado, otro test como las placas pseudoisocromáticas de Ishihara, aunque son rápidas y sencillas de usar, son limitadas y la capacidad de discriminación del color no puede evaluarse cuantitativamente.

La prueba de discriminación de capsulas de Roth 28-hue se realizó de forma binocular en todos los sujetos con su mejor compensación para cerca y con luz natural. Al principio de la prueba se le enseña al participante la rueda con las 28 capsulas ordenadas y dejándole como referencia la primera y la última se sacan el resto de capsulas y se mezclan. Al sujeto se le explicó que tenía que volver a colocarlas en orden secuencial hasta volver a completar la secuencia circular, que no tenía un tiempo determinado y que podía hacer tantas modificaciones como considerase necesario. Se le aconsejó que una buena estrategia es fijarse que cápsula se parece más a la anterior y así fuera colocándolas una tras otra. Cada cápsula presenta una numeración de orden creciente desde el primer color hasta el último.

Para la recogida de la información se empleó un diagrama, el cual representa la dirección de los ejes correspondientes a varios tipos de defectos de visión del color. Estos ejes fueron calculados por Roth para la prueba de 28 tonos a partir de experimentos llevados a cabo por Varriest¹⁰²³ con el FM-100¹⁰²⁴. En él se unen los números de las capsulas según la ordenación de colores del paciente formándose un esquema de las diferentes discromatopsias que pudieran aparecer. El test y la hoja de recogida de datos pueden observarse en la Figura 33.

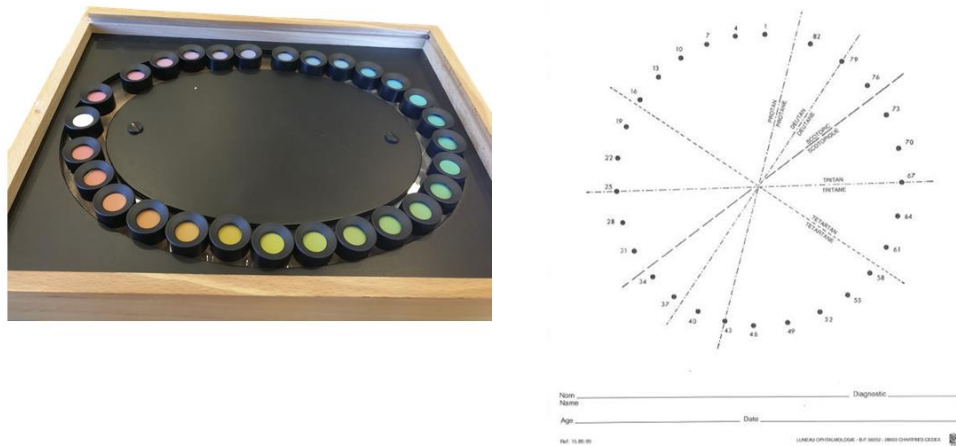


Figura 33. Test de percepción del color Farnsworth Rue 28-hue y diagrama de recogida de datos.

6.4.10 Test Digital de percepción

El **Test Digital de Percepción (TDP)** fue elaborado en 2007 por Rami y colaboradores ⁸³⁶. Esta prueba es fácil, rápida y sensible permitiendo evaluar los trastornos de la percepción visual en las etapas iniciales de la EA.

El test está constituido por 15 láminas en las que se encuentra una misma fotografía orientadas de 4 maneras diferentes estando numeradas estas de 1 al 4. Estas fotografías se encuentran distorsionadas con dos efectos digitales y el objetivo principal es valorar el reconocimiento de situaciones visuales conocidas, enmascaradas por efectos especiales geométricos que dificultan su percepción ¹⁰²⁵ (Figura 34).

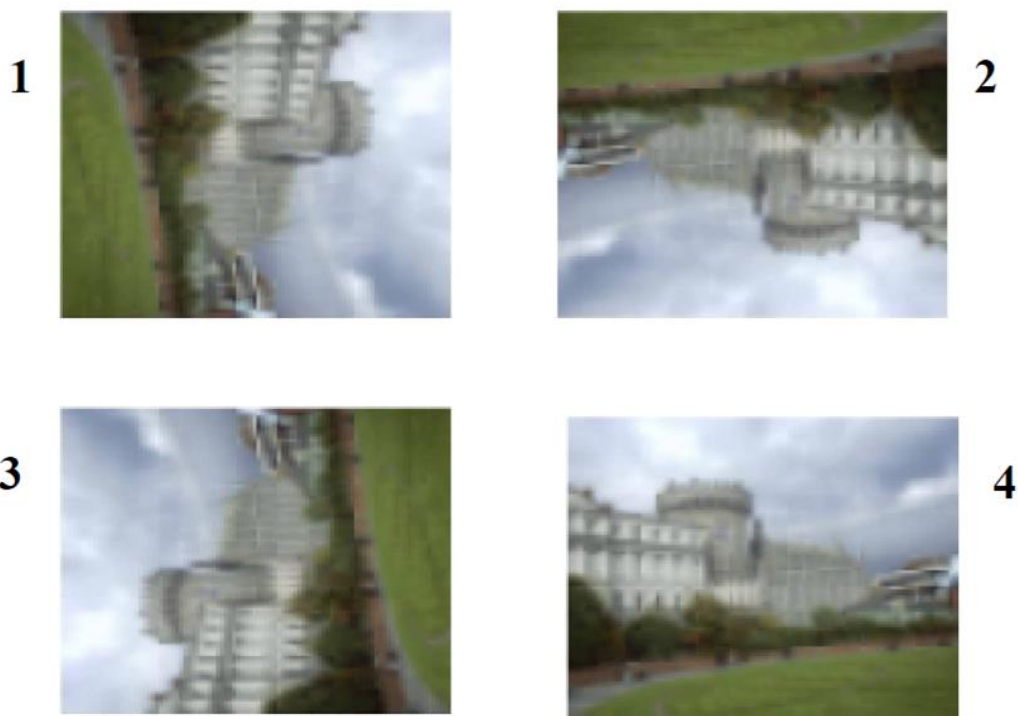


Figura 34. Ejemplo de lámina del Test Digital del Percepción (TDP).

La respuesta correcta es la fotografía que está orientada correctamente en el espacio teniendo en cuenta cual es el contenido de esta. El paciente pasa la prueba si no comete fallos y el número de errores también se contabiliza.

6.4.11 Campimetría computerizada

La campimetría se llevó a cabo con el campímetro Humphrey740i (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA), con la estrategia de análisis SITA FAST 30-2. Se calculó la lente de prueba a partir de la mejor AV corregida del paciente para lejos.

La prueba se realizó en una habitación a oscuras y de forma monocular, ocluyendo el ojo no analizado con un parche.

Los valores que se han tomado para el análisis incluyen:

Número de pérdidas de fijación: Son un indicador del mantenimiento de la mirada del paciente sobre el punto de fijación central de la cúpula de exploración y se realiza explorando la posición de la macha ciega. Si la exploración presenta pérdidas de fijación por encima del 20-25% los resultados pueden considerarse poco fiables.

Falsos positivos: Representan respuestas afirmativas de observación del estímulo en situaciones en las que este no está presente o tiene un umbral de sensibilidad inferior, haciendo que el participante pulse anticipadamente antes de observar el estímulo. Para que un campo visual sea fiable no debe presentar más de 15% de falsos positivos.

Falsos negativos: Son la falta de respuesta por parte del participante ante estímulos que debería ver, ya que se encuentran muy por encima del umbral de sensibilidad que presentó en esa localización anteriormente y son indicadores de cansancio, falta de atención o de motivación. Un campo visual fiable no debería presentar falsos negativos por encima de 20-25%.

Desviación media (DM): Es el promedio de la desviación que presentan los valores de sensibilidad retiniana (en dB) con respecto a los valores estimados como correctos en la base de datos de normalidad ajustada por edad.

Desviación sobre el modelo (DSM): También conocida como desviación estándar del modelo es la media aritmética de la desviación de la sensibilidad en cada punto del campo visual, pero es un indicador global modificado según el modelo creado para el sujeto, detectando fundamentalmente las pérdidas focales, filtrando la pérdida difusa de campo visual.

Visual Field Index (VFI): Este parámetro se expresa en forma de porcentaje y representa la cantidad de campo visual que presenta un paciente, siendo un VFI del 100% un CV normal, y un VFI del 0% es la no percepción de luz en ningún punto del campo visual⁷⁰⁴.

6.4.12 Presión intraocular

La presión intraocular (PIO) fue medida en todos los participantes tras la instilación de Colircuso Floutest (Fluoresceína sódica 2,5 mg/ml + Hidrocloruro de oxibuprocaina 4mg/ml) y se empleó el tonómetro de mano Perkins tipo MK2 (Clement Clarke International, Essex, Inglaterra). Se considera una PIO normal por debajo de 20 mmHg.

6.4.13 Magnetoencefalografía

La magnetoencefalografía (MEG) de todos los participantes del estudio se llevó a cabo en el laboratorio de cognición y neurociencia computacional del Centro de Tecnología Biomédica de la Universidad Politécnica de Madrid, siendo realizado por el grupo liderado por Fernando Maestú.

La actividad electrofisiológica de cada participante se registró durante la realización de una tarea cognitiva, que consistía en un paradigma de emparejamiento retrasado con caras como

estímulo. Para el análisis llevado a cabo en esta tesis, sólo se abordó la actividad visual generada tras la presentación de las caras. La tarea comprendía 128 ensayos, cada uno de los cuales contenía dos presentaciones de caras, lo que daba lugar a un total de 256 eventos de emparejamiento de caras. Todas las caras eran neutras, caucásicas, de hombres y mujeres adultos sobre un fondo de ruido gris y se mantenían en pantalla durante 1 s en cada presentación. Para evitar las señales que no son específicas de la cara, se eliminaron el pelo y las orejas. Los estímulos se presentaron de forma aleatoria y se informatizaron utilizando el software E-Prime (versión 1.2, Psychology Software Tools, Inc., Sharpsburg, PA). Los estímulos se proyectaron en una pantalla a través de un proyector de vídeo (Panasonic PT-D7700E) (Figura 35).

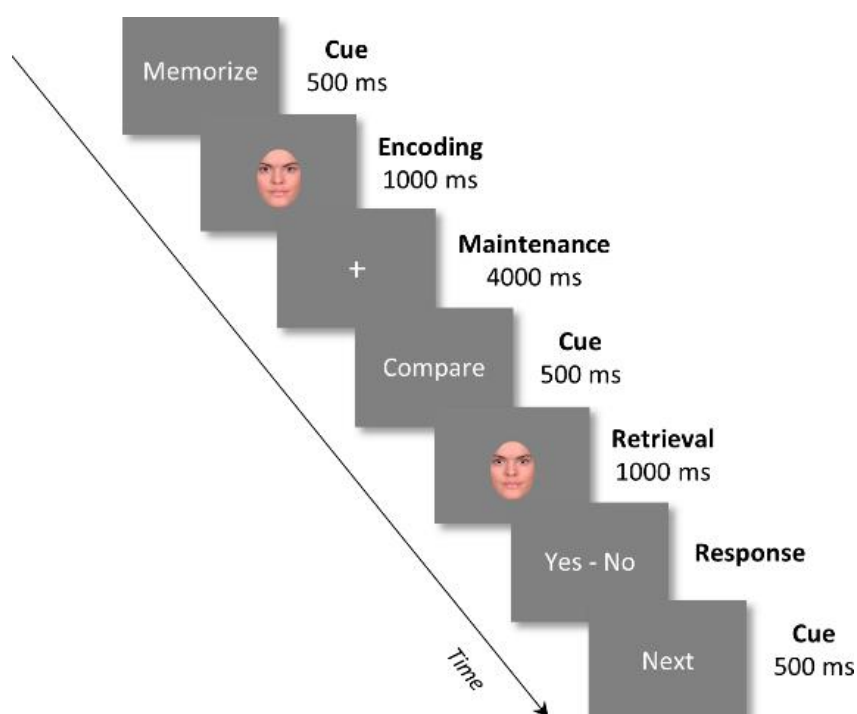


Figura 35. Actividad de reconocimiento facial empleada para el análisis de la actividad electrofisiológica de los participantes mediante MEG.

El sistema de MEG empleado para estos análisis fue el modelo Elekta Vectorview" de 306 sensores (102 magnetómetros y 204 gradiómetros planos) (Elekta AB, Estocolmo, Suecia) situado dentro de una sala con blindaje magnético (VacuumSchmelze GmbH, Hanau, Alemania). Además de los canales de MEG, se utilizaron dos juegos de electrodos bipolares de EEG para registrar la actividad ocular y cardíaca.

Se colocaron cuatro bobinas de indicación de la posición de la cabeza (HPI) en el cuero cabelludo de los participantes; dos en los mastoides y dos en la frente. Las posiciones de las bobinas, junto con los tres puntos de referencia anatómicos (nasal, puntos preauriculares izquierdo y derecho)

y unos 200 puntos adicionales de la forma de la cabeza del participante, se digitalizaron mediante un sistema Fastrack Polhemus (Polhemus, Colchester, VT, EE.UU.).

Los datos de MEG y EEG se digitalizaron con una frecuencia de muestreo de 1.000 Hz, utilizando un filtro antialias online de paso de banda (0,1 a 330 Hz). Para eliminar el ruido externo y compensar los movimientos de la cabeza dentro del escáner de MEG, se utilizó una expansión espacio-temporal del método de separación del espacio de la señal (tSSS),¹ implementado por Neuromag Software (MaxFilter versión 2.2, correlación 0.90, ventana de tiempo 10s).

Preprocesamiento de la MEG

El preprocesamiento de los datos fue realizado por los investigadores a ciegas. Las series temporales magnéticas se segmentaron en periodos de 2 sg de duración (de -500 ms a 1500 ms, en relación con el inicio de la presentación de la cara), utilizando el período anterior a 0 como línea de base. Se descartaron las fases que coincidían con parpadeos o movimientos oculares, que presentaban actividad muscular o que estaban contaminadas por otros artefactos. Posteriormente, se aplicó un procedimiento basado en el análisis de componentes independientes para eliminar la contribución de los componentes restantes relacionados con los ojos, el corazón y el ruido. Dada la redundancia entre los datos de los magnetómetros y los gradiómetros después del tSSS, en los siguientes análisis sólo se empleó la actividad de los magnetómetros.

Reconstrucción de la fuente de MEG

El modelo de fuente se definió en el espacio del Instituto Neurológico de Montreal (MNI), utilizando una cuadrícula tridimensional homogénea con fuentes espaciadas por 1 cm, lo que dio como resultado 2459 posiciones de fuente dentro de la cavidad craneal. Este modelo de fuente se transformó linealmente en la resonancia magnética individual de cada participante.

Cada imagen T1 se segmentó utilizando la segmentación unificada proporcionada por SPM12, y la máscara cerebral resultante (es decir, la unión de la materia blanca y gris y el líquido cefalorraquídeo) se utilizó para construir un modelo de cabeza individual realista de una sola carcasa. Este modelo de cabeza, junto con el modelo de fuente individual, se empleó para generar un campo de plomo utilizando una solución esférica modificada.

Las series temporales de cada ubicación de la fuente se obtuvieron utilizando formadores de haz 5 de varianza mínima restringida linealmente (LCMV) como modelo inverso. Los formadores de haz se calcularon utilizando la matriz de covarianza de los datos filtrados entre 0,2 y 35 Hz.

Los datos se filtraron utilizando un par de filtros: un filtro Butterworth de paso alto de segundo orden y un filtro de respuesta al impulso finito (FIR) de paso bajo, construido con ventana Hamming, de orden 1800. Para evitar artefactos en los bordes, los datos se filtraron después de añadir 2 segundos de datos reales a cada lado, como relleno.

Latencia M100

El campo visual evocado (VEF) se generó utilizando la tarea de visualización de caras mencionada anteriormente. Cada participante tuvo, como mínimo, 100 eventos válidos de fase bloqueada ($211,48 \pm 30,53$; media \pm desviación estándar). No hubo diferencias estadísticamente significativas en el número de períodos de tiempo entre los grupos ($t = 0,702$; $p = 0,487$).

Para el presente estudio, sólo se abordó el componente M100 del VEF. Los valores de latencia individuales se definieron como el punto de máxima activación de la corteza calcarina, tal y como se define en el atlas de etiquetado anatómico automatizado (AAL) ¹⁰²⁶. La Figura 36 muestra la media general de la activación en estas áreas para una submuestra de 133 individuos, mostrando la potencia media M100.

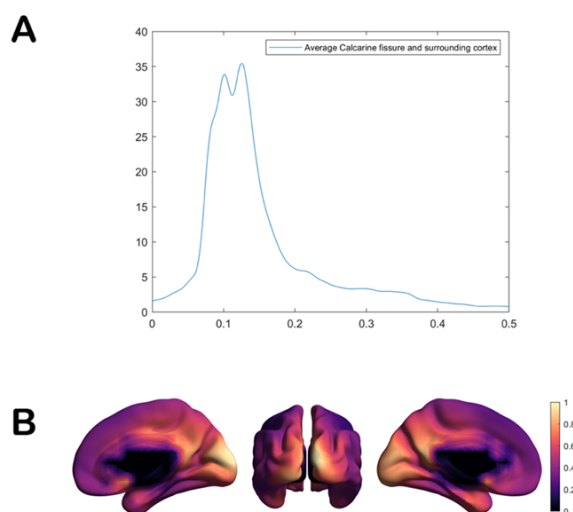


Figura 36. Latencia de M100. A. Potencia media general en la fisura calcarina. B. Potencia media general en el cerebro a los 100 ms.

Análisis de tiempo-frecuencia

La amplitud del campo evocado en MEG depende en gran medida de la posición del participante en el escáner, siendo por tanto una medida poco fiable. Por tanto, el nivel de actividad cerebral evocado se analiza por la presentación de caras utilizando el análisis de tiempo-frecuencia (TF).

La representación de la TF se calculó para una ventana temporal de 1000 ms, desde 500 ms antes hasta 500 ms después de la presentación de la cara. Las fases se analizaron en el dominio de tiempo-frecuencia utilizando una ondícula de Morlet gaussiana de 5 ciclos con pasos de 1 Hz desde 2 Hz hasta 30 Hz. Para evitar los efectos de borde, todas las épocas tenían 2 segundos de datos reales a cada lado como relleno. Los datos resultantes se corrigieron por el promedio de la actividad basal antes de la presentación del estímulo, dando como resultado una representación de cambio relativo.

Los análisis posteriores se restringieron al rango en el que se produce la respuesta visual. Para determinar este rango, se calculó una respuesta TF de media general para 133 participantes (Figura 37). De acuerdo con esta respuesta, los análisis se realizaron en el rango de frecuencias entre 4 y 10 Hz, y el rango de latencias entre 0 y 250 ms.

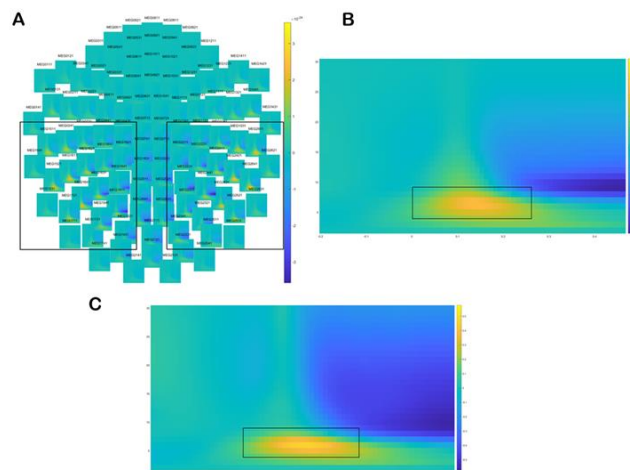


Figura 37. Análisis de tiempo-frecuencia relacionado con la respuesta visual. A. Representación de la TF promediada en el espacio de los sensores. B. Representación de la TF promediada en los sensores dentro de los rectángulos A. C. Representación de la TF promediada en el espacio de la fuente (corteza calcarina). Los rectángulos en A indican los sensores en los que se percibe mejor la actividad. Los rectángulos en B y C indican el rango de TF en el que la actividad es más prevalente, que se utiliza posteriormente para el análisis.

6.4.14 Estudio oftalmológico longitudinal

El estudio longitudinal se realizó tras 27 meses de seguimiento de los participantes. Debido a la compleja situación sanitaria producida por la COVID-19, no todos los sujetos pudieron asistir a las consultas del Instituto de Investigaciones oftalmológicas Ramón Castroviejo, por lo que la segunda visita fue completada solo por 70 participantes.

En los resultados se han mostrado los análisis del grupo de menor riesgo (HF- ApoE ϵ 4-) y el grupo de mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad (HF+ ApoE ϵ 4+).

6.5 Método estadístico aplicado

6.5.1 Estadística descriptiva

La demografía de los participantes incluidos en la muestra (edad, sexo, grado educativo, MMSE y las comorbilidades) fueron analizados por grupo de estudio. Las variables cuantitativas fueron expresadas mediante mediana (rango intercuartil) (RI) y cuando las diferencias eran muy pequeñas también se empleó la mediana \pm desviación estándar (DE). Las variables cualitativas fueron expresadas mediante la n y el tanto por ciento.

Para analizar las diferencias entre grupos en las variables cuantitativas se empleó el Test U de Mann Whitney y para el análisis de las variables cualitativas se realizó el análisis de frecuencias utilizando el test de Chi-cuadrado.

6.5.2 Estadística analítica

Para el análisis de las variables oftalmológicas se escogió un ojo al azar de cada uno de los sujetos del estudio. Cuando analizamos las diferencias entre los grupos de estudio, considerando estos grupos como muestras independientes, utilizamos el test de U de Mann Whitney para el análisis de las variables cuantitativas.

A pesar de tener análisis con múltiples comparaciones no hemos aplicado correcciones a estos análisis. Hasta dónde llega nuestro conocimiento, los análisis presentados en esta tesis son los primeros exámenes exploratorios que se realizan en este tipo de participantes (con dos factores de riesgo bien definidos para el desarrollo de EA), por lo que decidimos ser más flexibles con el problema de las comparaciones múltiples. Así, los resultados de estos estudios podrían servir de primer paso o de guía para nuevas hipótesis y estudios que validen nuestros resultados pudiendo revelar nuevos biomarcadores para la EA.

Cuando analizamos las variables cuantitativas, el análisis de frecuencias se realizó con el test de Chi-Cuadrado.

Para el estudio de la posible asociación entre las variables se aplicó la correlación de Pearson (r) ajustada para la edad, clasificándose en correlaciones bajas (r entre 0,38 y 0,60), correlaciones medias (r entre 0,60 y 0,72) y correlaciones fuertes (r entre 0,72-1,00). También se empleó las correlaciones de Spearman (ρ), para conocer la asociación no lineal entre dos variables.

Para el análisis de muestras dependientes del estudio longitudinal se empleó el test de los rangos con signo de Wilcoxon.

En los contrastes de hipótesis, la hipótesis nula se rechazó con un nivel de significación del 5%, es decir, una p -valor $<0,05$. Además, a lo largo del estudio, encontramos diferentes niveles de significación alfa, por lo que los p valores muestran diferentes grafías dependiendo de este. Cuando el nivel de significación α es inferior a 0,05 la p -valor se representa junto con *, cuando el nivel de significación α es inferior a 0,01 la p -valor se representa con **.

Debido a la estricta caracterización de los pacientes, aquellos grupos con una n inferior a 5-6 sujetos han sido excluidos de los análisis estadísticos.

6.6 Representación colorimétrica de los resultados

La representación colorimétrica de los cambios entre los grupos de estudio se realizó con el software Excel y la función de escala de colores. Los valores se normalizaron a 1, el cual se representaba de color blanco cuando no existían diferencias y los tonos azules representaban el adelgazamiento o descenso mientras que los tonos rojos los engrosamientos o incrementos. El tono de color lo proporciona directamente el software en función de la variación de grosor.

También se ha aplicado una escala colorimétrica al grado de correlación de las variables, donde las correlaciones bajas (r con valores entre 0,38-0,60) tienen un color amarillento, las correlaciones medias (r con valores entre 0,60-0,72) tienen colores anaranjados, y las correlaciones fuertes (r con valores entre 0,72-1,00) tienen tonos rojizos.

7.RESULTADOS

7. RESULTADOS

7.1 Análisis descriptivo demográfico

De los 254 sujetos que formaban la base de datos del proyecto COGDEM, 211 realizaron el examen oftalmológico en la clínica del Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo.

No en todas las pruebas o medidas analizadas se ha podido incluir todos los datos de los sujetos. Esto es debido a que algunos valores no pudieron incluirse por falta de datos para clasificar a los sujetos (por ejemplo, la caracterización alélica para el gen del ApoE) o debieron ser desestimados porque no cumplían con los estándares de calidad que exigíamos para ser incluidos en el análisis de datos.

En el material y métodos de cada análisis se especifica la clasificación de los participantes, así como el número de ellos en sus correspondientes diagramas de flujo.

7.1.1 Análisis de la edad de la muestra

La edad media del grupo de sujetos **HF- ApoE ε4-** era de (60,00(54,00-66,00)), la del grupo de estudio **HF- ApoE ε4+** (66,00(55,50-70,50)), la del grupo **HF+ ApoE ε4-** (58,00(53,00-62,25)) y del grupo **HF+ ApoE ε4+** (56,00(56,00-61,00)). (Tabla 5 y Gráfica 1).

Cuando comparamos entre los grupos de estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas de edad entre los grupos (**HF- ApoE ε4+** vs **HF+ ApoE ε4-**) y (**HF- ApoE ε4+** vs **HF+ ApoE ε4+**) (Tabla 6 y Gráfica 1).

Tabla 5. Análisis de la edad de los grupos de estudio

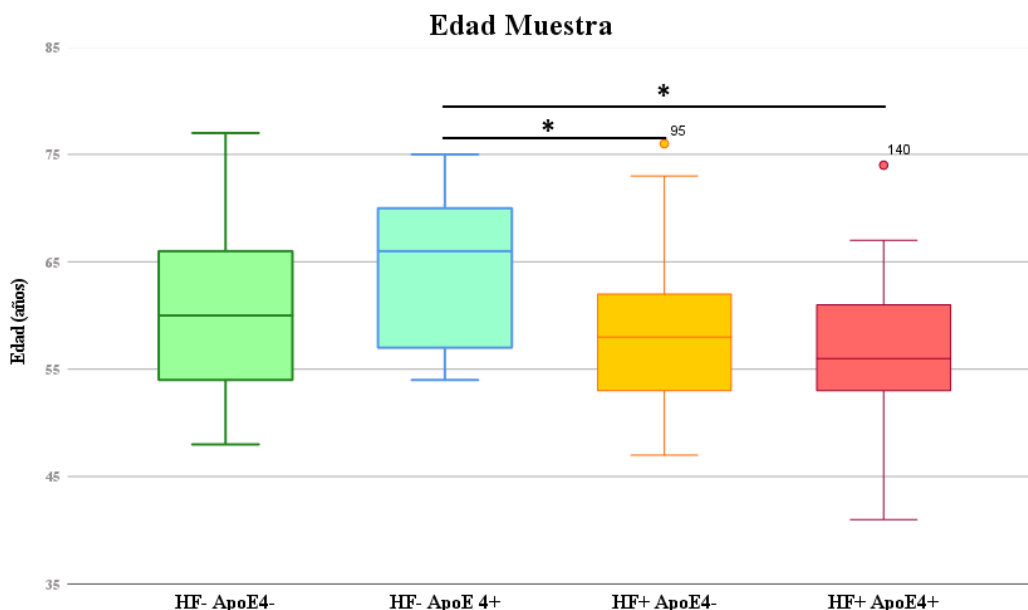
	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n= 39)
Edad	60,00(54,00-66,00)	66,00(55,50-70,50)	58,00(53,00-62,25)	56,00(56,00-61,00)

Mediana (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)

Tabla 6. P-valor de la edad de los sujetos de estudio

P-Valor	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF- ApoE ε4+	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4-	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+	P-Valor HF- ApoE ε4+ vs HF+ ApoE ε4-	P-Valor HF- ApoE ε4+ vs HF+ ApoE ε4+	P-Valor HF+ ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+
	0,203	0,236	0,071	0,034*	0,016*	0,236

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)



Gráfica 1. Edad media de los grupos de estudio.
Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E).
*p<0,05; Test de Mann-Whitney.

7.1.2 Análisis del sexo y etnia de la muestra

En el estudio del grupo **HF- ApoE ε4-** un 37,50 % fueron hombres y un 62,50% mujeres, en el grupo **HF- ApoE ε4+** un 44,44% eran hombres y 55,56% mujeres, en el grupo **HF+ ApoE ε4-** 40,58% eran hombre y un 59,42% mujeres y en el grupo de **HF+ ApoE ε4+** el 30,80% fueron hombres y el 69,20 % mujeres, siendo el único grupo del estudio donde encontramos diferencias estadísticas entre el número de hombres y de mujeres (12 hombres vs 27 mujeres) (p<0,05)(Tabla 7 y Gráfica 2).

Todos los participantes eran de origen caucásico ya que era un criterio de inclusión del proyecto COGDEM.

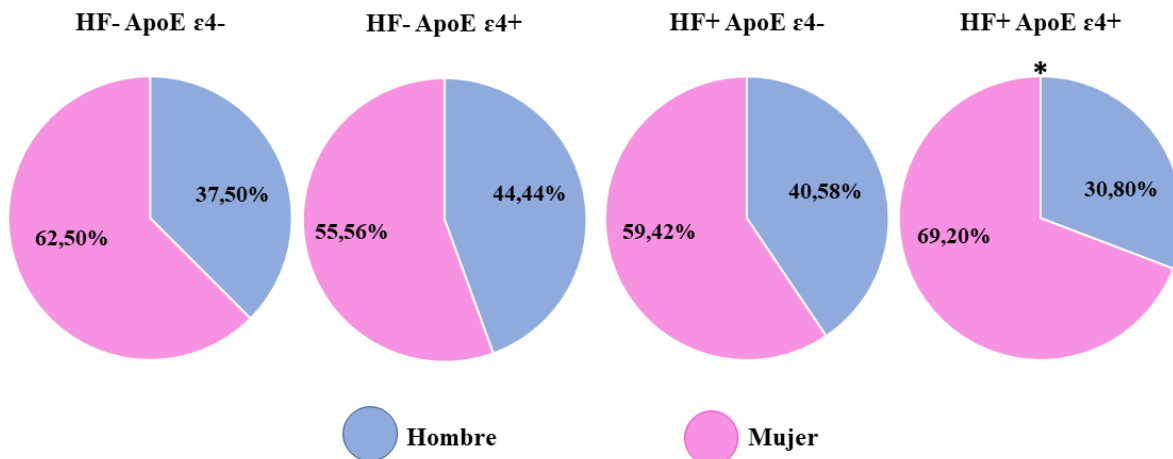
Tabla 7. Análisis del sexo de los participantes según los grupos de estudio

	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n=39)
Hombre	12 (37,50%)	4 (44,44%)	28 (40,58%)	12 (30,80%)
Mujer	20 (62,50%)	5 (55,56%)	41(59,42%)	27(69,20%)
p-Valor	0,215	0,727	0,120	0,024*

n, (%)
*P < 0,05, **P < 0,01, Test Chi-cuadrado
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)

7.1.3 Análisis del MMSE de la muestra

Sexo de la población de estudio por grupos



Gráfica 2. Porcentajes del sexo de los sujetos incluidos en el estudio separado por grupos en función de la historia familiar y la caracterización alélica para el ApoE ε4. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *P < 0,05, Test de Chi-cuadrado.

Cuando analizamos el MMSE de los grupos de estudio, encontramos que el grupo de **HF+ ApoE ε4+** (29,00(29,00-29,00)) tenían una puntuación del MMSE estadísticamente superior a la del grupo **HF- ApoE ε4-** (29,00(28,00-29,00)) (Tabla 8). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando comparábamos el grupo **HF- ApoE ε4-** con el grupo **HF+ ApoE ε4+** p<0,05. (Tabla 9 y Gráfica 3)

Tabla 8. Análisis del MMSE de los grupos de estudio

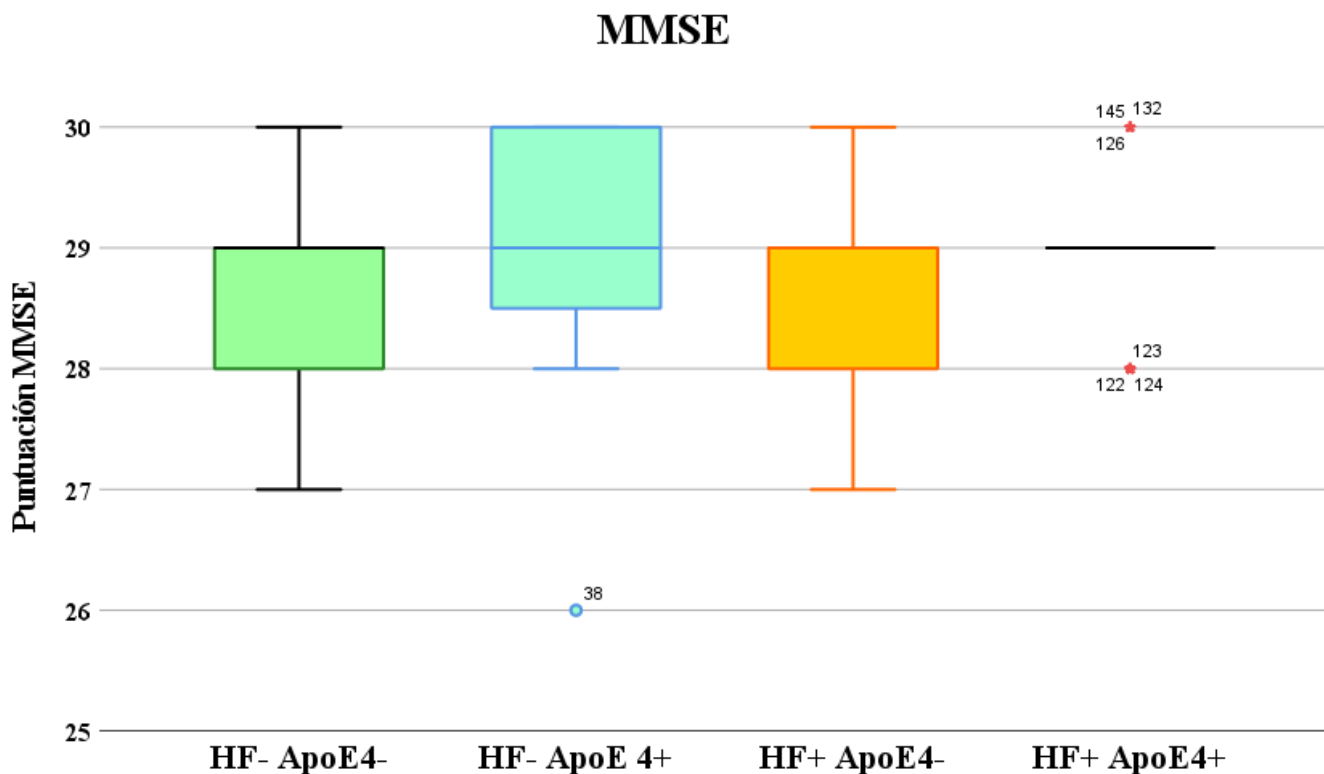
	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n=39)
MMSE	29,00(28,00-29,00)	29,00 (28,25-30,00)	29,00 (28,00-29,00)	29,00(29,00-29,00)

Mediana (RI)
(MMSE: Mini Mental State Examination; HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)

Tabla 9. P-valor del MMSE de los grupos de estudio

	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF- ApoE ε4+	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4-	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+	P-Valor HF- ApoE ε4+ vs HF+ ApoE ε4-	P-Valor HF- ApoE ε4+ vs HF+ ApoE ε4+	P-Valor HF+ ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+
P-Valor	0,185	0,064	0,017*	0,292	0,550	0,353

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney
 (MMSE: Mini Mental State Examination; HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)



Gráfica 3. Valores del MMSE de los sujetos según el grupo de estudio. Medianas y rangos intercuartílicos. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

7.1.4 Análisis grado educativo de la muestra

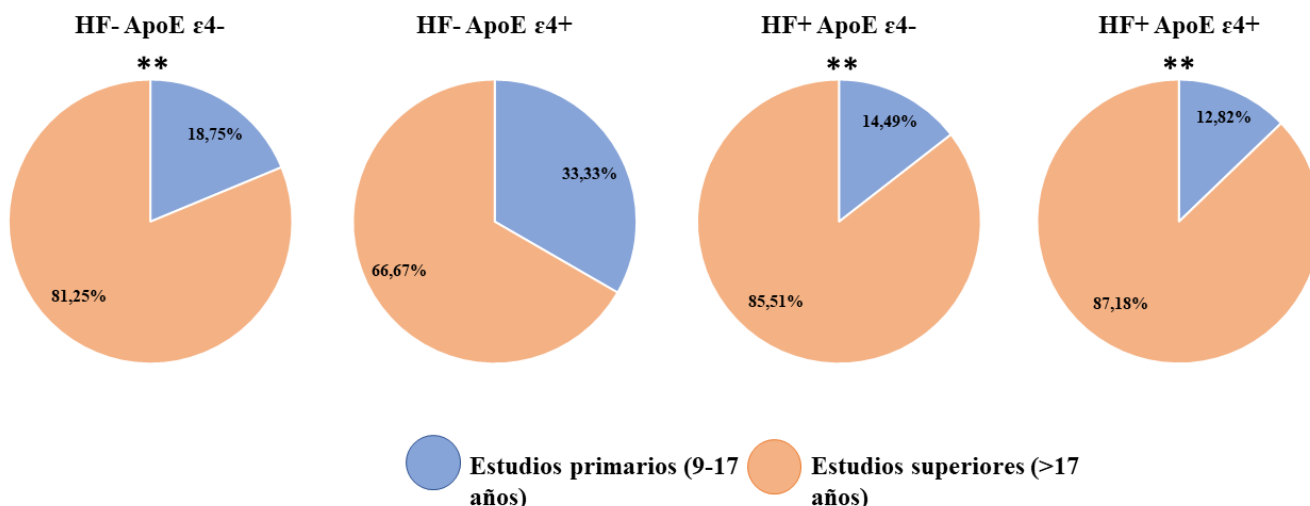
En nuestros participantes de estudio no había ningún sujeto con un grado educativo básico. Cuando analizamos dentro del mismo grupo de estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas entre el número de sujetos con estudios primarios y secundarios en los grupos **HF- ApoE ε4-**, (6 primarios vs 26 superiores) (p<0,01); **HF+ ApoE ε4-** (11 primarios vs 59 superiores) (p<0,01) y **HF+ ApoE ε4+** (5 básicos vs 34 superiores) (p<0,01) (Tabla 10 y Gráfica 4).

Tabla 10. Análisis del grado educativo de los sujetos de estudio por grupos

	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n=39)
Básicos (< 8 años)	0	0	0	0
Primarios (9-17 años)	6 (18,75%)	3 (33,33%)	11 (14,49%)	5 (12,82%)
Superiores (>17 años)	26 (81,25%)	6 (66,67%)	59 (85,51%)	34 (87,18%)
p-Valor	<0,001**	0,289	<0,001**	<0,001**

n, (%)
*p < 0,05, **p < 0,01, Test Chi-cuadrado
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)

Grado educativo de la población de estudio por grupos



Gráfica 4. Porcentajes del grado educativo de los sujetos incluidos en el estudio separado por grupos en función de la historia familiar y la caracterización alélica para el ApoE ε4. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). **P < 0,01, Test de Chi-cuadrado

7.1.5 Análisis de los factores de riesgo cardiovascular de la muestra

7.1.5.1 Análisis de la incidencia del hipercolesterolemia (HCOL)

Cuando analizamos la incidencia de los pacientes con tratamiento debido a los altos niveles de colesterol (HCOL) encontramos que en el grupo de **HF- ApoE ε4-** un 28,10% se encontraba bajo tratamiento farmacológico, en el grupo de **HF- ApoE ε4+** un 44,44% tomaba fármacos para el colesterol, en el grupo **HF+ ApoE ε4-** un 39,13% y en el grupo **HF+ ApoE ε4+** un 46,20%. Solo encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con HCOL y los que

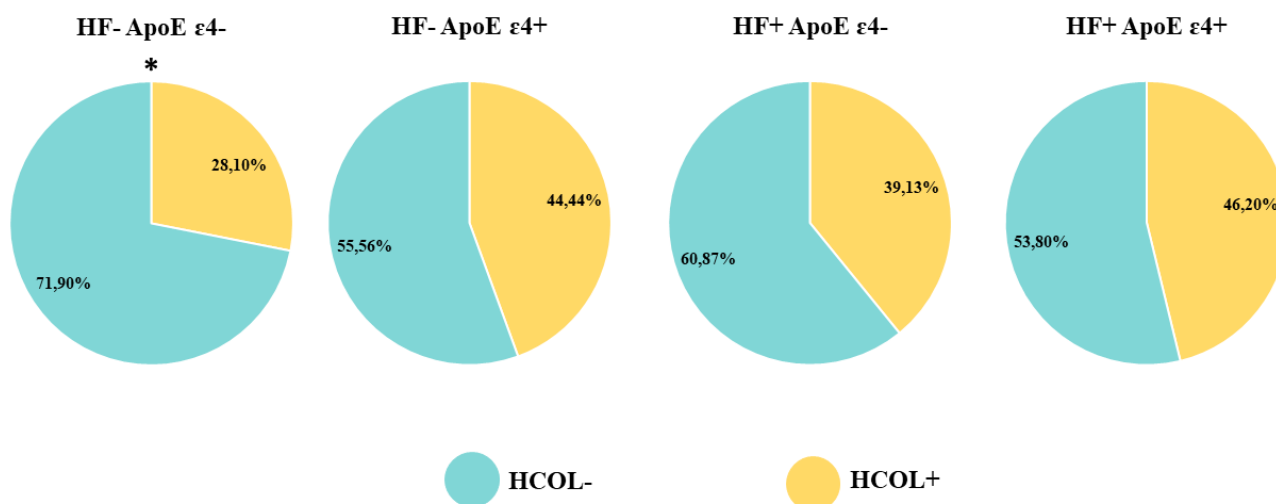
no se encontraban bajo tratamiento en el grupo **HF- ApoE ε4-** (9, HCOL+ vs 23, HCOL-) ($p < 0,05$). (Tabla 11 Gráfica 1y Gráfica 5).

Tabla 11. Análisis de la incidencia de la hipercolesterolemia de los grupos

	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n= 39)
Incidencia HCOL				
HCOL+	9 (28,10%)	4(44,44%)	27(39,13%)	18(46,20%)
HCOL-	23(71,90%)	5(55,56%)	42(60,87%)	21(53,80%)
p-Valor	0,020*	0,727	0,072	0,749

n, (%)
*P < 0,05, **P < 0,01, Test Chi-cuadrado
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)

Incidencia de la hipercolesterolemia por grupos de estudio



Gráfica 5. Porcentajes de la incidencia de HCOL de los sujetos incluidos en el estudio separado por grupos en función de la historia familiar y la caracterización alélica para el ApoE ε4. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *P < 0,05, Test de Chi-cuadrado.

7.1.5.2 Análisis de la incidencia de la hipertensión arterial (HTA)

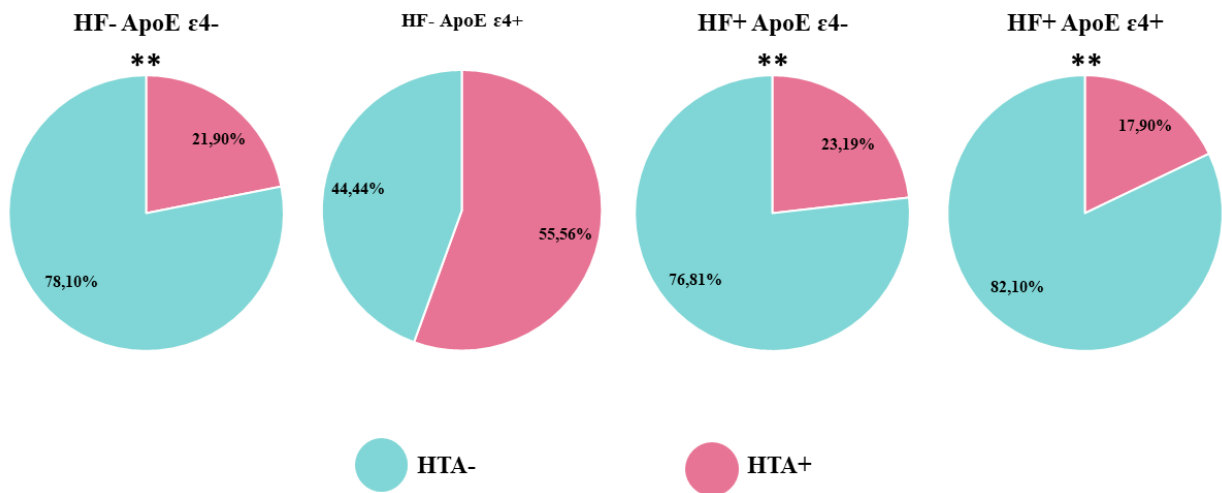
Cuando analizamos la incidencia de la HTA en los grupos de estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las personas con tratamiento para la HTA y los que no tenían en el grupo **HF- ApoE ε4-** (7, HTA+ vs 25 HTA-) ($p < 0,01$); en el grupo de **HF+ ApoE ε4-** (16, HTA+ vs 53, HTA-) ($p < 0,01$) y en el grupo **HF+ ApoE ε4+** (7, HTA+ vs 32, HTA-) ($p < 0,01$) (Tabla 12 y Gráfica 6).

Tabla 12. Análisis de la incidencia de la hipertensión arterial de los grupos

	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n= 39)
HTA+	7 (21,90%)	5 (55,56%)	16 (23,19%)	7 (17,90%)
HTA-	25 (78,10%)	4 (44,44%)	53 (76,81%)	32 (82,1%)
p-Valor	0,002**	0,999	<0,001**	<0,001**

n, (%)
*P < 0,05, **P < 0,01, Test Chi-cuadrado
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)

Incidencia de la hipertensión arterial por grupos de estudio



Gráfica 6. Porcentajes de la incidencia de HTA de los sujetos incluidos en el estudio separado por grupos en función de la historia familiar y la caracterización alélica para el ApoE ε4. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)., **P < 0,01, Test de Chi-cuadrado.

7.1.5.3 Análisis de la incidencia de la diabetes mellitus (DM)

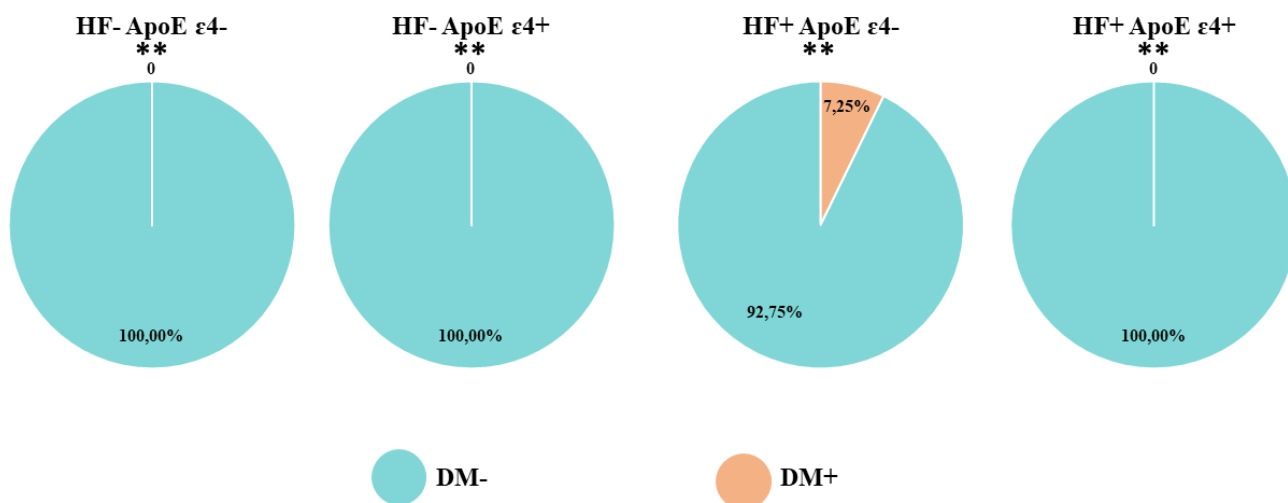
Cuando analizamos la incidencia de la diabetes mellitus entre los grupos de estudio encontramos que esta solo aparece en el grupo de **HF+ ApoE ε4-**, el cual cuenta con un 7,25% de participantes con diabetes (Tabla 13 y Gráfica 7).

Tabla 13. Análisis de la incidencia de la diabetes mellitus de los grupos

	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n= 39)
DM+	0	0	5(7,25%)	0
DM-	32 (100%)	9(100%)	63(92,75%)	39(100%)
p-Valor	<0,001**	0,008**	<0,001**	<0,001**

n, (%)
*P < 0,05, **P < 0,01, Test Chi-cuadrado
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)

Incidencia de la diabetes mellitus por grupos de estudio



Gráfica 7. Porcentajes de la incidencia de la DM de los sujetos incluidos en el estudio separado por grupos en función de la historia familiar y la caracterización alélica para el ApoE ε4. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *P < 0,05, **P < 0,01, Test de Chi-cuadrado.

7.1.6 Análisis de la presión intraocular (PIO) de la muestra

El análisis de las PIO mostró que en el grupo de **HF- ApoE ε4-** tenía un valor de 13,00(12,00-14,00), en el grupo de **HF- ApoE ε4+** tenían un valor de 12,00(12,00-14,25), en el grupo de **HF+ ApoE ε4-** la PIO era de 13,00(12,00-14,25) y de 13,00(11,00-14,00) en el grupo de **HF+ ApoE ε4+** (Tabla 14 y Gráfica 8).

Cuando comparamos el valor de la mediana entre los grupos de estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los mismos (Tabla 15 y Gráfica 8).

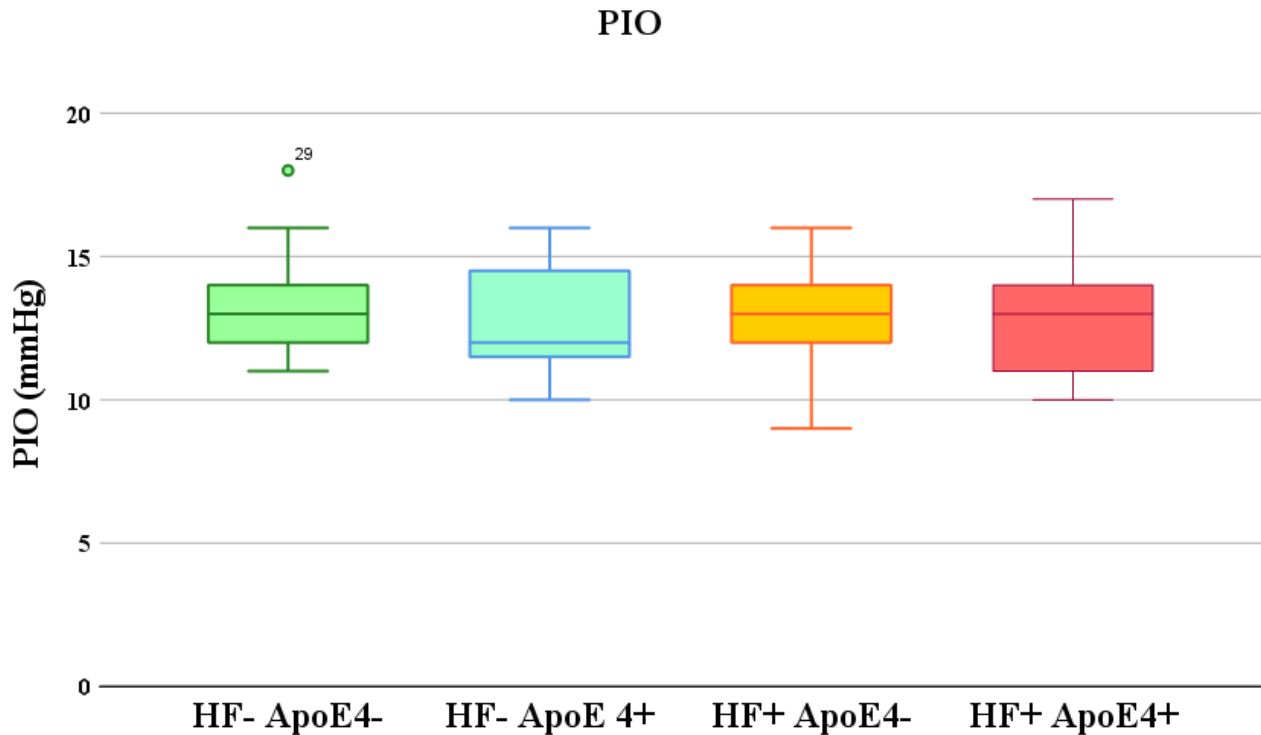
Tabla 14. Análisis de PIO de los grupos de estudio

	HF- ApoE ε4- (n=32)	HF- ApoE ε4+ (n=9)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (N=39)
PIO	13,00(12,00-14,00)	12,00(12,00-14,25)	13,00(12,00-14,25)	13,00(11,00-14,00)
	Mediana (RI)			
	(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)			

Tabla 15. P-valor de la PIO de los sujetos de estudio

P-Valor	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF- ApoE ε4+	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4-	P-Valor HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+	P-Valor HF- ApoE ε4+ vs HF+ ApoE ε4-	P-Valor HF- ApoE ε4+ vs HF+ ApoE ε4+	P-Valor HF+ ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+
	0,332	0,994	0,325	0,385	0,849	

Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E)



Gráfica 8. PIO media de los grupos de estudio. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; mmHg: milímetros de mercurio). *P < 0,05, **P < 0,01; Test de Mann-Whitney.

7.2 Análisis estadístico de las pruebas estructurales de la retina

7.2.1 Estudio del espesor de la mácula por capas mediante OCT

El análisis por capas de la retina se realizó con la OCT Spectralis que posee un software que permite una segmentación automática de las capas de la retina. Además, estas segmentaciones fueron revisadas y modificadas manualmente en el caso de errores.

7.2.1.1 Estudio del espesor de la mácula por capas por historia familiar

Mediante la OCT analizamos el grosor de cada una de las capas de la retina del área macular en 40 sujetos sin historias familiar de la EA (**HF-**) y en 95 sujetos con un antecedente familiar de EA (**HF+**).

Espesor total de la retina

El estudio del grosor total de la retina se pudo llevar a cabo en 40 participantes sin historia familiar de EA (**HF-**) y 95 sujetos con un antecedente familiar de la enfermedad (**HF+**).

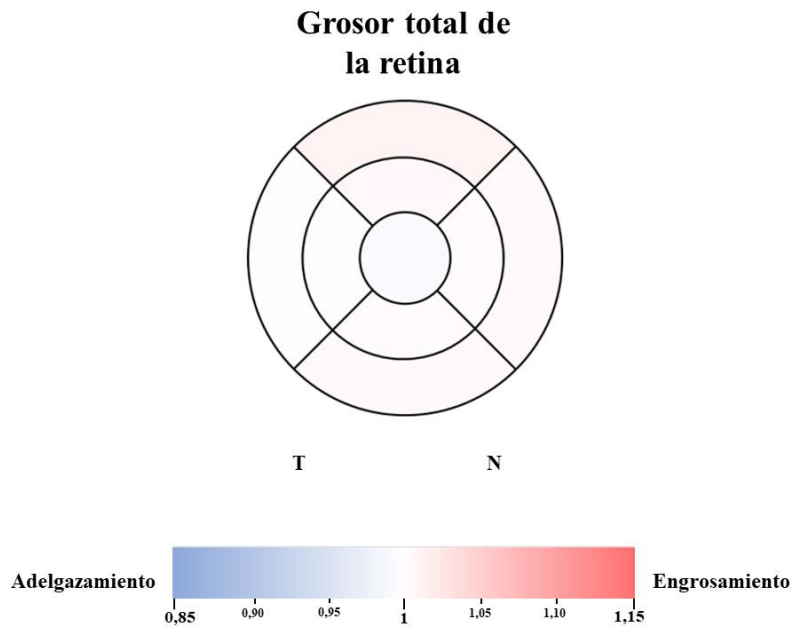
Al analizar los resultados obtenidos en la OCT del grosor total de la retina en el área macular mediante anillos concéntricos no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) cuando comparamos el grupo de **HF-** con el grupo de **HF+** (Tabla 16 y Gráfica 9).

Tabla 16. Análisis del espesor total de la retina según historia familiar

		HF- (n= 40)	HF+ (n= 95)	HF- vs HF+	
				% diferencia	P-valor
Fóvea		279,00(268,00-296,00)	278,50(264,00-289,50)	-0,71	0,479
Anillo macular interno	Superior	339,00(330,25-351,75)	342,00(333,00-352,00)	0,75	0,284
	Nasal	347,00(339-354)	347,00(337,00-357,00)	0,40	0,847
	Inferior	340,50(330,25-349,75)	339,00(333,00-349,00)	0,44	0,668
	Temporal	329,00(319,00-337,00)	329,00(320,00-337,00)	0,26	0,649
Anillo macular externo	Superior	293,50(285,25-305,75)	298,00(290,00-306,00)	1,20	0,143
	Nasal	315,00(301,25-324,75)	315,00(306,00-327,00)	0,64	0,700
	Inferior	286,50(273,75-296,25)	287,50(279,75-296,00)	0,63	0,616
	Temporal	277,50(270,50-288,00)	282,00(275,25-287,50)	0,24	0,442
Volumen macular		8,56(8,31-8,83)	8,61(8,42-8,83)	0,22	0,529

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 9. Representación colorimétrica de los cambios del grosor retiniano total ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina macular (CFNRm)

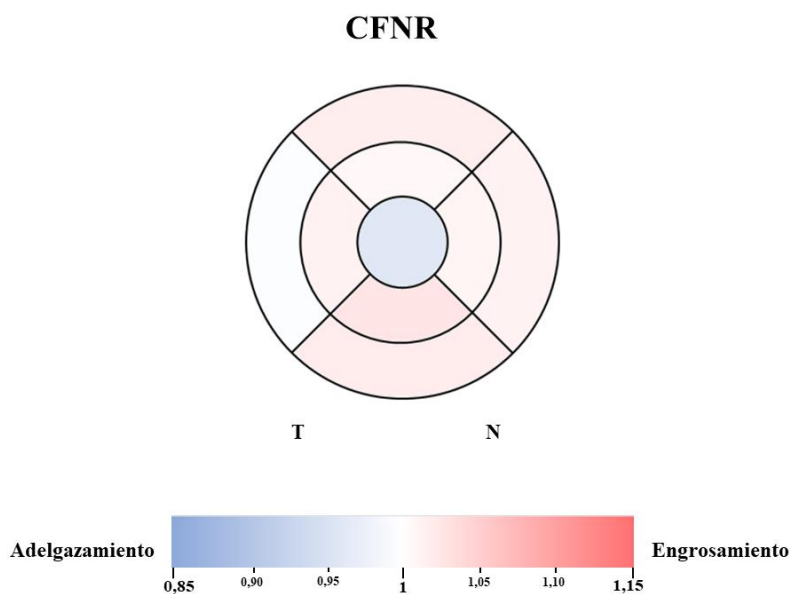
Cuando comparamos entre estos dos grupos no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el grosor de ningún sector de los anillos maculares concéntricos de la CFNR. Todos los detalles pueden observarse en la Tabla 17 y Gráfica 10.

Tabla 17. Análisis del grosor de la CFNR según historia familiar

	HF- (n= 40)	HF+ (n= 95)	HF- vs HF+		
			% diferencia	P-valor	
Fóvea	13,00(11,25-14,00)	12,00(11,00-14,00)	-4,04	0,078	
Anillo macular interno	Superior	24,50(23,00-26,75)	25,00(23,00-26,00)	0,82	0,538
	Nasal	21,00(20,00-22,00)	21,00(20,00-22,00)	1,06	0,078
	Inferior	25,00(22,00-26,00)	25,00(24,00-27,00)	2,82	0,165
	Temporal	17,00(16,00-18,00)	17,00(17,00-18,00)	1,44	0,599
Anillo macular externo	Superior	37,00(35,00-40,75)	37,00(34,00-41,00)	1,80	0,500
	Nasal	47,00(45,00-51,00)	50,00(43,00-54,00)	1,40	0,376
	Inferior	38,5(35-42,75)	41,0(36,00-44,00)	2,08	0,449
	Temporal	19,00(18,00-20,75)	19,00(18,00-20,00)	-0,27	0,567
Volumen CFNR	0,905(0,87-0,9475)	0,93(0,86-1,00)	1,61	0,411	

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 10. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CFNR ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa de células ganglionares de la retina (CCG)

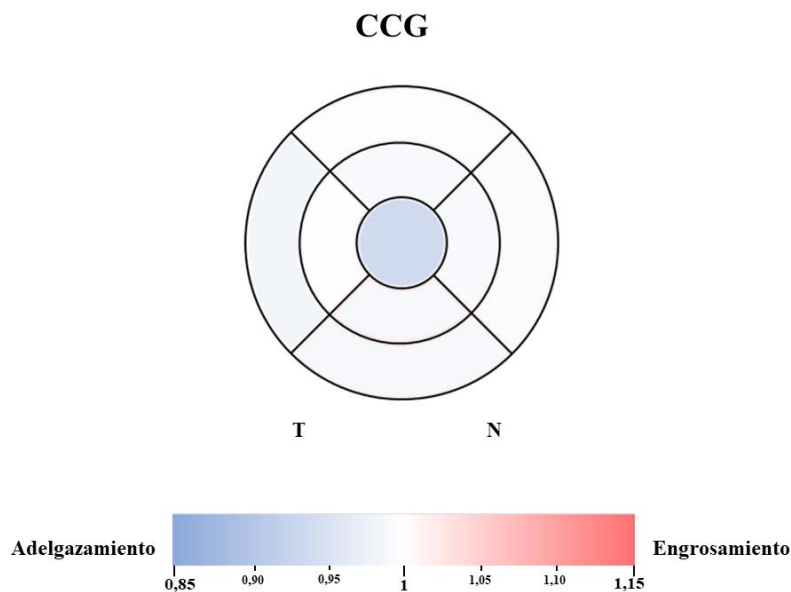
Cuando analizamos según la historia familiar los diferentes sectores maculares de la CCG no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos de estudio tal y como se muestra en la Tabla 18 y Gráfica 11.

Tabla 18. Análisis del grosor de la CCG según historia familiar

		HF-	HF+	HF- vs HF+	
		(n= 40)	(n= 95)	% diferencia	P-valor
Fóvea		15,00(14,00-19,00)	15,00(12,00-17,00)	-6,21	0,111
Anillo macular interno	Superior	54,00(49,00-55,75)	53,00(50,00-56,00)	-0,96	0,877
	Nasal	53,00(49,25-56,00)	52,00(48,00-55,00)	-0,98	0,639
	Inferior	52,00(50,25-54,00)	52,0(49,0-55,00)	-0,84	0,822
	Temporal	47,00(45,00-50,00)	48,00(45,00-50,00)	0,11	0,845
Anillo macular externo	Superior	34,00(32,00-36,00)	34,00(32,00-37,00)	-0,28	0,651
	Nasal	38,00(35,00-41,00)	38,00(36,00-40,00)	-0,56	0,856
	Inferior	33,50(31,00-35,00)	33,00(31,00-35,00)	-1,15	0,702
	Temporal	35,00(32,25-38,00)	35,00(32,00-37,00)	-1,69	0,883
Volumen CCG		1,09(1,02-1,14)	1,08(1,02-1,13)	-1,09	0,817

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 11. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CCG ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa plexiforme interna (CPI)

Cuando analizamos los grosores de los sectores maculares de la CPI no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos **HF-** vs **HF+**. Los detalles se muestran en Tabla 19 y Gráfica 12.

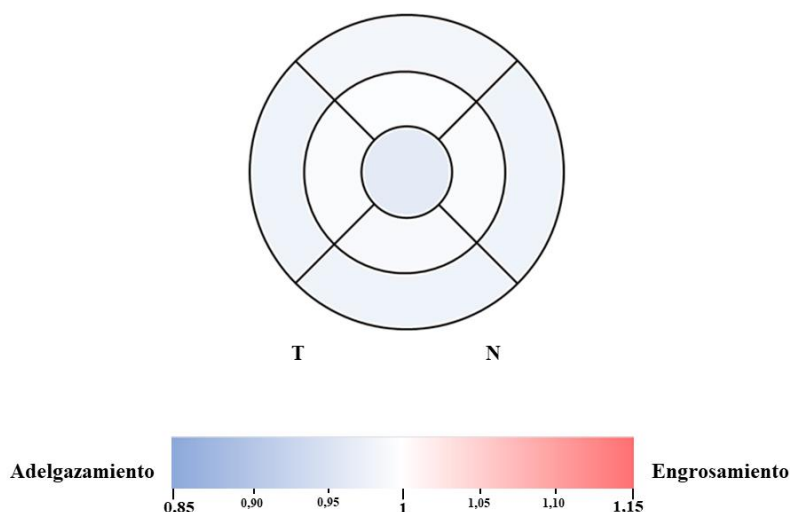
Tabla 19. Análisis del grosor de la CPI según historia familiar

		HF-	HF+	HF- vs HF+	
		(n= 40)	(n= 95)	% diferencia	P-valor
Fóvea		21,00(19,00-24,00)	20,00(18,00-22,00)	-3,53	0,144
Anillo macular interno	Superior	42,00(39,25-43,75)	42,00(40,00-43,00)	-0,32	0,626
	Nasal	43,00(41,25-45,00)	43,00(41,00-45,00)	-0,66	0,470
	Inferior	42,00(40,00-44,00)	41,00(39,00-44,00)	-0,91	0,451
	Temporal	42,00(39,00-43,75)	41,00(39,00-43,00)	-0,69	0,768
Anillo macular externo	Superior	28,00(26,25-30,75)	28,00(26,00-30,00)	-1,57	0,432
	Nasal	31,00(28,00-32,75)	30,00(27,00-32,00)	-2,03	0,188
	Inferior	28,00(26,00-30,00)	27,00(25,00-29,00)	-2,06	0,114
	Temporal	32,50(30,25-35,00)	32,00(30,00-34,00)	-2,02	0,280
Volumen CPI		0,92(0,85-0,97)	0,90(0,85-0,94)	-1,44	0,237

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

CPI



Gráfica 12. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CPI ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa nuclear interna (CNI)

Cuando comparamos entre el grupo **HF-** y **HF+** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en los sectores maculares de la CNI. (Tabla 20 y Gráfica 13).

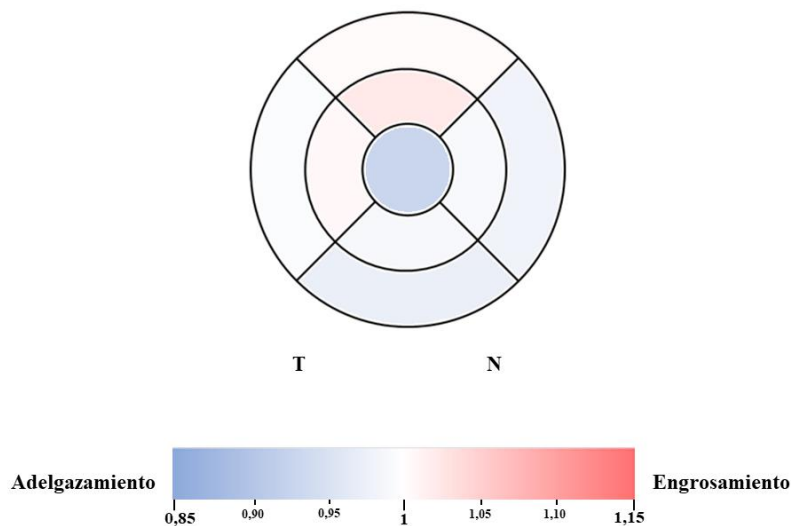
Tabla 20. Análisis del grosor de la CNI según historia familiar

	HF- (n= 40)	HF+ (n= 95)	HF- vs HF+		
			% diferencia	P-valor	
Fóvea	20,50(19,00-25,00)	20,00(17,00-22,00)	-7,04	0,144	
Anillo macular interno	Superior	40,00(38,25-42,75)	41,00(39,00-44,00)	2,32	0,626
	Nasal	42,00(39,00-45,75)	41,00(39,00-44,00)	-1,03	0,470
	Inferior	42,00(39,00-45,00)	41,00(39,00-44,00)	-1,13	0,451
	Temporal	38,00(36,00-41,00)	38,50(36,00-41,00)	0,76	0,768
Anillo macular externo	Superior	31,00(29,25-33,00)	31,00(30,00-32,00)	0,52	0,432
	Nasal	35,00(33,00-36,00)	34,00(32,00-35,25)	-1,93	0,188
	Inferior	32,00(30,00-33,00)	31,00(29,00-32,00)	-2,56	0,114
	Temporal	33,00(31,00-34,00)	32,00(31,00-34,00)	-0,51	0,280
Volumen CNI	0,97(0,92-0,97)	0,95(0,92-0,98)	-0,81	0,237	

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

CNI



Gráfica 13. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CNI ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa plexiforme externa (CPE)

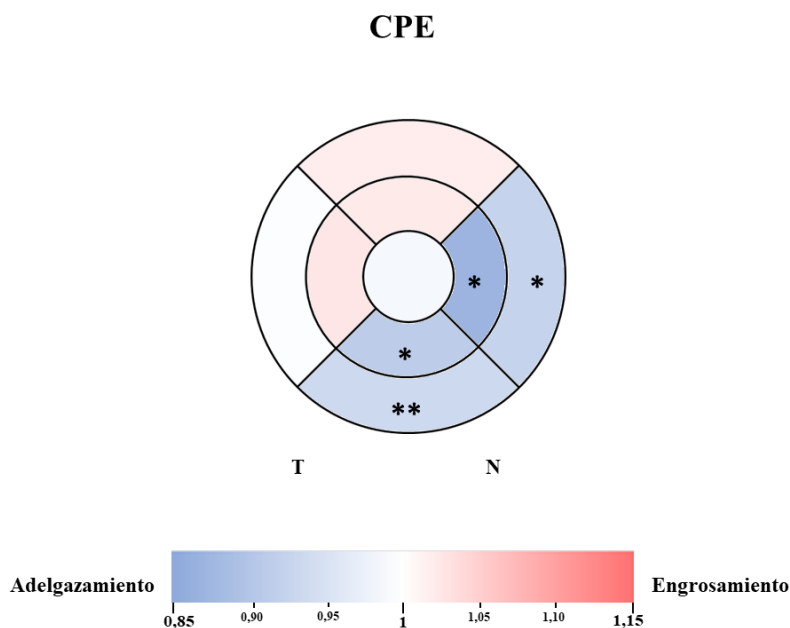
Cuando comparamos entre el grupo **HF-** con el grupo **HF+** encontramos diferencias estadísticamente significativas en diferentes sectores maculares de la CPE. El grupo **HF+** muestra un descenso estadísticamente significativo en los sectores nasales tanto del anillo macular interno (32,00(28,00-35,00), **HF+** vs 34,00(30,25-46,75), **HF-**) ($p < 0,05$), como en el anillo macular externo (29,00(27,00-31,00), **HF+** vs 30,50(28,00-33,00), **HF-**) ($p < 0,05$). Este descenso estadísticamente significativo en el grupo **HF+** en comparación con el grupo **HF-** también puede observarse en el sector inferior del anillo macular interno (32,00(29,00-40,00), **HF+** vs 33,50(31,00-40,75), **HF-**) ($p < 0,05$) y en el sector inferior del anillo macular externo (27,00(25,00-29,00), **HF+** vs 28,00(26,25-31,00), **HF-**) ($p < 0,05$). Los detalles pueden observarse en la Tabla 21 y Gráfica 14.

Tabla 21. Análisis del grosor de la CPE según historia familiar

		HF- (n= 40)	HF+ (n= 95)	HF- vs HF+	
				% diferencia	P-valor
Fóvea		27,00(24,25-30,00)	25,00(23,00-30,00)	-1,21	0,220
Anillo macular interno	Superior	32,00(29,00-38,00)	32,00(28,00-38,00)	2,26	0,958
	Nasal	34,00(30,25-46,75)	32,00(28,00-35,00)	-13,06	0,015*
	Inferior	33,50(31,00-40,75)	32,00(29,00-40,00)	-8,85	0,043*
	Temporal	30,50(28,25-32,75)	31,00(28,00-34,00)	2,68	0,569
Anillo macular externo	Superior	26,00(25,00-29,00)	26,00(25,00-29,00)	2,06	0,645
	Nasal	30,50(28,00-33,00)	29,00(27,00-31,00)	-7,53	0,013*
	Inferior	28,00(26,25-31,00)	27,00(25,00-29,00)	-6,53	0,001**
	Temporal	28,00(26,00-29,00)	27,00(26,00-29,00)	-0,32	0,640
Volumen CPE		0,85(0,78-0,89)	0,82(0,77-0,86)	-4,02	0,021

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 14. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CPE ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa nuclear externa (CNE)

Cuando comparamos los sectores maculares de la CNE entre los grupos **HF-** e **HF+**, encontramos que el grupo con **HF+** presenta un incremento de grosor estadísticamente significativo en el sector nasal del anillo macular interno (69,00(55,25-78,00), **HF-**, vs 76,00(68,00-81,00), **HF+**) ($p < 0,05$), y del anillo macular externo (52,00(47,00-57,75), **HF-** vs 56,00(52,00-61,00), **HF+**) ($p < 0,05$). También encontramos diferencias estadísticamente significativas en el sector inferior del anillo macular externo (48,50(42,50-53,00), **HF-** vs 51,00(48,00-56,00), **HF+**) ($p < 0,01$). El volumen de esta capa también muestra un incremento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) en el grupo **HF+** (1,69(1,61-1,80)) en comparación con el grupo **HF-**(1,63(1,54-1,71)). Los detalles pueden observarse en la Tabla 22 y Gráfica 15.

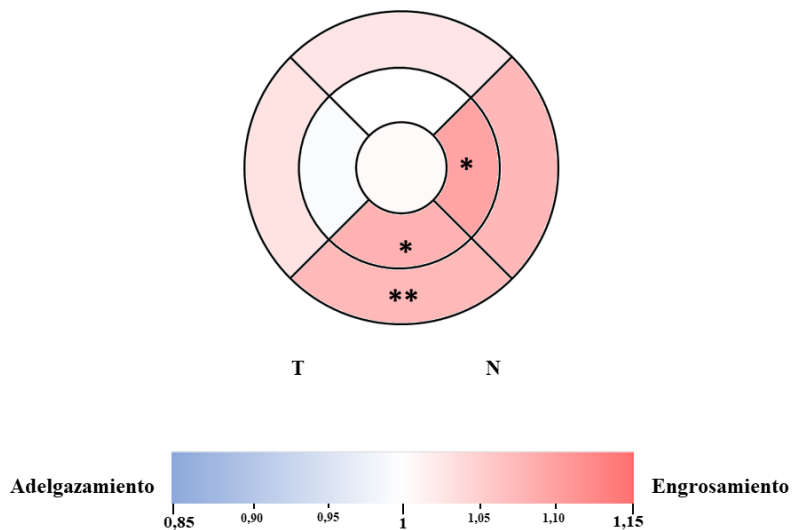
Tabla 22. Análisis del grosor de la CNE según historia familiar

	HF- (n= 40)	HF+ (n= 95)	HF- vs HF+		
			% diferencia	P-valor	
Fóvea	95,00(87,00-100,00)	96,00(89,00-102,00)	0,57	0,601	
Anillo macular interno	Superior	68,00(61,50-74,00)	69,00(60,00-76,00)	-0,02	0,826
	Nasal	69,00(55,25-78,00)	76,00(68,00-81,00)	9,69	0,012*
	Inferior	65,00(46,25-72,50)	68,00(59,00-74,00)	8,19	0,066
	Temporal	72,50(67,25-76,50)	72,00(67,00-77,00)	-0,64	0,813
Anillo macular externo	Superior	58,00(53,50-61,75)	60,00(55,00-63,00)	2,81	0,188
	Nasal	52,00(47,00-57,75)	56,00(52,00-61,00)	7,66	0,010*
	Inferior	48,50(42,50-53,00)	51,00(48,00-56,00)	7,40	0,009**
	Temporal	55,50(51,00-58,00)	56,00(53,00-60,00)	3,16	0,065
Volumen CNE	1,63(1,54-1,71)	1,69(1,61-1,80)	4,84	0,010*	

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

CNE



Gráfica 15. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CNE ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor del epitelio pigmentario de la retina (EPR)

Cuando comparamos los sectores de la macular en el EPR entre el grupo de **HF-** e **HF+** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el grosor. Los detalles de cada grupo pueden observarse en la Tabla 23 y Gráfica 16.

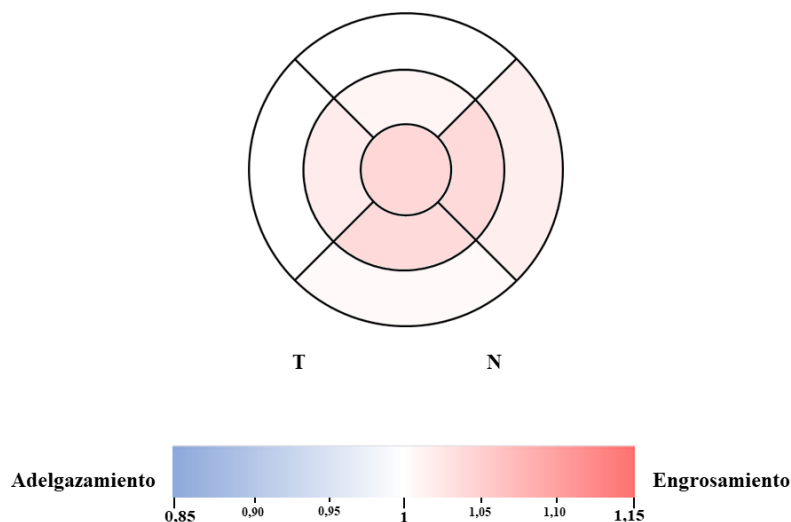
Tabla 23. Análisis del grosor del EPR según historia familiar

	HF- (n= 40)	HF+ (n= 95)	HF- vs HF+		
			% diferencia	P-valor	
Fóvea	16,00(15,00-16,00)	16,0(15,00-17,00)	4,27	0,142	
Anillo macular interior	Superior	15,00(14,00-16,00)	15,00(14,00-16,00)	1,16	0,704
	Nasal	15,00(14,00-16,00)	15,00(14,00-17,00)	3,98	0,168
	Inferior	14,00(14,00-15,00)	15,00(14,00-16,00)	3,96	0,125
	Temporal	14,00(14,00-15,00)	14,00(13,00-15,00)	2,12	0,805
Anillo macular exterior	Superior	13,00(12,00-14,00)	13,00(13,00-14,00)	0,02	0,633
	Nasal	13,00(12,00-14,00)	13,00(12,00-14,00)	1,86	0,737
	Inferior	13,00(12,00-13,00)	13,00(12,00-13,00)	0,64	0,686
	Temporal	13,00(12,00-13,00)	13,00(12,00-13,00)	0,08	0,833
Volumen EPR	0,38(0,36-0,39)	0,38(0,36-0,40)	0,18	0,624	

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

EPR



Gráfica 16. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la EPR ente el grupo de HF+ y el grupo HF- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

7.2.1.2 Estudio del espesor de la mácula por capas de la retina según la historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

Mediante la OCT analizamos el grosor de cada una de las capas de la retina en el área macular en los siguientes grupos de estudio: el grupo con menor riesgo de desarrollo de EA (**HF- ApoE ε4-**) y el grupo con mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad (**HF+ ApoE ε4+**).

Espesor total de la retina

El análisis del grosor retiniano total se llevó a cabo teniendo en cuenta la historia familiar de la enfermedad y la caracterización alélica para el gen ApoE ε4. Teniendo en cuenta estas características, los sujetos analizados se clasificaban en: **HF- ApoE ε4-** (n=29) y el grupo **HF+ ApoE ε4** (n=35). Los detalles de cada uno de los sectores analizados por grupo pueden observarse en la Tabla 24 y Gráfica 16.

Cuando comparamos los grupos **HF- ApoE ε4-** con el de **HF+ ApoE ε4+** no se observaron cambios de grosor estadísticamente significativos ($p > 0,05$) en los diferentes sectores de los anillos maculares analizados. (Tabla 24 y Gráfica 16.).

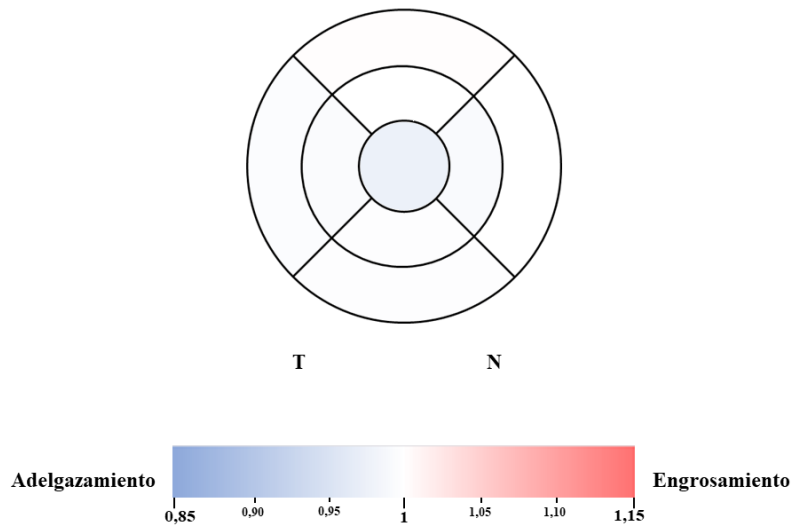
Tabla 24. Análisis del espesor total de la retina según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

		HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n= 35)	% diferencia	p-valor
Fóvea		281,00(267,00-296,00)	279,50(264-296,25)	-2,440	0,133
	Superior	344,00(334,50-354,00)	344,00(339,00-352,00)	-0,116	0,813
Anillo macular interno	Nasal	347,00(342,00-358,00)	345,00(340,00-355,00)	-0,717	0,380
	Inferior	343,00(332,50-351,00)	339,00(333,00-349,00)	-0,639	0,513
	Temporal	330,00(320,00-337,00)	329,00(323,00-337,00)	-0,563	0,656
	Superior	295,00(286,50-310,50)	298,00(294,00-302,00)	0,239	0,585
Anillo macular externo	Nasal	318,00(304,50-329,50)	316,00(307,00-327,00)	0,066	0,866
	Inferior	288,00(280,50-301,00)	289,00(282,00-297,00)	-0,263	0,855
	Temporal	281,00(271,00-296,50)	282,00(277,00-290,00)	-0,403	0,914
Volumen macular		8,61(8,44-8,97)	8,66(8,48-8,83)	-0,231	0,984

(Mediana RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

Grosor total de la retina



Gráfica 17. Representación colorimétrica de los cambios del grosor retiniano total ente el grupo de HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney

Espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina macular (CFNRm)

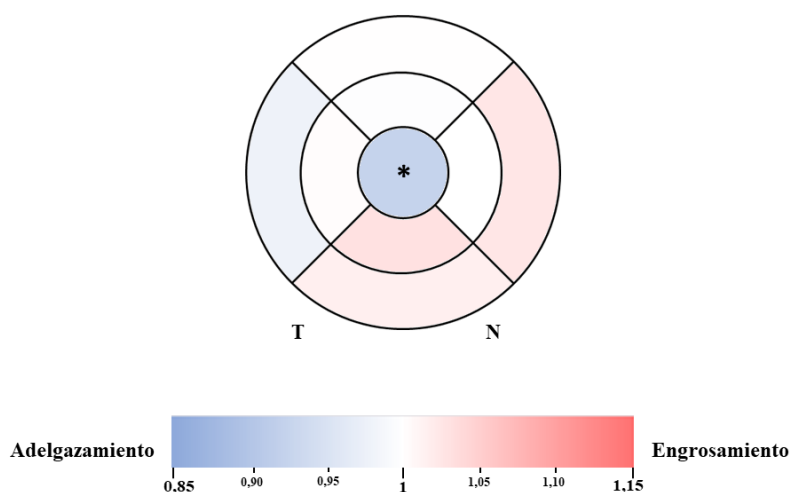
Cuando analizamos la CFNR en el área macular según la historia familiar y la caracterización para el ApoE ε4 solo encontramos un adelgazamiento estadísticamente significativo ($p < 0,05$) del sector foveal del grupo **HF+ ApoE ε4+** (12,00(10,00-13,00)) cuando lo comparamos con el grupo **HF- ApoE ε4-** (13,00(11,50-14,00)) (Tabla 25 y Gráfica 18).

Tabla 25. Análisis del espesor de la CFNR según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

		HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n=35)	% diferencia	p-valor
Fóvea		13,00(11,50-14,00)	12,00(10,00-13,00)	-7,543	0,026*
	Superior	25,00(23,00-27,00)	25,00(23,00-26,00)	-0,159	0,673
Anillo macular interno	Nasal	21,00(19,50-22,00)	21,00(20,00-22,00)	0	0,924
	Inferior	25,00(22,00-26,00)	26,00(24,00-27,00)	3,218	0,133
	Temporal	17,00(17,00-18,00)	17,00(17,00-18,00)	0,347	0,85
Anillo macular externo	Superior	37,00(35,00-41,00)	37,00(35,00-41,00)	0,105	0,919
	Nasal	47,00(44,50-52,50)	51,00(43,00-54,00)	2,664	0,376
	Inferior	40,00(36,00-45,50)	41,00(37,00-44,00)	3,218	0,641
	Temporal	19,00(18,00-21,00)	19,00(18,00-20,00)	-2,159	0,34
Volumen CFNR		0,91(0,87-0,98)	0,94(0,86-1,02)	1,246	0,613

Mediana (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

CFNR



Gráfica 18. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CFNR ente el grupo de HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney

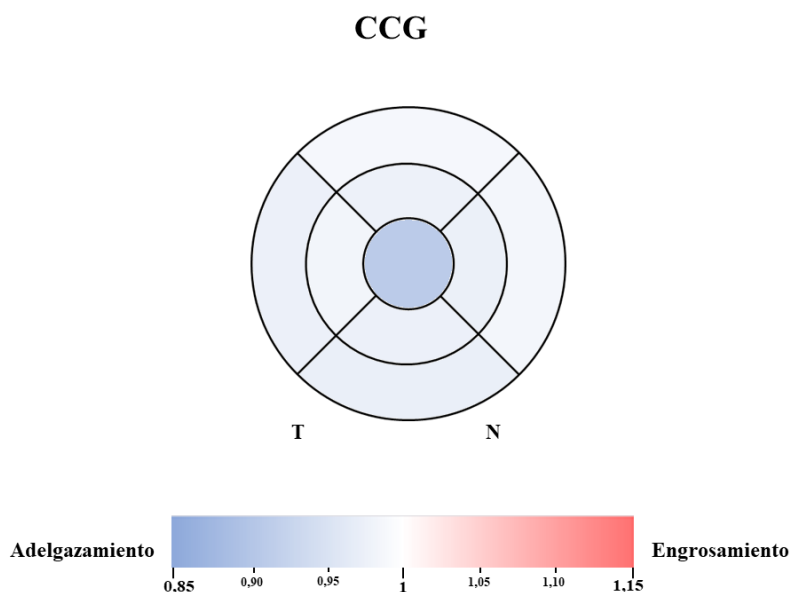
Espesor de la capa de células ganglionares de la retina (CCG)

Cuando comparamos los sectores de la CCG por historia familiar y caracterización para el ApoE4, no encontramos diferencias estadísticamente significativas (P>0,05) entre los grupos de estudio (Tabla 16 y Gráfica 19).

Tabla 26. Análisis del espesor de la CCG según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n=35)	% diferencia	p-valor
Fóvea	15,00(13,50-19,00)	14,00(12,00-16,00)	-8,99	0,067
Anillo macular interno	Superior	54,00(50,00-56,00)	-2,27	0,241
	Nasal	53,00(49,50-56,00)	-2,55	0,267
	Inferior	52,00(51,00-54,50)	-2,47	0,46
	Temporal	47,00(45,50-50,00)	48,00(43,00-49,00)	-1,71
Anillo macular externo	Superior	35,00(32,00-37,00)	-1,24	0,705
	Nasal	38,00(35,50-42,00)	-1,51	0,503
	Inferior	34,00(32,00-36,00)	-2,75	0,173
	Temporal	35,00(32,00-39,00)	34,00(32,00-37,00)	-2,46
Volumen CCG	1,10(1,03-1,17)	1,08(1,02-1,13)	-2,21	0,224

Mediana (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 19. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CCG ente el grupo de HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney

Espesor de la capa plexiforme interna (CPI)

Cuando comparamos entre grupos el grosor de los diferentes sectores de la CPI en el área macular encontramos reducciones de grosor estadísticamente significativas en el grupo de **HF+**

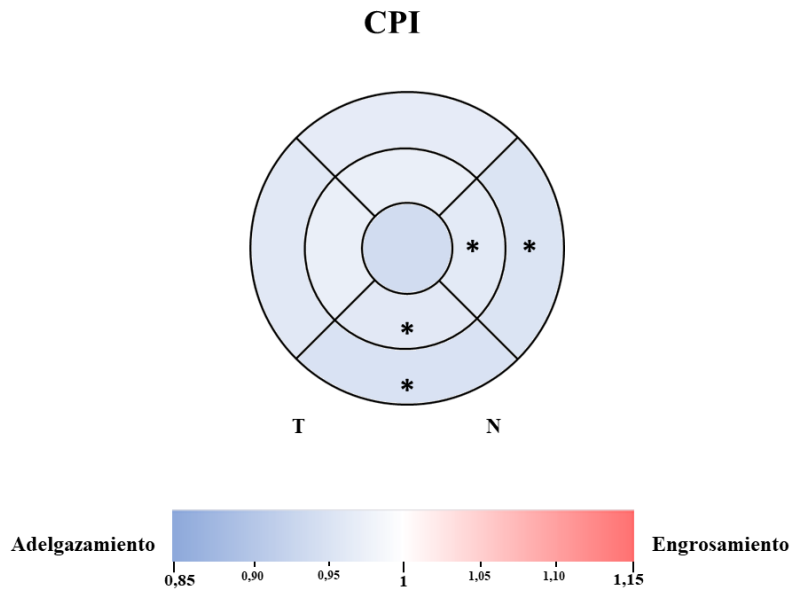
ApoE ε4+ en comparación al grupo **HF- ApoE ε4-** en los siguientes sectores: en el sector nasal en el anillo macular interno (42,00(40,00-44,00), **HF+ ApoE ε4+**, vs 44,00(42,00-45,00), **HF- ApoE ε4-**) y en el anillo macular externo (30,00(27,00-31,00), **HF+ ApoE ε4+**, vs 32,00(28,00-33,00), **HF- ApoE ε4-**) ($p<0,05$). También encontramos una reducción de grosor en el sector inferior del anillo macular interno (41,00(39,00-42,00), **HF+ ApoE ε4+**, vs 42,00(40,50-44,00), **HF- ApoE ε4-**) ($p<0,05$) y del anillo macular externo (27,00(25,00-29,00), **HF+ ApoE ε4+**, vs 29,00(27,00-30,00), **HF- ApoE ε4-**) ($p<0,05$) (Tabla 27 y Gráfica 20).

Tabla 27. Análisis del espesor de la CPI según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

		HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n= 35)	% diferencia	p-valor
Fóvea		20,00(19,00-24,00)	19,00(18,00-22,00)	-6,02	0,057
Anillo macular interno	Superior	43,00(40,50-44,00)	41,00(40,00-43,00)	-2,71	0,07
	Nasal	44,00(42,00-45,00)	42,00(40,00-44,00)	-3,63	0,027*
	Inferior	42,00(40,50-44,00)	41,00(39,00-42,00)	-3,82	0,017*
	Temporal	42,00(39,00-43,50)	40,00(39,00-43,00)	-2,70	0,169
Anillo macular externo	Superior	29,00(27,00-31,00)	28,00(26,00-30,00)	-3,32	0,190
	Nasal	32,00(28,00-33,00)	30,00(27,00-31,00)	-4,66	0,048*
	Inferior	29,00(27,00-30,00)	27,00(25,00-29,00)	-4,97	0,018*
	Temporal	33,00(30,50-36,00)	32,00(30,00-34,00)	-3,89	0,138
Volumen CPI		0,93(0,87-0,98)	0,90(0,85-0,94)	-3,74	0,039*

Mediana (RI)

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 20. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CPI ente el grupo de HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor de la capa nuclear interna (CNI)

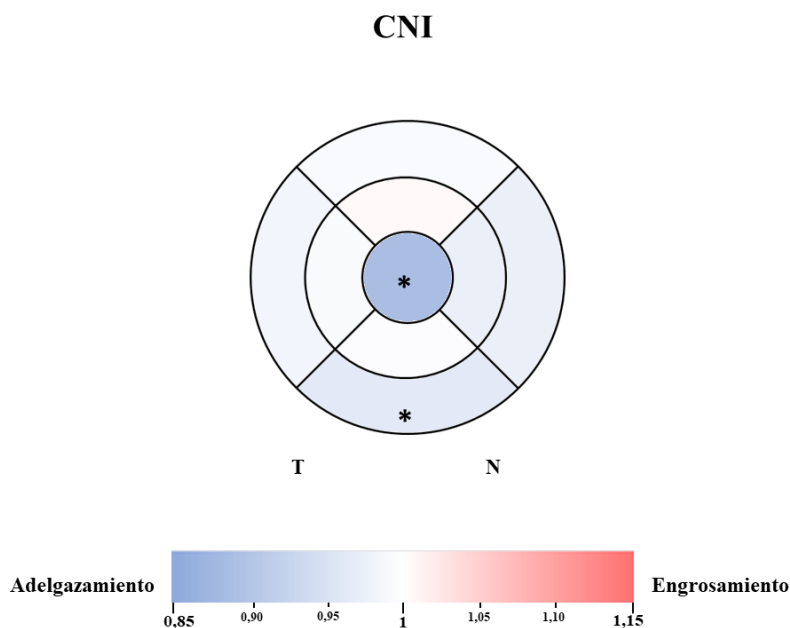
En el estudio de grosores maculares de la CNI entre los grupos **HF- ApoE-** y **HF+ ApoE+**, observamos que el grupo **HF+ ApoE+** presenta reducciones de grosor estadísticamente significativas en el sector foveal (18,00(16,00-21,25), **HF+ ApoE+**, vs 20,00(18,50-25,00), **HF- ApoE-**) (p<0,05) y en el sector inferior del anillo macular externo (31,00(29,00-32,00), **HF+ ApoE+**, vs 32,00(30,00-34,00), **HF- ApoE-**) (p<0,05) (Tabla 28y Gráfica 21).

Tabla 28. Análisis del espesor de la CNI según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n=35)	% diferencia	p-valor	
Fóvea	20,00(18,50-25,00)	18,00(16,00-21,25)	-11,27	0,016*	
Anillo macular interno	Superior	40,00(39,00-42,50)	41,00(38,00-43,00)	0,71	0,798
	Nasal	43,00(39,50-46,00)	41,00(39,00-43,00)	-2,67	0,142
	Inferior	43,00(39,50-45,00)	41,50(40,00-45,00)	-0,38	0,552
	Temporal	38,00(36,00-41,00)	38,00(36,00-40,25)	-0,88	0,683
Anillo macular externo	Superior	32,00(30,00-33,00)	31,00(29,50-33,00)	-0,76	0,596
	Nasal	35,00(33,00-36,50)	34,00(32,00-36,00)	-2,63	0,103
	Inferior	32,00(30,00-34,00)	31,00(29,00-32,00)	-3,71	0,029*
	Temporal	33,00(31,50-35,00)	32,00(31,00-34,00)	-1,6	0,313
Volumen CNI	0,98(0,93-1,02)	0,96(0,9-0,98)	-1,91	0,115	

Mediana (RI)

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 21. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CNI ente el grupo de HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney.

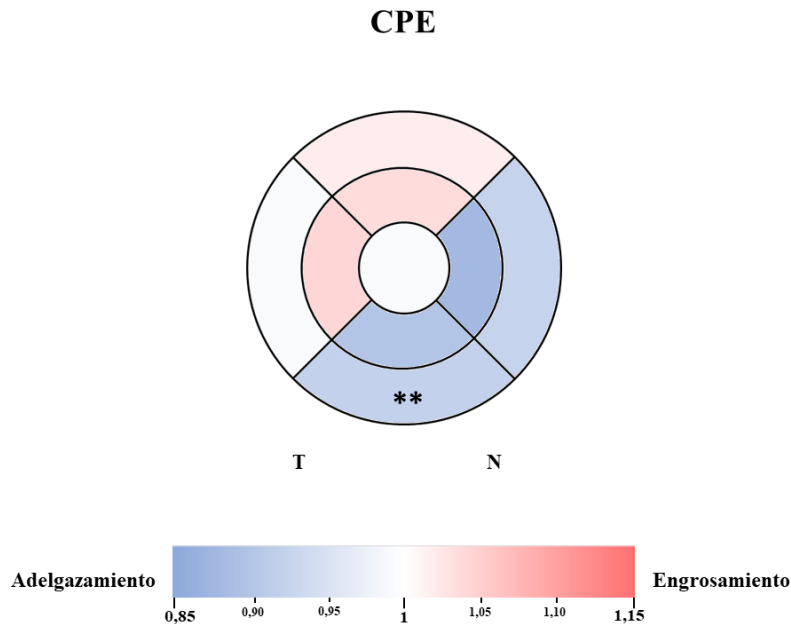
Espesor de la capa plexiforme externa (CPE)

Cuando comparamos los grosores de los sectores maculares de la CPE entre los grupos **HF- ApoE ε4-** y **HF+ ApoE ε4+** encontramos que el grupo **HF+ ApoE ε4+** muestra una disminución del grosor estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en el sector inferior del anillo externo (30,00(27,00-32,50), **HF- ApoE ε4-** vs 27,00(26,00-29,00), **HF+ ApoE ε4+**) (Tabla 29 y Gráfica 22).

Tabla 29. Análisis del espesor de la CPE según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

		HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n=35)	% diferencia	p-valor
Fóvea		26,00(24,00-29,00)	25,00(23,00-30,00)	-0,85	0,529
Anillo macular interno	Superior	31,00(28,50-38,00)	31,00(28,00-39,00)	3,75	0,855
	Nasal	32,00(29,50-49,00)	33,00(30,00-39,00)	-12,1	0,355
	Inferior	34,00(31,00-51,50)	33,00(29,00-46,00)	-10,01	0,097
	Temporal	30,00(28,50-32,50)	32,00(29,00-34,00)	4,36	0,261
Anillo macular externo	Superior	26,00(24,50-29,00)	27,00(25,00-29,00)	2,02	0,38
	Nasal	31,00(27,50-36,00)	30,00(27,00-31,00)	-7,53	0,17
	Inferior	30,00(27,00-32,50)	27,00(26,00-29,00)	-7,91	0,009**
	Temporal	28,00(26,00-30,00)	27,00(26,00-29,00)	-0,86	0,693
Volumen CPE		1,63(1,55-1,69)	1,72(1,63-1,83)	3,979	0,185

Media (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 22. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CPE ente el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ y el grupo HF- ApoE ϵ 4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney.

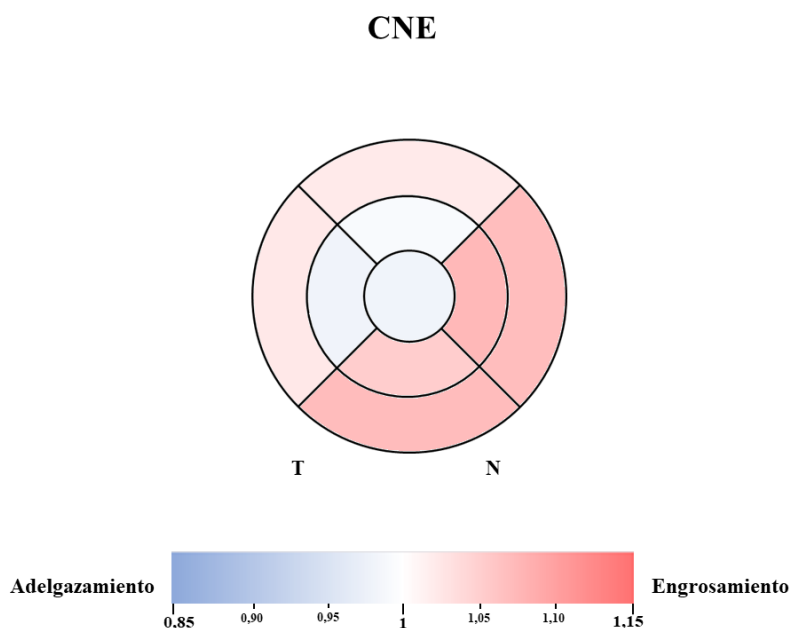
Espesor de la capa nuclear externa (CNE)

Cuando analizamos los sectores maculares de la CNE entre los grupos **HF+ ApoE ϵ 4+** y el grupo **HF- ApoE ϵ 4-** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), existiendo solamente un incremento de volumen total estadísticamente significativo en el grupo de **HF+ ApoE ϵ 4+** 1,72(1,63-1,83) en comparación al grupo **HF- ApoE ϵ 4-** (1,63(1,55-1,69) (Tabla 30 y Gráfica 23).

Tabla 30. Análisis del espesor de la CNE según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n=35)	% diferencia	p-valor
Fóvea	96,00(90,50-102,00)	97,00(91,00-102,00)	-1,91	0,968
Superior	69,00(65,50-75,50)	71,00(63,00-76,00)	-0,8	0,93
Anillo macular interno				
Nasal	72,00(56,50-78,50)	76,00(67,00-80,00)	7,56	0,181
Inferior	65,00(45,50-71,00)	67,00(57,00-73,00)	5,29	0,362
Temporal	73,00(69,00-78,50)	75,00(69,00-77,00)	-1,95	0,995
Anillo macular externo				
Superior	58,00(54,00-63,50)	61,00(55,00-63,00)	2,26	0,207
Nasal	52,00(48,00-57,50)	57,00(50,00-62,00)	6,99	0,059
Inferior	49,00(43,00-53,00)	51,00(48,00-57,00)	7,13	0,06
Temporal	56,00(51,00-58,00)	57,00(54,00-62,00)	2,5	0,103
Volumen CNE	1,63(1,55-1,69)	1,72(1,63-1,83)	3,98	0,024*

Mediana (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 23. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la CNE ente el grupo de HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney.

Espesor del epitelio pigmentario de la retina (EPR)

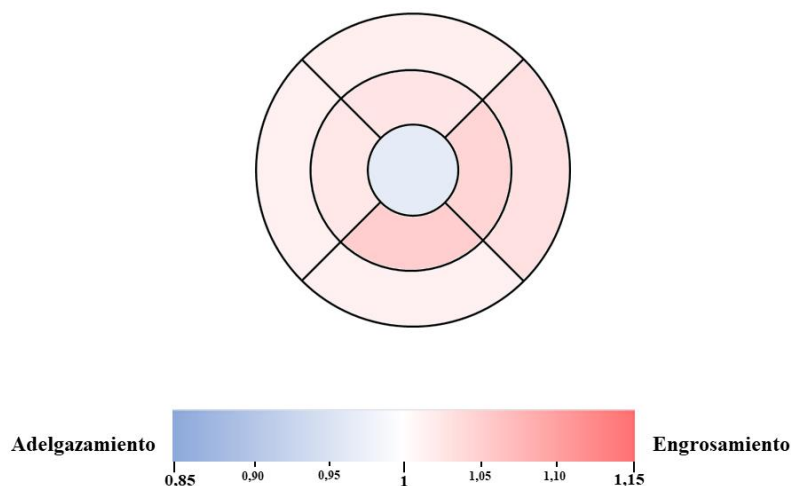
Cuando estudiamos el grosor de los sectores maculares del EPR en los grupos HF- ApoE $\epsilon 4$ - vs HF+ ApoE $\epsilon 4$ + no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos de estudio (Tabla 31 y Gráfica 24)

Tabla 31. Análisis del espesor de la EPR según historia familiar y caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - (n=29)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + (n=35)	% diferencia	p-valor	
Fóvea	16,00(15,00-17,00)	16,00(15,00-17),00	-0,31	0,211	
Anillo macular interno	Superior	15,00(14,00-16,00)	2,64	0,422	
	Nasal	15,00(14,00-16,00)	4,45	0,133	
	Inferior	14,00(14,00-15,00)	15,00(13,00-15,50)	5,21	0,120
	Temporal	14,00(14,00-15,00)	14,00(13,00-15,00)	2,43	0,452
Anillo macular externo	Superior	13,00(13,00-14,00)	2,64	0,555	
	Nasal	13,00(12,25-14,00)	3,22	0,373	
	Inferior	13,00(12,00-13,00)	13,00(12,00-13,00)	1,51	0,726
	Temporal	13,00(12,00-13,00)	13,00(12,00-13,00)	2,43	0,557
Volumen EPR	0,38(0,37-0,39)	0,38(0,35-0,40)	2,53	0,399	

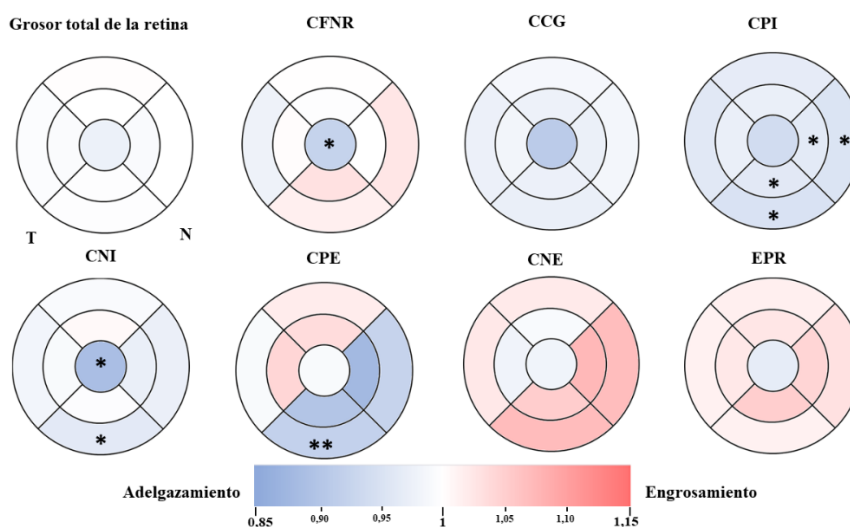
Mediana (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)

EPR



Gráfica 24. Representación colorimétrica de los cambios del grosor de la EPR entre el grupo de HF+ ApoE $\epsilon 4$ + y el grupo HF- ApoE $\epsilon 4$ - en el área macula mediante sectores circulares concéntricos. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney.

En la Gráfica 25 se muestra los cambios de grosor de todas las capas de la retina.



Gráfica 25. Representación colorimétrica de los cambios de grosor de las capas de la retina entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área macular mediante sectores circulares concéntricos. CFNR: capa de fibras nerviosas de la retina; CCG: capa de células ganglionares; CPI: capa plexiforme interna; CNI: capa nuclear interna; CPE: capa plexiforme externa; CNE: capa nuclear externa; EPR: epitelio pigmentario de la retina; HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney.

7.2.2 Estudio de la CFNR peripapilar mediante OCT

7.2.2.1 Estudio de la CFNR peripapilar según historia familiar

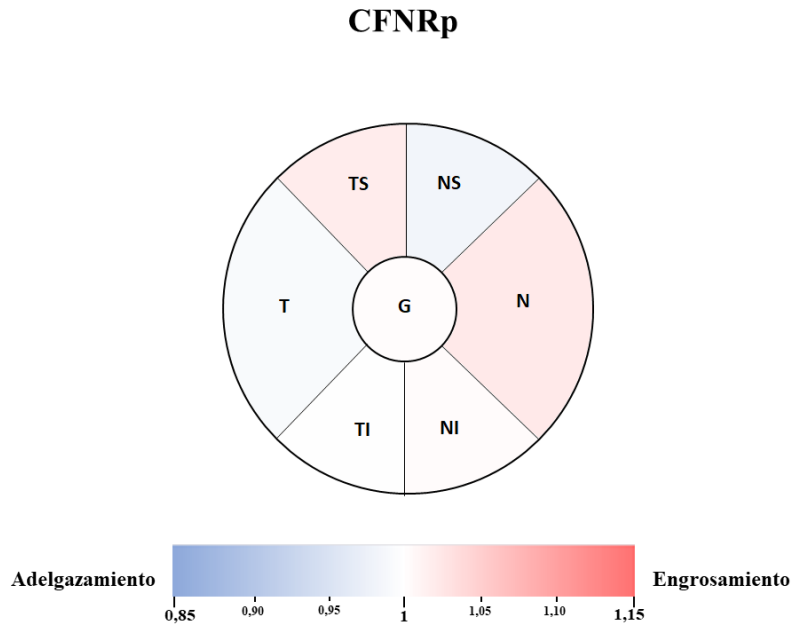
Cuando analizamos el grosor de la CFNR en el área peripapilar según la historia familiar de los sujetos no encontramos diferencias estadísticamente ($p > 0,05$) significativas entre los grupos de estudio. Los detalles se muestran en la Tabla 32 y Gráfica 26 .

Tabla 32. Análisis del espesor de la CFNR peripapilar en sectores por historia familiar de la enfermedad

		HF-	HF+	HF- vs HF+	
		(n= 40)	(n= 95)	% diferencia	P-valor
Sector peripapilar	Temporal	68,00(58,50-80,75)	67,00(63,00-77,00)	0,87	0,834
	Temporal-Superior	130,50(116,50-143,75)	134,00(120,00-148,00)	-1,99	0,313
	Temporal-Inferior	144,00(123,00-166,00)	142,00(133,00-154,00)	0,03	0,874
	Nasal	73,00(66,25-86,00)	76,00(67,00-90,00)	-2,32	0,432
	Nasal-Superior	103,50(95,25-118,75)	109,00(92,00-119,00)	1,70	0,864
	Nasal Inferior	110,50(99,25-129,00)	113,00(99,00-133,00)	-0,52	0,870
Espesor promedio peripapilar		97(90-105)	99,00(91,00-106,00)	-0,32	0,633

Mediana (RI); $P > 0,05$, Test de Mann-Whitney

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)



Gráfica 26. Representación colorimétrica de los cambios de grosor de la CFNR peripapilar entre el grupo HF+ y el grupo HF- el área peripapilar mediante sectores horarios. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

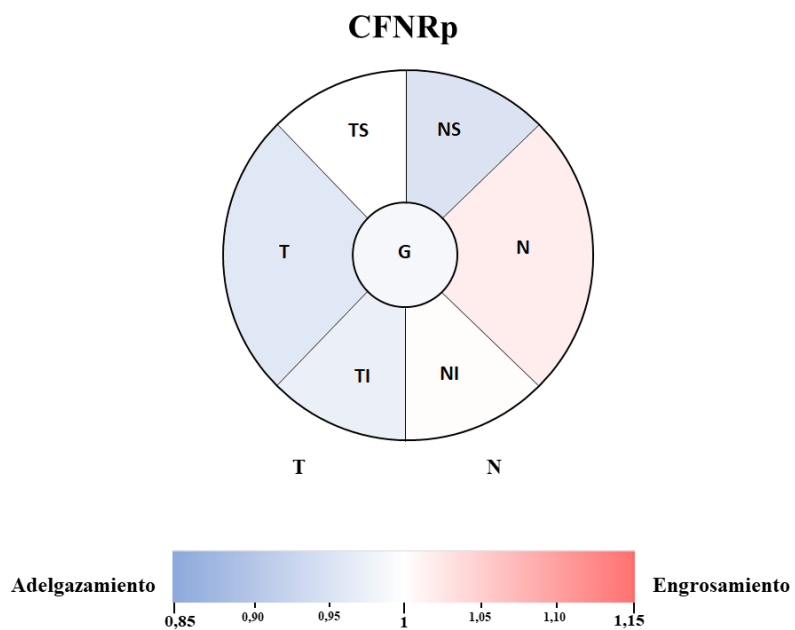
7.2.2.2 Estudio de la CFNR peripapilar según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

Cuando comparamos el grosor de la CFNR en el área peripapilar entre el grupo **HF- ApoE ε4-** y el grupo **HF+ ApoE ε4+** no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05). Los datos se muestran en la Tabla 33 y Gráfica 27.

Tabla 33. Análisis del espesor de la CFNR peripapilar en sectores por historia familiar de la enfermedad y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (n=29)	HF+ ApoE ε4+ (n=35)	% diferencia	p-valor	
Sector peripapilar	Temporal	68,00(59,00-83,00)	66,00(64,00-74,00)	-3,89	0,671
	Temporal-Superior	137,00(118,00-144,500)	134(116-150)	0,00	0,731
	Temporal-Inferior	147(125,5-166)	141(132-151)	-2,54	0,491
	Nasal	73(67,5-86)	75(64-92)	2,02	0,787
	Nasal-Superior	103(93-132,5)	107(90-120)	-4,77	0,530
	Nasal Inferior	111(102,5-132)	111(99-134)	0,35	0,840
Espesor promedio peripapilar	98(90,5-106)	98(85,5-103)	-1,26	0,690	

Mediana (RI)
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)



Gráfica 27. Representación colorimétrica de los cambios de grosor de la CFNR peripapilar entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en el área peripapilar mediante sectores horarios. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann-Whitney.

7.3 Análisis de correlaciones entre pruebas estructurales de OCT y RM

7.3.1 Análisis del volumen de los sectores maculares por capas y de los grosores de la CFNR peripapilar

El volumen de cada uno de los sectores del área macular se analizó en los grupos con menor riesgo de desarrollar la enfermedad (**HF- ApoE ε4-**) n= 30 y el grupo que mayor riesgo presenta para el desarrollo de EA (**HF+ ApoE ε4+**) n=34 (Tabla 34).

Cuando comparamos el volumen de la retina en estos grupos encontramos una disminución del volumen estadísticamente significativa del área foveal (**C0**) de la **CFNR** macular en el grupo **HF+ ApoE ε4+** en comparación con el grupo **HF- ApoE ε4-** (0,009 (0,008–0,010), **HF+ ApoE ε4+** vs 0,010 (0,009–0,011), **HF- ApoE ε4-**) ($p < 0,05$) (Tabla 34).

Cuando comparamos los volúmenes de los sectores de la mácula de la **CPI** encontramos una reducción volumen estadísticamente significativa en el grupo **HF+ ApoE ε4+** en comparación del grupo **HF- ApoE ε4-** en el sector nasal del anillo macular interno (0,066 (0,063–0,070), **HF+ ApoE ε4+** vs 0,069 (0,066–0,071), **HF- ApoE ε4-**) ($p < 0,05$) y del anillo macular externo (0,159 (0,143–0,166), **HF+ ApoE ε4+** vs 0,170 (0,148–0,175), **HF- ApoE ε4-**) ($p < 0,05$); en el sector inferior del anillo macular interno (0,064 (0,061–0,066), **HF+ ApoE ε4+** vs 0,066 (0,064–0,069), **HF- ApoE ε4-**) ($p < 0,05$) y del el anillo macular externo (0,143 (0,131–0,154), **HF+ ApoE ε4+** vs 0,154 (0,146–0,159) , **HF- ApoE ε4-**) ($p < 0,05$) (Tabla 34).

Cuando comparamos los sectores maculares de la **CNI** encontramos una disminución de grosor estadísticamente significativa del volumen del sector foveal en el grupo grupo **HF+ ApoE ε4+** 0,014 (0,013–0,017) cuando lo comparamos con el grupo de **HF- ApoE ε4-** 0,016 (0,014–0,020) ($p < 0,05$) y en el sector inferior del anillo macular externo del grupo **HF+ ApoE ε4+** 0,164 (0,154–0,170) cuando lo comparamos con el grupo de **HF- ApoE ε4-** 0,170 (0,159–0,180) ($p < 0,01$) (Tabla 34).

Esta disminución del grosor estadísticamente significativa también la encontramos en el sector inferior del anillo macular externo de la **CPE** en el grupo **HF+ ApoE ε4+** 0,143 (0,138–0,155) en comparación con el grupo **HF- ApoE ε4-** 0,159 (0,143–0,171) ($p < 0,05$) (Tabla 34).

Tabla 34. Análisis de los volúmenes de los diferentes sectores maculares de la capa de la retina de la familiar de la enfermedad

Capa de la retina	Anillo macular	Sector	HF- ApoE ε4-	HF+ ApoE ε4+	p-valor
			(n= 30)	(n= 34)	
Retina total	Anillo macular interno	Foveal	0,220 (0,208–0,232)	0,218 (0,207–0,222)	0,213
		Nasal	0,545 (0,537–0,562)	0,543 (0,533–0,558)	0,522
		Superior	0,540 (0,527–0,555)	0,541 (0,532–0,553)	0,701
		Temporal	0,518 (0,503–0,529)	0,517 (0,507–0,529)	0,788
		Inferior	0,538 (0,523–0,551)	0,533 (0,523–0,549)	0,657
	Anillo macular externo	Nasal	1,681 (1,618–1,745)	1,678 (1,628–1,734)	0,898
		Superior	1,564 (1,520–1,645)	1,582 (1,559–1,605)	0,545
		Temporal	1,490 (1,439–1,571)	1,495 (1,467–1,539)	0,904
		Inferior	1,532 (1,488–1,596)	1,529 (1,495–1,575)	0,752
		Foveal	0,010 (0,009–0,011)	0,009 (0,008–0,010)	0,044*
mCFNR	Anillo macular interno	Nasal	0,032 (0,031–0,035)	0,033 (0,031–0,035)	0,817
		Superior	0,038 (0,036–0,042)	0,039 (0,036–0,041)	0,586
		Temporal	0,027 (0,027–0,028)	0,027 (0,026–0,028)	0,939
		Inferior	0,038 (0,035–0,041)	0,041 (0,038–0,042)	0,104
		Nasal	0,249 (0,233–0,274)	0,270 (0,236–0,286)	0,205
	Anillo macular externo	Superior	0,196 (0,184–0,217)	0,196 (0,186–0,217)	0,622
		Temporal	0,101 (0,095–0,111)	0,101 (0,095–0,106)	0,264
		Inferior	0,207 (0,191–0,240)	0,217 (0,196–0,233)	0,513
		Foveal	0,012 (0,010–0,015)	0,011 (0,009–0,013)	0,112
		CCG	Anillo macular interno	Nasal	0,083 (0,078–0,088)
Superior	0,085 (0,079–0,088)			0,082 (0,077–0,086)	0,247
Temporal	0,074 (0,072–0,079)			0,075 (0,068–0,077)	0,355
Inferior	0,082 (0,080–0,085)			0,082 (0,077–0,085)	0,478
Nasal	0,204 (0,190–0,223)			0,207 (0,186–0,212)	0,369
Anillo macular externo	Superior		0,186 (0,170–0,196)	0,180 (0,164–0,196)	0,548
	Temporal		0,186 (0,170–0,207)	0,180 (0,170–0,196)	0,504
	Inferior		0,180 (0,172–0,191)	0,175 (0,159–0,186)	0,087
	Foveal		0,016 (0,015–0,019)	0,015 (0,014–0,017)	0,077
	Anillo macular interno		Nasal	0,069 (0,066–0,071)	0,066 (0,063–0,070)
CPI					

	Superior	0,068 (0,064–0,069)	0,064 (0,062–0,068)	0,068
	Temporal	0,066 (0,061–0,068)	0,063 (0,061–0,068)	0,17
	Inferior	0,066 (0,064–0,069)	0,064 (0,061–0,066)	0,019*
	Nasal	0,170 (0,148–0,175)	0,159 (0,143–0,166)	0,044*
Anillo macular externo	Superior	0,154 (0,143–0,164)	0,148 (0,138–0,160)	0,142
	Temporal	0,178 (0,163–0,191)	0,170 (0,159–0,180)	0,103
	Inferior	0,154 (0,146–0,159)	0,143 (0,131–0,154)	0,006*
	Foveal	0,016 (0,014–0,020)	0,014 (0,013–0,017)	0,041*
	Nasal	0,068 (0,061–0,072)	0,065 (0,061–0,068)	0,313
Anillo macular interno	Superior	0,063 (0,061–0,066)	0,065 (0,061–0,068)	0,449
	Temporal	0,060 (0,056–0,064)	0,060 (0,057–0,063)	0,925
	Inferior	0,067 (0,061–0,071)	0,065 (0,063–0,071)	0,792
Anillo macular externo	Nasal	0,186 (0,175–0,192)	0,180 (0,170–0,191)	0,177
	Superior	0,167 (0,158–0,175)	0,164 (0,159–0,175)	0,929
	Temporal	0,175 (0,164–0,186)	0,170 (0,164–0,180)	0,463
	Inferior	0,170 (0,159–0,180)	0,164 (0,154–0,170)	0,045*
	Foveal	0,020 (0,019–0,022)	0,020 (0,018–0,024)	0,71
	Nasal	0,050 (0,047–0,077)	0,052 (0,047–0,061)	0,463
Inner	Superior	0,049 (0,045–0,060)	0,049 (0,044–0,062)	0,984
	Temporal	0,048 (0,045–0,052)	0,049 (0,045–0,052)	0,441
	Inferior	0,053 (0,049–0,081)	0,049 (0,046–0,073)	0,089
Anillo macular externo	Nasal	0,162 (0,147–0,191)	0,159 (0,143–0,164)	0,203
	Superior	0,138 (0,131–0,154)	0,140 (0,133–0,154)	0,476
	Temporal	0,148 (0,138–0,159)	0,143 (0,138–0,154)	0,554
	Inferior	0,159 (0,143–0,171)	0,143 (0,138–0,155)	0,007*
	Foveal	0,075 (0,071–0,080)	0,077 (0,071–0,080)	0,861
	Nasal	0,115 (0,090–0,123)	0,119 (0,105–0,126)	0,236
Anillo macular interno	Superior	0,108 (0,102–0,118)	0,112 (0,099–0,120)	0,909
	Temporal	0,115 (0,108–0,123)	0,118 (0,108–0,121)	0,736
	Inferior	0,104 (0,072–0,112)	0,106 (0,088–0,115)	0,367
Anillo macular externo	Nasal	0,281 (0,257–0,307)	0,302 (0,265–0,325)	0,11
	Superior	0,307 (0,289–0,333)	0,323 (0,292–0,337)	0,198

	Temporal	0,292 (0,270–0,307)	0,305 (0,286–0,329)	0,062
	Inferior	0,260 (0,231–0,281)	0,270 (0,254–0,304)	0,07
	Foveal	0,013 (0,012–0,013)	0,013 (0,012–0,013)	0,211
	Nasal	0,024 (0,022–0,025)	0,024 (0,022–0,027)	0,164
	Superior	0,024 (0,022–0,025)	0,024 (0,022–0,025)	0,498
EPR	Temporal	0,022 (0,022–0,024)	0,022 (0,022–0,025)	0,505
	Inferior	0,022 (0,022–0,024)	0,023 (0,022–0,025)	0,175
	Nasal	0,069 (0,064–0,074)	0,069 (0,064–0,074)	0,48
	Superior	0,069 (0,069–0,074)	0,072 (0,069–0,074)	0,69
	Temporal	0,069 (0,064–0,069)	0,069 (0,064–0,069)	0,648
	Inferior	0,069 (0,064–0,069)	0,069 (0,062–0,070)	0,859
Mediana (RI); * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: Rango intercuartil)				

Cuando analizamos el grosor de la CFNR peripapilar entre los grupos de estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos de estudio (Tabla 35).

Tabla 35. Análisis del espesor de la CFNR peripapilar en sectores según grupos de estudio

		HF– ApoE ε4– (n=30)	HF+ ApoE ε4+ (n=34)	P-valor
Sector peripapilar	Temporal	68,000 (63,750–75,000)	67,500 (60,000–79,500)	0,861
	Temporal-Superior	133,500 (118,750–146,250)	137,000 (116,000–150,000)	0,737
	Temporal-Inferior	148,500 (134,000–157,000)	141,500 (126,750–154,500)	0,236
	Nasal	74,000 (64,750–93,250)	73,000 (66,250–82,250)	0,642
	Nasal-Superior	102,000 (89,750–128,500)	106,000 (94,250–118,750)	0,845
	Nasal Inferior	108,000 (99,000–134,000)	112,500 (100,750–133,000)	0,706
Espesor promedio peripapilar		99,500(89,750-107,000)	96,000(90,000-106,500)	0,808
Mediana (RI); * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ Test de Mann-Whitney HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteina E; RI: rango intercuartil)				

7.3.2 Análisis de los grosores y volúmenes de las áreas cerebrales

Cuando comparamos los grosores y los volúmenes de las diferentes áreas cerebrales no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio ($p > 0,05$) (Tabla 36 y Tabla 37).

Tabla 36, Análisis de los grosores de diferentes áreas cerebrales entre los grupos de estudio

Áreas corticales	HF- ApoE ε4-	HF+ ApoE ε4+	P-valor
Lingual derecho	1,980 (0,103)	1,985 (0,115)	0,873
Lingual izquierdo	1,965 (0,101)	1,950 (0,094)	0,549
Cingulado rostral anterior derecho	2,827 (0,208)	2,861 (0,309)	0,635
Cingulado rostral anterior izquierdo	2,704 (0,205)	2,721 (0,198)	0,764
Cingulado anterior caudal derecho	2,466 (0,283)	2,440 (0,228)	0,708
Cingulado anterior caudal izquierdo	2,527 (0,231)	2,526 (0,274)	0,995
Cingulado posterior derecho	2,343 (0,241)	2,358 (0,122)	0,760
Cingulado posterior izquierdo	2,329 (0,118)	2,298 (0,169)	0,444
Istmo cingulado derecho	2,301 (0,180)	2,398 (0,195)	0,059
Istmo cingulado izquierdo	2,350 (0,226)	2,312 (0,188)	0,502
Entorrinal derecho	3,558 (0,336)	3,518 (0,263)	0,621
Entorrinal izquierdo	3,452 (0,384)	3,443 (0,346)	0,933
Fusiforme derecho	2,619 (0,102)	2,641 (0,114)	0,467
Fusiforme izquierdo	2,605 (0,101)	2,628 (0,0988)	0,390
Cortical global derecho	2,360 (0,074)	2,363 (0,068)	0,860
Cortical global izquierdo	2,368 (0,076)	2,357 (0,075)	0,602

Media (DE).
 $p > 0,050$, Test de Mann-Whitney
 (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; DE: desviación estándar)
 Medidas expresadas en mm.

Tabla 37. Análisis de los volúmenes de diferentes áreas cerebrales entre los grupos de estudio

Regiones cerebrales	HF- ApoE ε4-	HF+ ApoE ε4+	P-valor
Parahipocampal derecho	1825,89 (211,59)	1902,62 (217,98)	0,187
Parahipocampal izquierdo	2053,15 (293,95)	2086,86 (293,95)	0,634
Entorrinal derecho	2048,11 (286,42)	2120,97 (352,46)	0,402
Entorrinal izquierdo	2181,70 (332,07)	2165,55 (308,12)	0,851
Giro lingual derecho	6357,89 (880,20)	6417,83 (1047,83)	0,872
Giro lingual izquierdo	6004,44 (987,93)	6023,17 (835,08)	0,929
Pericalcarino derecho	2412,85 (497,76)	2396,17 (466,96)	0,898
Percalcarino izquierdo	2119,63 (452,79)	2142,48 (395,24)	0,841
Lateral occipital derecho	11388,93 (1302,19)	11381,93 (1506,77)	0,985
Lateral occipital izquierdo	11218,59 (1247,33)	11108,52 (1237,37)	0,742
Cuneo derecho	3032,56 (442,16)	3095,03 (574,73)	0,652
Cuneo izquierdo	2811,04 (450,16)	2874,31 (517,92)	0,629
Medial temporal derecho	8014,46 (631,63)	8127,23 (761,61)	0,551
Medial temporal izquierdo	8158,11 (729,41)	8191,88 (791,15)	0,869
Occipital derecho	23,210,22 (2589,45)	23,290,97 (2853,82)	0,912
Occipital izquierdo	22,153,70 (2482,72)	22,151,48 (2541,49)	0,997
Amígdala derecha	1502,15 (247,41)	1467,93 (215,52)	0,583
Amígdala izquierda	1298,38 (186,45)	1292,43 (147,13)	0,895
Diencéfalo ventral derecho	3715,45 (349,01)	3701,44 (341,39)	0,880
Diencéfalo ventral izquierdo	3711,05 (367,22)	3757,41 (386,31)	0,648
Hipocampo derecho	4140,46 (367,54)	4103,64 (431,50)	0,733
Hipocampo izquierdo	3923,25 (346,95)	3939,47 (413,06)	0,875
Intracraneal global	1438163,2 (162347,9)	1415555,1 (119222,5)	0,553

Media (DE).

* $p < 0,050$, ** $p < 0,010$ Test de Mann-Whitney

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; DE: desviación estándar)

Medidas expresadas en mm³.

Las correlaciones entre los volúmenes de áreas cerebrales y volúmenes y grosores cerebrales fueron estudiadas mediante correlaciones de Pearson controladas por edad. Debido al alto número de datos, hemos decidido destacar aquellas correlaciones que aparecen en áreas retinianas con cambios de volumen estadísticamente significativos entre los grupos de estudio **HF+ ApoE ε4+** y **HF- ApoE ε4-**.

7.3.3 Correlaciones en sujetos con HF+ ApoE ε4+

7.3.3.1 Correlaciones entre áreas maculares y cerebrales

Encontramos que en la **CFNR macular**, el volumen del **sector foveal** tenía una correlación significativa ($p < 0,05$) con: i) el istmo cingulado derecho ($r = 0,390$); ii) la circunvolución lingual izquierda ($r=0,446$); iii) el volumen pericalcarino izquierdo ($r = 0.524$); iv) el volumen del occipital lateral derecho ($r = 0,452$); v) el volumen del cuneus derecho ($r = 0,437$); vi) el volumen del cuneus izquierdo ($r = 0,547$); vii) el lóbulo occipital derecho ($r = 0,458$) y viii) el lóbulo occipital izquierdo ($r = 0,505$) (Tabla 38 y Gráfica 28).

En la **CPE**, el **sector inferior del anillo macular externo** se asoció significativamente ($p < 0,05$) con: i) el grosor del fusiforme derecho ($r = 0,452$); ii) el giro lingual derecho ($r = -0.380$); iii) el volumen de la pericalcarino derecho e izquierdo ($r = -0,463$ y $-0,381$, respectivamente); iv) el volumen del cuneus derecho e izquierdo ($r = -0,486$ y $r = -0,485$, respectivamente); y v) el lóbulo occipital derecho e izquierdo ($r=-0,423$ y $r=-0,397$, respectivamente) (Tabla 38 y Gráfica 28).

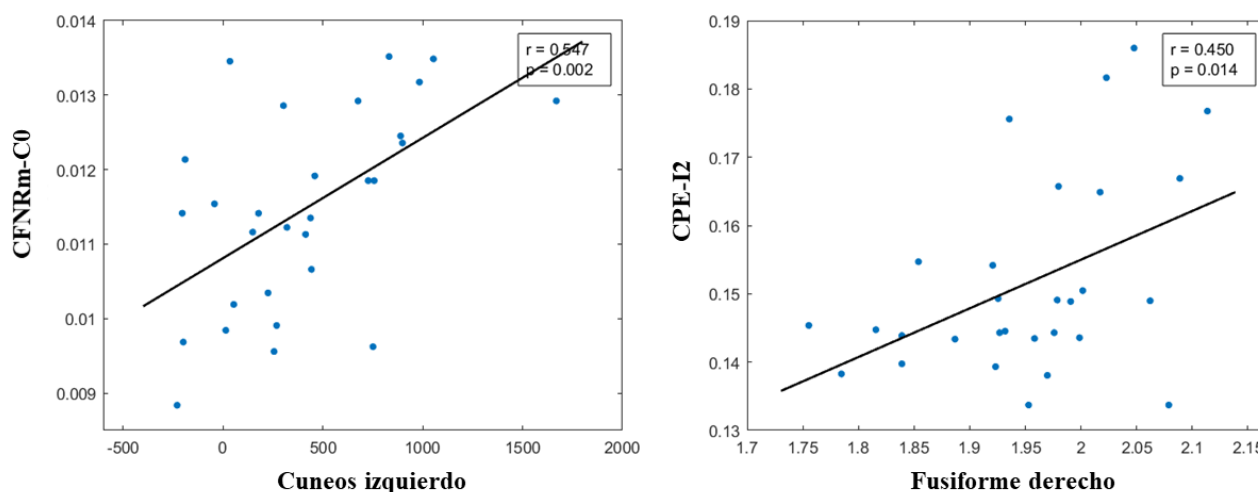
Tabla 38. Correlaciones significativas ajustadas por edad entre los volúmenes de los sectores de la retina y los volúmenes y grosores de las estructuras cerebrales en participantes con HF+ ApoE ε4+.

Capa de la retina		p-valor	r	p-valor	r
		CFNRm		CPE	
Estructura cerebral	Sector de la retina	C0		I2	
Grosos	Istmo cingulado derecho	0,040*	0,390		
	Fusiforme derecho			0,016*	0,452
Volumen	Giro lingual derecho			0,046*	-0,380
	Giro lingual izquierdo	0,017*	0,446		
	Pericalcarino derecho			0,013*	-0,463
	Pericalcarino izquierdo	0,004**	0,524	0,045*	-0,381
	Lateral occipital derecho	0,016*	0,452		
	Cuneos derecho	0,020*	0,437	0,009**	-0,486
	Cuneos izquierdo	0,003**	0,547	0,009**	-0,485
	Lóbulo occipital derecho	0,014*	0,458	0,025*	-0,423
	Lóbulo occipital izquierdo	0,006**	0,505	0,036*	-0,397

Correlaciones de Pearson ajustadas por edad. *P < 0,05, **P < 0,01

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; r: coeficiente de correlación de Pearson, CFNRm; capa de fibras nerviosas de la retina macular; CPE: capa plexiforme externa; C0: sector foveal, I2: sector inferior del anillo macular externo).

7.3.3.2 Correlaciones entre áreas peripapilares y cerebrales



Gráfica 28. Gráficos de dispersión de algunas correlaciones estadísticamente significativas ajustadas por edad entre los volúmenes de los sectores de la retina y los volúmenes y el grosor de las estructuras cerebrales en participantes HF+ ApoE $\epsilon 4+$. (CFNRm: capa de fibras nerviosas de la retina macular, C0: sector macular central, CPE: capa plexiforme externa; I2: sector inferior del anillo macular externo).

En cuanto al grosor de la CFNR peripapilar (**CFNRp**) encontramos correlaciones estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre el **valor global** de esta capa y: i) el grosor del cíngulo anterior caudal derecho ($r = 0,397$); ii) el grosor del cíngulo posterior derecho ($r = 0,423$); y iii) el grosor del cíngulo del istmo derecho e izquierdo ($r = 0,509$ y $r = 0,435$, respectivamente) (Tabla 39 y Gráfica 29).

El grosor del **sector temporal de la CFNRp** sólo se correlacionó de forma significativa ($p < 0,05$) con el grosor de la región cingulada posterior izquierda ($r = 0,405$) y la circunvolución lingual derecha ($r=0,422$) (Tabla 39 y Gráfica 29).

En la **CFNRp**, el **grosor del sector superotemporal** estaba significativamente correlacionado ($p < 0,05$) con: i) el grosor del cíngulo anterior caudal derecho ($r = 0,413$); ii) el grosor del cíngulo posterior derecho e izquierdo ($r = 0,502$ y $r = 0,445$); y iii) el grosor del cíngulo del istmo derecho e izquierdo ($r = 0,509$ y $r = 0,414$, respectivamente) (Tabla 39 y Gráfica 29).

El **grosor del sector inferotemporal de la CFNRp** se asoció significativamente ($p < 0,05$) con: i) el grosor del cíngulo posterior derecho e izquierdo ($r = 0,539$ y $r = 0,448$, respectivamente); ii) el grosor del istmo cingulado derecho e izquierdo ($r = 0,379$ y $r=0,434$, respectivamente); y iii) el volumen del diencefalo ventral derecho ($r = 0,381$) (Tabla 39 y Gráfica 29).

El **grosor del sector nasal de la CFNRp** estaba significativamente ($p < 0,05$) correlacionado con el volumen entorrinal derecho ($r = -0,536$) (Tabla 39 y Gráfica 29).

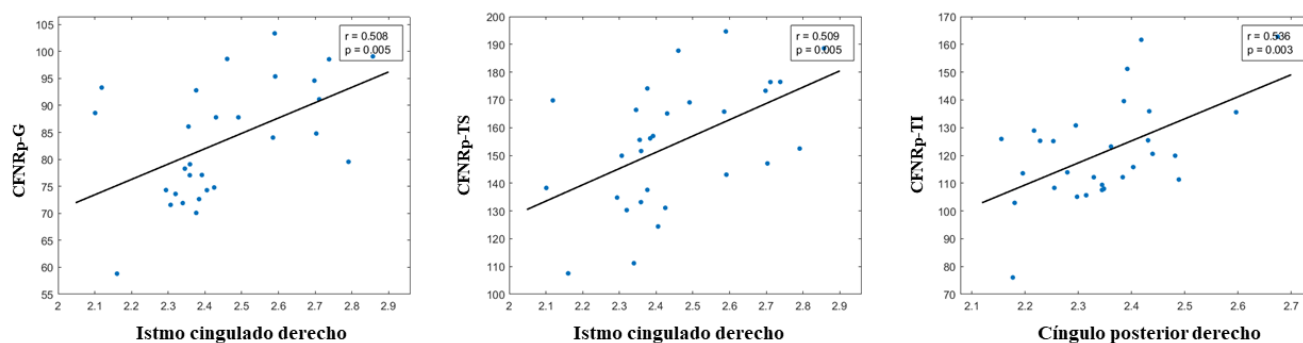
En la **CFNRp**, el **grosor superonasal** se asoció significativamente ($p < 0,05$) con: i) el grosor del istmo cingulado derecho ($r = 0,429$); y ii) el grosor del giro fusiforme izquierdo ($r = 0,412$) (Tabla 39 y Gráfica 29).

Tabla 39. Correlaciones significativas ajustadas por edad entre los grosores de la CFNRp y los volúmenes y grosores de las estructuras cerebrales en participantes con HF+ ApoE ε4+.

Estructura cerebral	Sector de la retina	G		T		TS		TI		N		SN	
		p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r
Grosor	Cingulado caudal derecho	0,037*	0,397			0,029*	0,413						
	Cingulado posterior derecho	0,025*	0,423			0,007**	0,502	0,003**	0,539				
	Cingulado posterior izquierdo			0,032*	0,405	0,018*	0,445	0,017*	0,448				
	Istmo cingulado derecho	0,006**	0,509			0,006**	0,509	0,047*	0,379			0,023*	0,429
	Istmo cingulado izquierdo	0,021*	0,435			0,028*	0,414	0,021*	0,434				
	Fusiforme izquierdo											0,029*	0,412
Volumen	Entorrinal derecho									0,003*	-0,536		
	Giro lingual derecho			0,025*	0,422								
	Diencéfalo ventral derecho							0,046*	0,381				

Correlaciones de Pearson ajustadas por edad, *P < 0,05, **P < 0,01

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; r: coeficiente de correlación de Pearson, CFNRp: capa de fibras nerviosas peripapilar, G:global, T: Temporal; TS: Temporal-Superior; TI: Temporal-inferior; N: nasal, NI: Nasal-inferior)



Gráfica 29. Gráficos de dispersión de algunas correlaciones estadísticamente significativas ajustadas por edad entre los grosores de los sectores de la CFNRp y los volúmenes y el grosor de las estructuras cerebrales en participantes HF+ ApoE $\epsilon 4+$. (CFNRp: capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar, G: grosor global, TS: temporal-superior ; TI: Temporal-inferior).

7.3.4 Correlaciones en sujetos con HF- ApoE $\epsilon 4-$

7.3.4.1 Correlaciones entre áreas maculares y cerebrales

Cuando analizamos las correlaciones entre los volúmenes de las áreas cerebrales y los volúmenes y grosores cerebrales encontramos que en la **CPI** existe una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre el **sector nasal del anillo macular externo (N2)** y: i) el volumen parahipocampal izquierdo ($r = -0,429$); ii) el volumen entorrinal derecho ($r = -0,516$); iii) el volumen del giro lingual derecho ($r = -0,395$); iv) el volumen del cuneus izquierdo ($r = -0,438$); v) volumen del lóbulo temporal medial derecho e izquierdo ($r = -0,673$ y $r = -0,554$, respectivamente); vi) volumen de la amígdala izquierda ($r = -0,501$); vii) volumen del diencéfalo ventral derecho ($r = -0,451$); y viii) volumen del hipocampo derecho e izquierdo ($r = -0,542$ y $r = -0,595$, respectivamente). Además, en esta capa, el volumen del **sector inferior (I2) del anillo macular externo** se asoció con: i) el volumen entorrinal derecho ($r = -0,433$); ii) el volumen del lóbulo temporal medial derecho ($r = -0,534$); iii) el volumen de la amígdala derecha e izquierda ($r = -0,414$ y $r = -0,503$, respectivamente); iv) el volumen del diencéfalo ventral derecho ($r = -0,412$); y v) el volumen del hipocampo derecho ($r = -0,394$) (Tabla 40 y Gráfica 30).

En el **CNI**, el **sector macular foveal (C0)** se asoció con el grosor entorrinal izquierdo ($r = -0,396$). El **sector inferior (I2) del anillo macular externo** se asoció con: i) el volumen parahipocampal derecho e izquierdo ($r = -0,510$ y $r = -0,433$, respectivamente), ii) el volumen entorrinal derecho ($r = -0,535$); iii) el lóbulo temporal medial derecho e izquierdo ($r = -0,599$ y $r = -0,516$, respectivamente); y iv) el volumen del hipocampo izquierdo ($r = -0,442$) (Tabla 40 y Gráfica 30)..

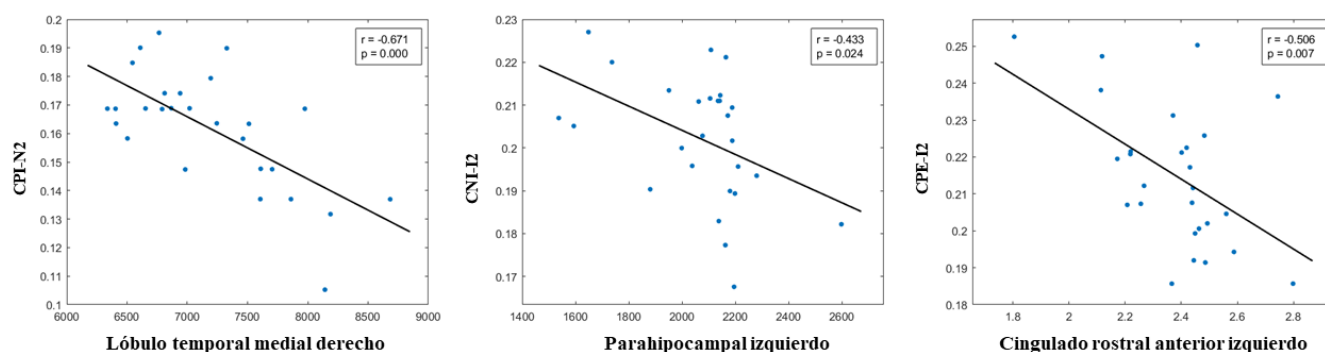
Por último, en el CPE el **sector inferior (I2) del anillo macular externo** se asoció significativamente ($p < 0,05$) con el grosor del cíngulo anterior rostral izquierdo ($r = -0,506$) (Tabla 40 y Gráfica 30).

Tabla 40. Correlaciones significativas ajustadas por edad entre los volúmenes de los sectores de la retina y los volúmenes y grosores de las estructuras cerebrales en participantes con HF+ ApoE ε4+

		p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r
Capa de la retina		CPI				CNI				CPE	
Estructura cerebral	Sector retiniano	N2	I2	C0	I2						
Grosor	Cingulado rostral anterior izquierdo					0,008*	-0,506				
	Entorrinal izquierdo			0,045*	0,396						
Volumen	Parahipocampal derecho					0,008**	-0,510				
	Parahipocampal izquierdo	0,029*	-0,429			0,027*	-0,433				
	Entorrinal derecho	0,007**	-0,516	0,027*	-0,433			0,005**	-0,535		
	Giro lingual derecho	0,046*	-0,395								
	Cuneos izquierdo	0,025*	-0,438								
	Lóbulo temporal medial dercho	<0,001**	-0,673	0,005**	-0,534			0,001**	-0,599		
	Lóbulo temporal medial izquierdo	0,003**	-0,554					0,007**	-0,516		
	Amígdala derecha			0,035*	-0,414						
	Amígdala izquierda	0,009**	-0,501	0,009**	-0,503						
	Diencefalo ventral derecho	0,021*	-0,451	0,036*	-0,412						
	Hipocampo derecho	0,004**	-0,542	0,047*	-0,394						
	Hipocampo izquierdo	0,001**	-0,595					0,024*	-0,442		

Correlaciones de Pearson ajustadas por edad. *P < 0,05, **P < 0,01

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; r: coeficiente de correlación de Pearson; CPI: capa plexiforme interna; CNI: capa nuclear interna; CPE: capa plexiforme externa; N2: sector nasal del anillo macular externo; I2: sector inferior del anillo macular externo; C0: sector foveal del área macular)



Gráfica 30. Gráficos de dispersión de algunas correlaciones estadísticamente significativas ajustadas por edad entre los volúmenes de los sectores de la retina y los volúmenes y el grosor de las estructuras cerebrales en participantes HF-ApoE $\epsilon 4$ -. (CPI: capa plexiforme interna, CNI: capa nuclear interna, CPE: capa plexiforme externa, N2: Sector nasal del anillo macular externo, I2: sector inferior del anillo macular externo).

7.3.4.2 Correlaciones entre áreas peripapilares y cerebrales

Cuando analizamos el grupo de participantes con **HF- ApoE $\epsilon 4$** - encontramos una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre el **grosor global de la CFNRp** y el volumen parahipocampal derecho ($r = 0,561$) (Tabla 41 y Gráfica 30).

El **sector temporal de la CFNRp** también presentó una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) con: i) el grosor lingual derecho ($r = 0,513$); ii) el grosor del cíngulo posterior derecho ($r = 0,423$); iii) el grosor del fusiforme derecho ($r = 0,498$); iv) el volumen del giro lingual izquierdo ($r = 0,459$); y v) el volumen pericalcarino derecho e izquierdo ($r = 0,533$ y $r = 0,511$, respectivamente) (Tabla 41 y Gráfica 30).

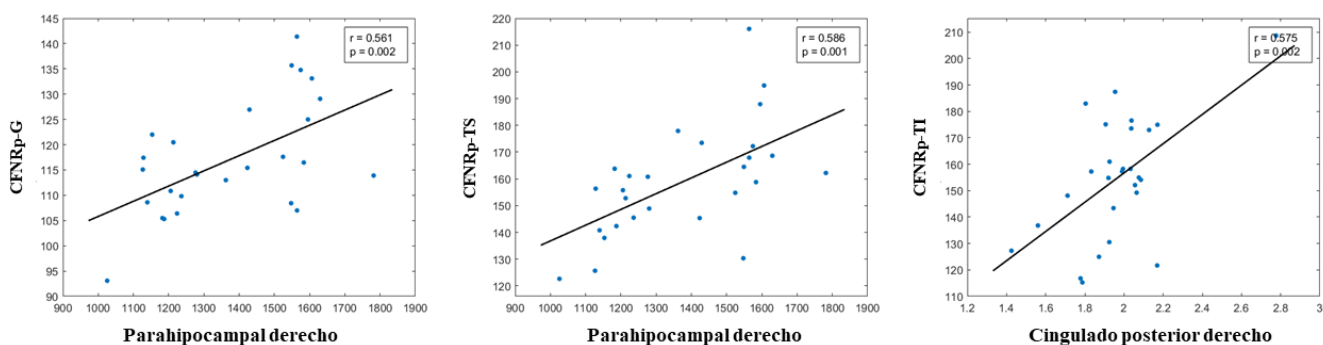
El grosor del **sector temporal-superior de la CFNRp** se asoció significativamente con el i) grosor del cíngulo posterior derecho ($r = 0,405$); ii) grosor del fusiforme derecho ($r = 0,472$); iii) volumen parahipocampal derecho ($r = 0,587$); y iv) volumen pericalcarino izquierdo ($r = 0,430$), mientras que el grosor **temporal-inferior de la CFNRp** tuvo una correlación significativa con el i) grosor lingual derecho e izquierdo ($r = 0,482$ y $r = 0,534$, respectivamente); ii) el grosor del cíngulo posterior derecho e izquierdo ($r = 0,576$ y $r = 0,478$, respectivamente); iii) el grosor del istmo cingular derecho ($r = 0,424$); iv) el grosor del fusiforme derecho ($r = 0,431$); v) el grosor cortical derecho e izquierdo ($r = 0,516$ y $r = 0,411$, respectivamente); y vi) el volumen parahipocampal derecho ($r = 0,422$) (Tabla 41 y Gráfica 30).

Tabla 41. Correlaciones significativas ajustadas por edad entre los grosores de los sectores de la CFNRp y los volúmenes y grosores de las estructuras cerebrales en participantes con HF- ApoE ε4-.

Estructura cerebral	Sector de la retina	G		T		TS		TI	
		p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r	p-valor	r
Grosor	Lingual derecho			0,007*	0,513			0,013*	0,482
	Lingual izquierdo							0,005*	0,534
	Cingulado posterior derecho			0,031*	0,423	0,040*	0,405	0,002*	0,576
	Cingulado posterior izquierdo							0,014*	0,478
	Istmo cingulado derecho							0,031*	0,424
	Fusiforme derecho			0,010*	0,498	0,015*	0,472	0,028*	0,431
	Cortical global derecho							0,007*	0,516
	Cortical global izquierdo							0,037*	0,411
	Volumen	Parahipocampal derecho	0,003*	0,561			0,002*	0,587	0,032*
Entorrinal derecho									
Giro lingual izquierdo				0,018*	0,459				
Pericalcarino derecho				0,005*	0,533				
Pericalcarino izquierdo				0,008*	0,511	0,028*	0,430		

Correlaciones de Pearson ajustadas por edad. *P < 0,05, **P < 0,01

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; r: coeficiente de correlación de Pearson; G: global, T: temporal; TS: temporal-superior; TI: Temporal-inferior).



Gráfica 31. Gráficos de dispersión de algunas correlaciones estadísticamente significativas ajustadas por edad entre los grosores de los sectores de la CFNRp y los volúmenes y el grosor de las estructuras cerebrales en participantes HF- ApoE ε4-. (CFNRp: capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar, G: grosor global, TS: temporal-superior; TI: Temporal-inferior).

7.4 Análisis estadístico de los test psicofísicos

7.4.1 Agudeza visual

7.4.1.1 Análisis de la AV por historia familiar de la EA

Cuando analizamos la AV de la muestra de estudio teniendo en cuenta la historia familiar de los sujetos encontramos dos grupos de estudio **HF-** (n=40) e **HF+** (n=109).

Cuando comparamos entre los grupos de estudio encontramos que el grupo de **HF+** presentaba un incremento de AV estadísticamente significativo en comparación con el grupo de **HF-** ($1,028 \pm 0,094$, **HF+**, vs $0,985 \pm 0,098$, **HF-**) ($p < 0,05$) (Tabla 42 y Gráfica 32).

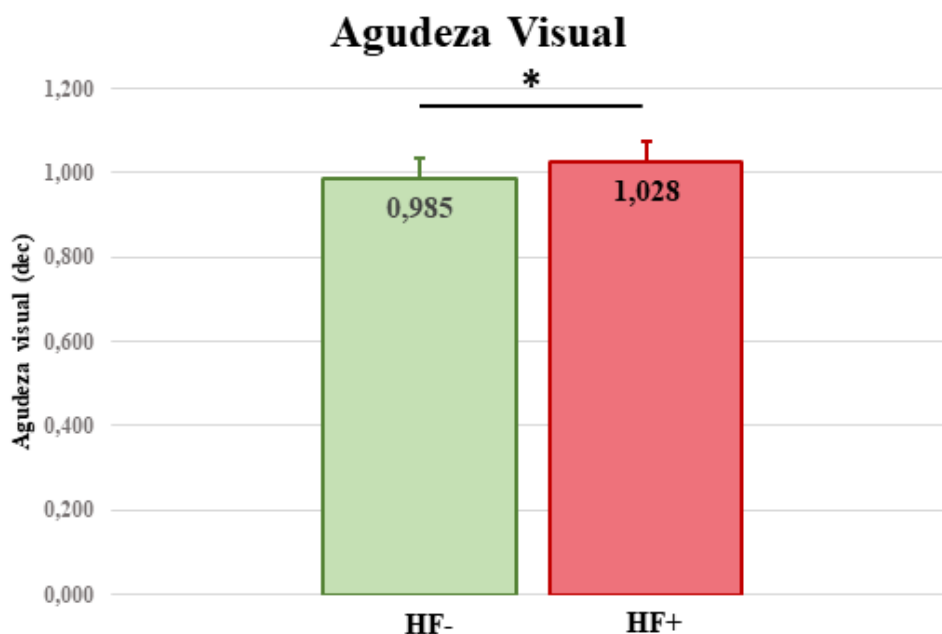
Tabla 42. Análisis de la AV de los grupos según la historia familiar

	HF- (n=40)	HF+ (n=109)	% diferencia	p-valor
Agudeza Visual (dec)	$0,985 \pm 0,098$	$1,028 \pm 0,094$	4,37	0,023*

Media \pm DE;

*P < 0,05, Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; vs: versus; dec: escala decimal; DE: desviación estándar)



Gráfica 32. Valores de la agudeza visual entre los grupos de estudio según la historia familiar de EA. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney

7.4.1.2 Análisis de la AV por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

Cuando analizamos los valores medios de la AV teniendo en cuenta la historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y la edad de los sujetos, los grupos de estudio analizados fueron **HF- ApoE ε4- 40-60** (n=16) y **HF+ ApoE ε4+ 40-60** (n=28) (Tabla 43).

Tabla 43. Análisis de la AV teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

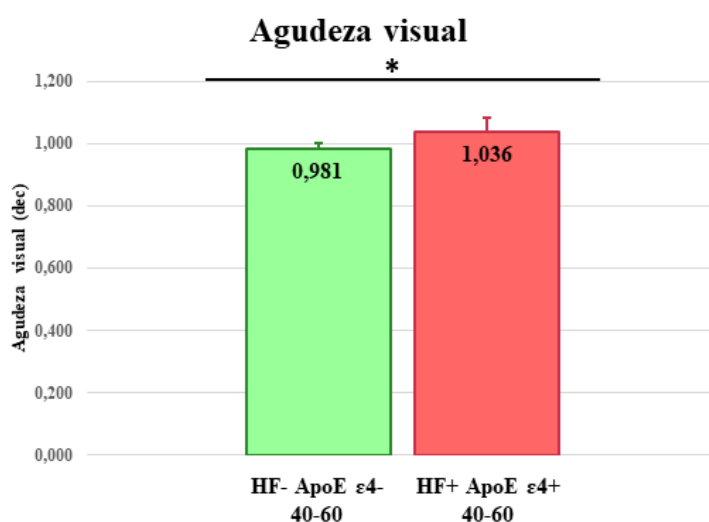
	HF- ApoE ε4- 40-60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (n=28)	% diferencia	p-valor
Agudeza Visual (dec)	0,981±0,040	1,036±0,095	5,606	0,017*

Media ± DE;

*P < 0,05 Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; vs: versus; dec: escala decimal; DE: desviación estándar)

Cuando comparamos entre los grupos de estudio, encontramos que el grupo de **HF+ ApoE ε4+ 40-60** presentaba una AV estadísticamente significativa superior a la del grupo **HF- ApoE ε4- 40-60** (1,036±0,095, **HF+ ApoE ε4+ 40-60** vs 0,981±0,040, **HF- ApoE ε4- 40-60**) (p<0,05) (Tabla 43 y Gráfica 33).



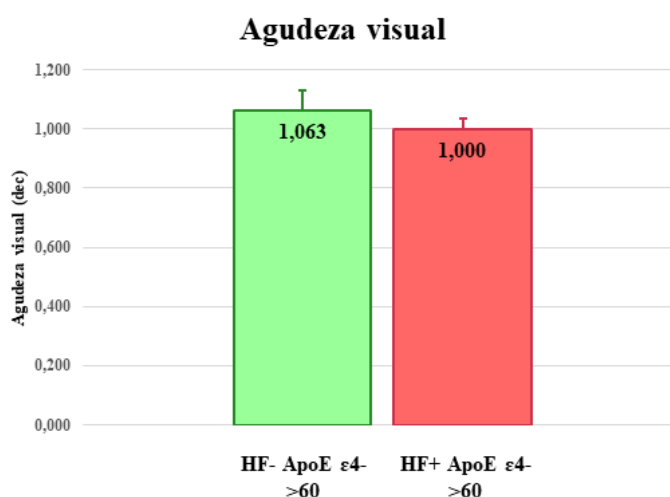
Gráfica 33. Valores de la agudeza visual entre los grupos de estudio según la historia familiar de EA, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre los 40-60 años. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

7.4.1.3 *Análisis de la AV por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años*

Cuando analizamos la AV de los sujetos mayores de 60 años los sujetos se distribuían en los siguientes grupos: **HF- ApoE ε4- >60** (n=16) y el de **HF+ ApoE ε4+ >60** (n=11) no encontrándose diferencias entre ambos (Tabla 44 y Gráfica 34).

Tabla 44. Análisis de la AV por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años

	HF- ApoE ε4- >60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+ >60 (n=11)	p-valor
Agudeza Visual (dec)	1,063±0,139	1,000±0,074	0,521
Media ± DE;			
*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann Whitney (HF: Historia familiar; vs: versus; dec: escala decimal; DE: desviación estándar)			



Gráfica 34. Valores de la agudeza visual entre los grupos de estudio según la historia familiar de EA, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E).

7.4.2 Sensibilidad al contraste (SC)

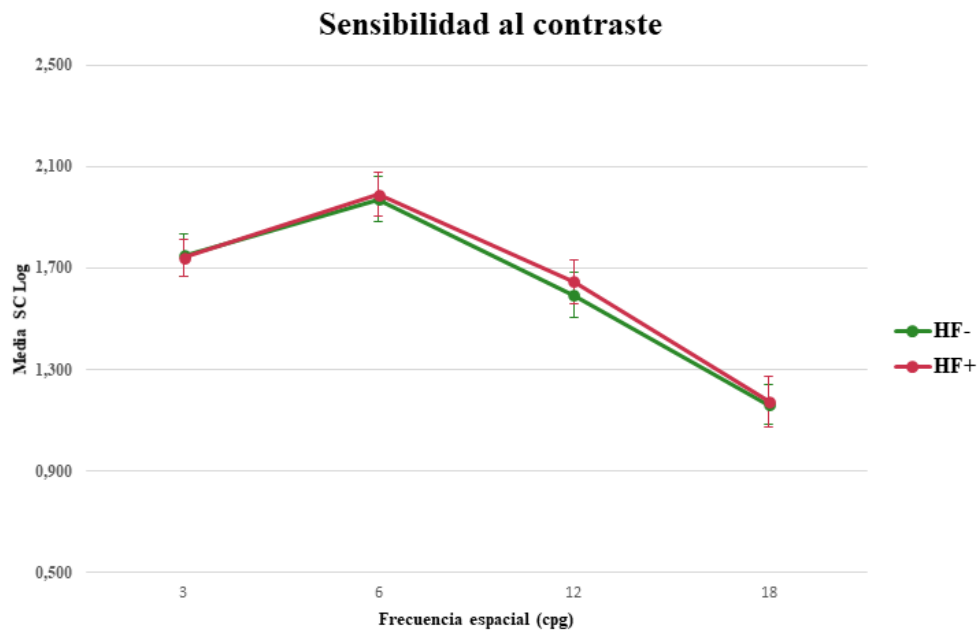
7.4.2.1 *Análisis de la SC por historia familiar de la EA*

Cuando analizamos la SC de los sujetos teniendo en cuenta la historia parental de la EA, los participantes se encontraban agrupados en dos grupos de estudio **HF-** (n=40) e **HF+**(n=109). Cuando analizamos las diferentes frecuencias espaciales no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Tabla 45 y Gráfica 35).

Tabla 45. Análisis de la sensibilidad al contraste de los grupos según la historia familiar

		HF- (n=40)	HF+ (n=109)	% diferencia	P-valor
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,749±0,166	1,742±0,145	-0,400	0,774
	6	1,971±0,180	1,990±0,171	0,938	0,602
	12	1,594±0,175	1,646±0,176	3,264	0,082
	18	1,162±0,163	1,174±0,197	0,973	0,695

Media ± DE;
P>0,05 Test de Mann Whitney (HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; DE: desviación estándar)



Gráfica 35. Valores de sensibilidad al contraste entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cpg. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cpg: ciclos por grado; (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E).

7.4.2.2 Análisis de la SC por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

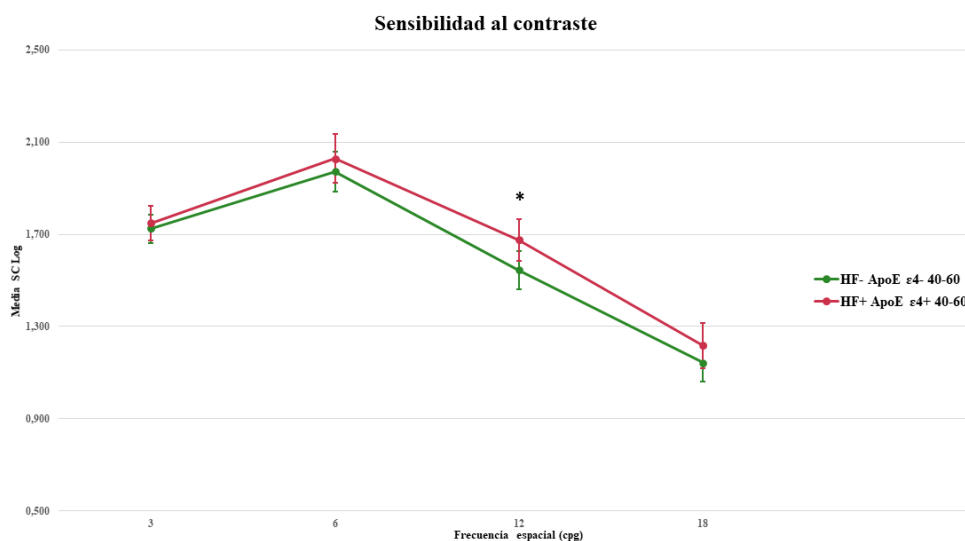
Al analizar la SC teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y que los sujetos tuvieran edades entre 40 y 60 años, la muestra queda dividida en 2 grupos de estudio: el grupo **HF- ApoE ε4- 40-60** (n=16) y el grupo **HF+ ApoE ε4+ 40-60** (n=28) (Tabla 46).

Tabla 46. Análisis de la SC teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

		HF- ApoE ε4- 40-60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (n=28)	%diferencia	p-valor
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,724±0,121	1,749±0,148	1,440	0,551
	6	1,972±0,171	2,028±0,213	2,875	0,305
	12	1,544±0,170	1,675±0,181	8,481	0,025*
	18	1,144±0,164	1,219±0,197	6,511	0,122

Media ± DE;
 *P < 0,05, Test de Mann Whitney
 (HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; DE: desviación estándar)

Cuando comparamos la SC entre los grupos de estudio, encontramos que el grupo de **HF+ ApoE ε4+ 40-60** tiene la SC más alta en todas las frecuencias espaciales, llegando a alcanzar significación estadística en la frecuencia de 12 cpg cuando comparamos con el grupo de **HF- ApoE ε4- 40-60** (1,675±0,181, **HF+ ApoE ε4+ 40-60**, vs 1,544±0,170, **HF- ApoE ε4- 40-60**) (p<0,05) (Tabla 46 y Gráfica 36).



Gráfica 36. Valores de sensibilidad al contraste entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA, caracterización del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cpg. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cpg: ciclos por grado; (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

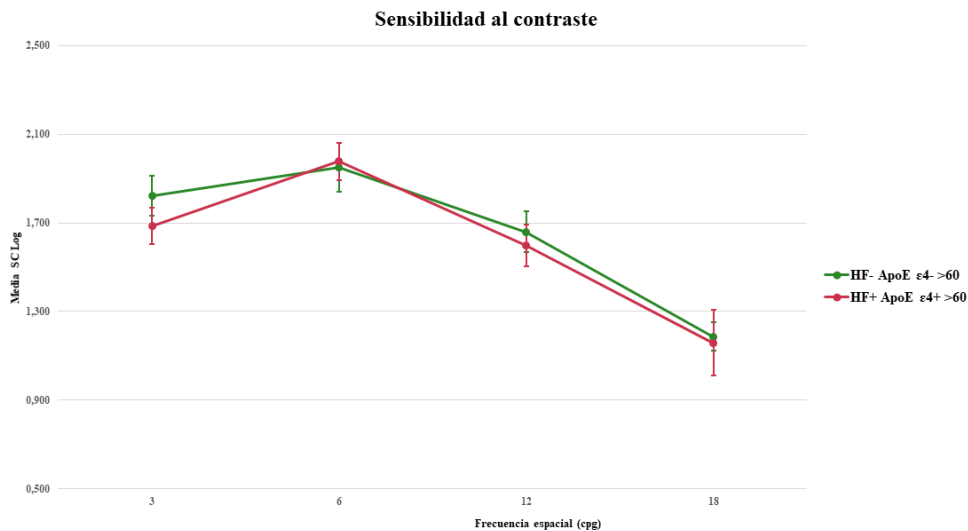
7.4.2.3 Análisis de la SC por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años.

Al analizar las diferentes frecuencias espaciales dependiendo de la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades por encima de los 60 años los grupos de estudio analizados fueron: **HF- ApoE ε4- >60** (n=19) el grupo **HF+ ApoE ε4+ >60** (n= 11) no encontrándose diferencias significativas entre ellos (p>0,05) (Tabla 47 y Gráfica 37).

Tabla 47. Análisis de la SC por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años

	HF- ApoE ε4- >60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+ >60 (n=11)	%diferencia	p-valor	
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,824 ± 0,179	1,686±0,166	-7,524	0,063
	6	1,949±0,220	1,977±0,169	1,436	0,757
	12	1,659±0,126	1,597±0,189	-3,737	0,571
	18	1,186± 0,126	1,158±0,296	-2,381	0,519

Media ± DE
P > 0,05. Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; DE: desviación estándar)



Gráfica 37. Valores de sensibilidad al contraste entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA, caracterización del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cpg. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cpg: ciclos por grado; (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

7.4.3 Percepción del color

7.4.3.1 Análisis de la percepción del color por historia familiar de la EA

El análisis del total de los errores inespecíficos, errores en la región del tritán y errores en la región del deután en el test de Farnsworth Roth 28-hue se realizó en 40 sujetos con **HF-** y en 109 participantes con **HF+**. Al comparar entre estos dos grupos no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos de estudio (Tabla 48 y Gráfica 38).

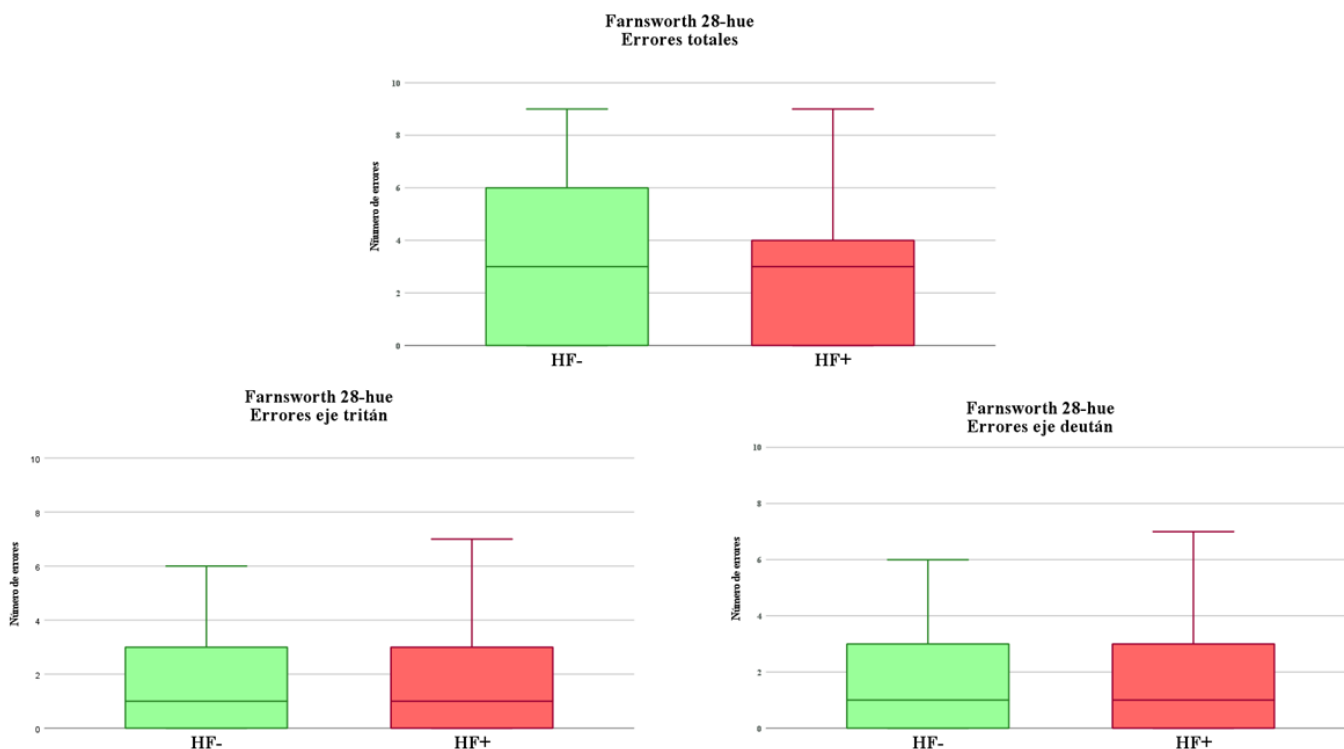
Tabla 48. Análisis de los errores inespecíficos en la percepción del color de los grupos según la historia familiar

	HF- (n=40)	HF+ (n=109)	P-valor
Errores totales	3,00(0,000-6,000)	3,00(0,000-4,000)	0,958
Errores tritán	1,00(0,000-3,00)	1,00(0,000-3,000)	0,990
Errores deután	1,00(0,000-3,000)	1,00(0,000-3,000)	0,844

Mediana \pm RI;

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; RI: Rango intercuartil)



Gráfica 38. Percepción del color en los participantes del estudio clasificados por historia familiar. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután.

Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar).

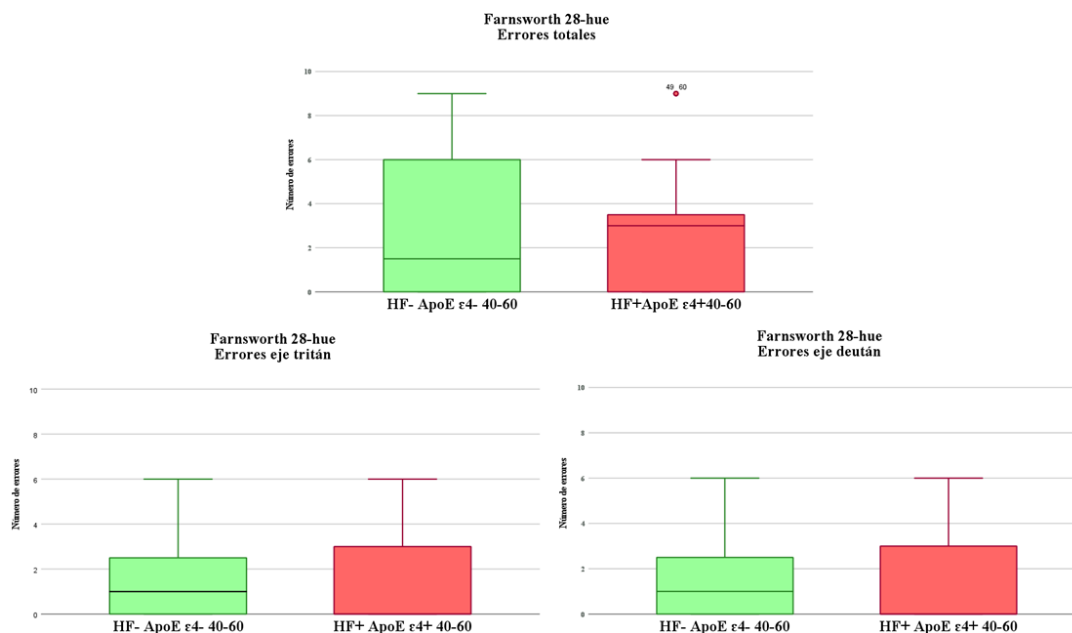
7.4.3.2 Análisis de la percepción del color por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

El análisis del total de errores inespecíficos, los errores en el eje tritán y los errores en el eje deután en el test de Farnsworth Roth 28-hue se realizó en 16 sujetos **HF- ApoE ε4- 40-60** y 28 sujetos con **HF+ ApoE ε4+40-60**. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en la percepción al color entre los grupos de estudio (Tabla 49 y Gráfica 39).

Tabla 49. Análisis de los errores inespecíficos en la percepción del color teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

	HF- ApoE ε4- 40-60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+40-60 (n= 28)	p-valor
Errores totales	1,500(0,000-6,000)	3,000(0,000-3,000)	0,755
Errores tritán	1,000(0,000-2,750)	0,000(0,000-3,000)	0,507
Errores deután	1,000(0,000-2,750)	0,000(0,000-3,000)	0,669

Mediana (RI)
P < 0,05 Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; vs: versus; ApoE: apolipoproteína E; RI rango intercuartil)



Gráfica 39. Percepción del color en los sujetos del estudio clasificados por historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades entre 40-60 años. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: Apolipoprotein E). p>0,05; Test de Mann-Whitney.

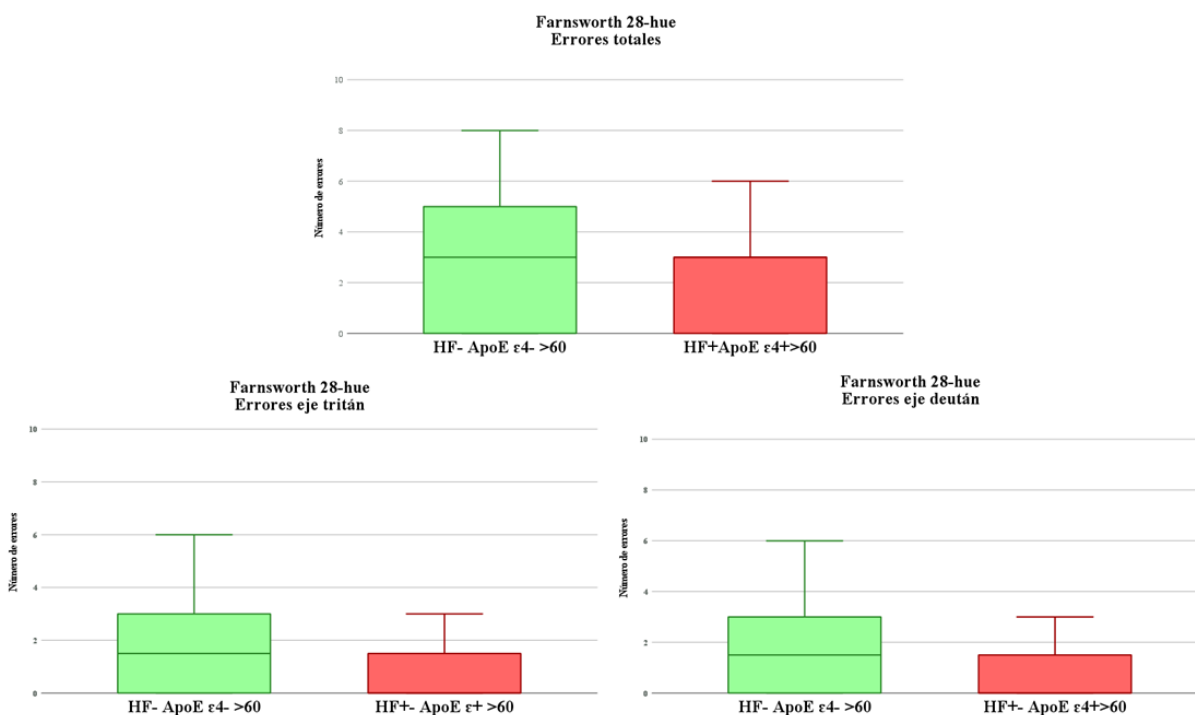
7.4.3.3 Análisis de la percepción del color por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años

Al analizar los errores totales inespecíficos, los errores en el eje tritán y los errores en el eje deután en los grupos de estudio clasificados según la historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años, no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). (Tabla 50 y Gráfica 40).

Tabla 50. Análisis de los errores inespecíficos en la percepción del color teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años.

	HF- ApoE ε4- >60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+ >60 (n= 11)	p-valor
Errores totales	3,000(0,000-5,250)	3,000(0,000-3,000)	0,559
Errores tritán	1,500(0,000-3,000)	0,000(0,000-2,000)	0,153
Errores deután	1,500(0,000-3,000)	0,000(0,000-2,000)	0,153

Mediana (RI)
P >0,05 Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; vs: versus; ApoE: apolipoproteína E; RI rango intercuartil)



Gráfica 40. Percepción del color en los sujetos del estudio clasificados por historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: Apolipoprotein E). * $p < 0,05$; Test de Mann-Whitney.

7.4.4 Test Digital de Percepción (TDP)

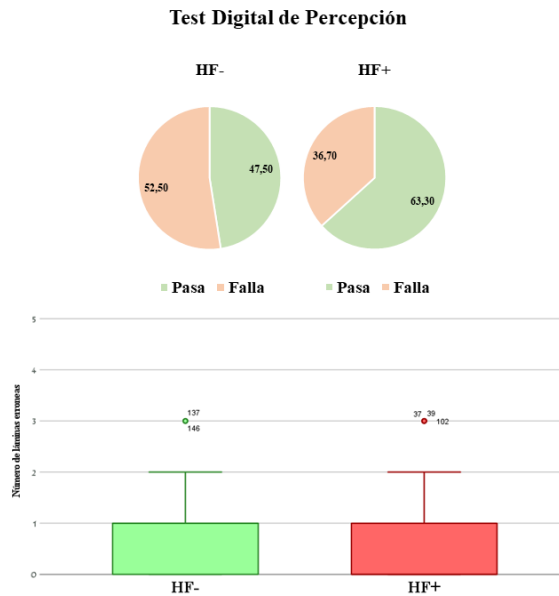
7.4.4.1 Análisis del TDP por historia familiar de la EA

Cuando analizamos los resultados del TDP en nuestra población de estudio encontramos que en el grupo de **HF-** un 52,50% de sujetos no pasaba el test y que tenían 1,000(0,000-1,000) errores. En el grupo de **HF+** el 36,70% de los sujetos no superaba el test y tenían 0,000(0,000-1,000) errores. Cuando comparamos el número de errores entre grupos no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). (Tabla 51 y Gráfica 41).

Tabla 51. Análisis del TDP por historia familiar de EA

	HF- (n=40)	HF+ (n=109)	P-valor
Pasa	19 (47,50%)	69 (63,3%)	
Falla	21(52,5%)	40 (36,7%)	
Número de errores	1,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-1,000)	0,157

n (%)
Mediana (RI);
*p < 0,05; **p < 0,01 Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; vs: versus; Ri: rango intercuartil)



Gráfica 41. Test digital Digital de Percepción según historia familiar de la EA. Análisis de porcentaje de sujetos que pasan o fallan el test y número de errores de los que fallan. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar).

7.4.4.2 Análisis del TDP por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

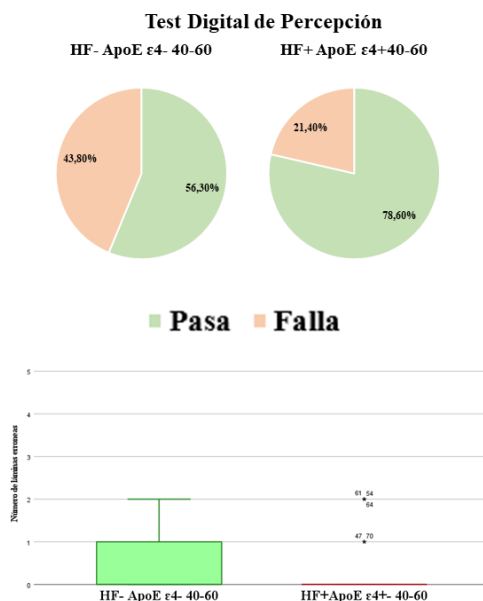
Al analizar el test digital de percepción según la historia familiar de la EA, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-y 60 años encontramos que en el grupo de **HF- ApoE ε4-40-60** un 56,30% pasa el test y en el grupo de **HF+ ApoE ε4+40-60** el 78,60% de los sujetos pasa el test. Cuando comparamos entre los grupos de estudio el número de errores de los sujetos que no pasan el test no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p>0,05$). (Tabla 52 y Gráfica 42).

Tabla 52. Análisis del TDP por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

	HF- ApoE ε4- 40-60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+40-60 (n=28)	p-valor
Pasa	9 (56,30%)	22 (78,60%)	
Falla	7 (43,80%)	6(21,40%)	
Número de errores	0,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-0,000)	0,195

n (%)
 Mediana (RI)
 P > 0,05 Test de Mann Whitney
 (HF: Historia familiar; vs: versus; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)

7.4.4.3 Análisis del TDP por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y



Gráfica 42. Test Digital de Percepción según historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades entre los 40 y 60 años. Análisis de porcentaje de sujetos que pasan o fallan el test y número de errores de los que fallan. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E).

edades superiores a los 60 años

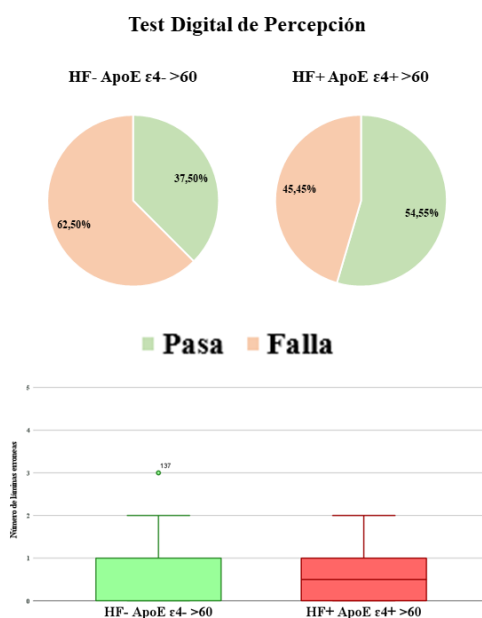
El análisis del TDP en los grupos de estudio con sujetos mayores de 60 años reveló que en el grupo de **HF- ApoE ε4- >60** el 37,50% de los sujetos pasan el test y en el grupo de **HF+ ApoE ε4+**

>60 superan el test un 54,55% de los sujetos. Cuando analizamos el número de errores de aquellos sujetos que no superan el TDP no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio ($p > 0,05$) (Tabla 53 y Gráfica 43).

Tabla 53. Análisis del TDP por historia familiar, caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y edades superiores a 60 años.

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (n=16)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (n= 11)	p-valor
Pasa	6 (37,50%)	6 (54,55%)	
Falla	10 (62,50%)	5 (45,45%)	
Número de errores	1,000 (0,000-1,000)	0,500 (0,000-1,000)	0,649

n (%)
Mediana (RI)
P > 0,05, Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; vs: versus; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)



Gráfica 43. Test Digital de Percepción según historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE $\epsilon 4$ y edades superiores a los 60 años. Análisis de porcentaje de sujetos que pasan o fallan el test y número de errores de los que fallan. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E)

7.4.5 Campimetría computerizada

7.4.5.1 Análisis de la función visual con campimetría computerizada según historia familiar de la EA

Cuando analizamos los datos obtenidos al realizar el campo visual en los sujetos según la historia familiar de la EA, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativa entre el grupo con HF- (n=38) y HF+(n=86) ($p > 0,05$). (Tabla 54).

Tabla 54. Análisis de la función visual con campimetría computerizada según historia familiar de la EA

	HF- (n=38)	HF+ (n=86)	P-valor
Pérdidas de fijación	0,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-1,000)	0,435
%Falsos positivos	1,000(0,000-5,000)	1,500(0,000-5,000)	0,794
%Falsos negativos	0,000(0,000-5,000)	1,000(0,000-4,000)	0,789
VFI (%)	99,000(98,000-100,000)	99,000(99,000-100,000)	0,300
DM	-0,950(-2,120- (-0,0325))	-0,740(-1,72-0,040)	0,639
DSM	1,700(1,498-2,173)	1,560(1,410-1,930)	0,080

Mediana (RI),
*P < 0,05, **P < 0,01 , Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; RI: rango intercuartil)

7.4.5.2 Análisis de la función visual con campimetría computerizada por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

Cuando analizamos los valores de la función visual mediante campimetría computerizada en los grupos de estudio según historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades entre los 40y 60 años no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) (Tabla 55).

Tabla 55. Análisis de la función visual con campimetría computerizada por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

	HF- ApoE ε4- 40-60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+40-60 (n= 24)	p-valor
Pérdidas de fijación	0,500(0,000-1,000)	0,000(0,000-1,000)	0,979
%Falsos positivos	1,000(0,000-5,000)	3,000(0,000-5,750)	0,325
%Falsos negativos	0,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-4,000)	0,513
VFI (%)	99,500(99,000-100,000)	100,000(99,000-100,000)	0,337
DM	-0,885(-1,868-2,950)	-0,650(-1,675-0,013)	0,819
DSM	1,635(1,410-1,833)	1,535(1,318-1,848)	0,545

Mediana (RI)
P > 0,05, Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E, RI: rango intercuartil)

7.4.5.3 Análisis de la función visual con campimetría computerizada por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años.

Cuando analizamos la función visual teniendo en cuenta la HF, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años mediante campimetría computerizada no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio (Tabla 56).

7.5 Análisis de correlaciones entre las pruebas oftalmológicas y magnetoencefalografía

Tabla 56. Análisis de la función visual con campimetría computerizada por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años

	HF- ApoE ε4- >60 (n=14)	HF+ ApoE ε4+ >60 (n= 8)	p-valor
Pérdidas de fijación	1,000(0,000-2,000)	0,500(0,000-1,000)	0,609
%Falsos positivos	2,000(0,000-5,000)	0,500(0,000-2,500)	0,160
%Falsos negativos	0,000(0,000-5,500)	0,000(0,000-1,500)	0,433
VFI (%)	99,000(98,000-100,000<9	99,000(98,000-99,750)	0,747
DM	-0,335(-1,698-0,228)	-1,440(-1,955-2,350)	0,562
DSM	1,766(1,490-2,133)	1,505(1,440-1,938)	0,339

Mediana (RI)
*P < 0,05, **P < 0,01, Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E, RI: rango intercuartil)

7.5.1 Análisis de la función visual en diferentes grupos de estudio

Los resultados detallados de las comparaciones entre grupos en cuanto a la agudeza visual y sensibilidad al contraste en diferentes frecuencias espaciales se muestran en la Tabla 57.

Debido a que las variables de AV y SC se ven afectadas por la edad, los mismos análisis se realizaron por separado para la submuestra de mayor edad (>60 años) para conocer si los patrones cambiaban.

Al comparar entre el grupo de **HF-** y **HF+** encontramos que este último presentaba una AV estadísticamente superior ($p < 0,05$) a la del grupo HF- ($0,985 \pm 0,098$, **HF-** vs $1,028 \pm 0,094$, **HF+**) (Tabla 57).

También encontramos que el grupo de **HF+ ApoE ε4+ 40-60** mostraba una agudeza visual ($1,036 \pm 0,095$) estadísticamente mayor ($p < 0,05$) que el grupo de **HF- ApoE ε4- 40-60** ($0,981 \pm 0,040$).

La sensibilidad al contraste también era estadísticamente mayor en la frecuencia de 12 ciclos por grado en el grupo de **HF+ ApoE ε4+ 40-60** ($1,675 \pm 0,182$) en comparación con el grupo **HF- ApoE ε4- 40-60** ($1,544 \pm 0,169$). Además, aunque sin alcanzar significación estadística existe una tendencia de una mayor SC en el resto de frecuencias en comparación en el grupo **HF+ ApoE ε4+ 40-60** en comparación con **HF- ApoE ε4- 40-60** (Tabla 57).

En los grupos de edad mayores de 60 años, solo encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) únicamente en la frecuencia espacial de 3 cpg, siendo estadísticamente mayor en el grupo de **HF->60** ($1,803 \pm 0,162$) en comparación con el grupo de **HF+>60** ($1,702 \pm 0,142$) (Tabla 57).

Tabla 57. Análisis de la función visual en los diferentes grupos de estudio según la historia familiar, la edad y la caracterización alélica para el ApoE ε4

	HF- (n=40)	HF+ (n=109)	p-valor	Efecto del tamaño		HF- ApoE ε4- 40- 60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+ 40- 60 (n=28)	p-valor	Efecto del tamaño		
AV	0,985 ± 0,098	1,028 ± 0,094	0,023*	-0,46 (- 0,34 - 0,09)	AV	0,981 ± 0,040	1,036 ± 0,095	0,018*	-0,68 (- 1,33 - 0,03)		
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,749±0, 166	0,761	0,05 (- 0,33 0,42)	Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,724 ± 0,121	1,749 ± 0,148	0,560	-0,18 (- 0,81 0,45)	
	6	1,971±0, 180	0,604	-0,11 (- 0,48 0,27)		6	1,972 ± 0,171	2,029 ± 0,213	0,311	-0,29 (- 0,92 0,35)	
	12	1,594±0, 175	1,646±0, 176	0,082		-0,30 (- 0,67 0,08)	12	1,544 ± 0,169	1,675 ± 0,182	0,025*	-0,74 (- 1,39 - 0,09)
	18	1,162±0, 163	1,174±0, 197	0,696		-0,06 (- 0,44 0,31)	18	1,144 ± 0,164	1,218 ± 0,197	0,125	-0,40 (- 1,04 0,24)
	HF->60 (n=22)	HF+>60 (n=27)	p-valor	Efecto del tamaño		HF- ApoE ε4- >60 (n=16)	HF+ ApoE ε4+>60 (n=12)	p-valor	Efecto del tamaño		
AV	0,995 ± 0,125	0,992 ± 0,064	0,411	0,04 (- 0,50, 0,58)	AV	1,006 ± 0,139	1,000 ± 0,074	0,540	0,05 (- 0,73, 0,84)		
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,803 ± 0,162	1,702 ± 0,142	0,023*	0,68 (0,09, 1,26)	3	1,824 ± 0,179	1,686 ± 0,166	0,068	0,79 (- 0,07, 1,66)	
	6	1,969 ± 0,194	1,956 ± 0,150	0,724	0,08 (- 0,49, 0,64)	6	1,949 ± 0,220	1,977 ± 0,169	0,779	-0,14 (- 0,97, 0,69)	
	12	1,647 ± 0,174	1,634 ± 0,174	0,941	0,07 (- 0,50, 0,64)	12	1,659 ± 0,186	1,597 ± 0,189	0,591	0,33 (- 0,51, 1,17)	
	18	1,198 ± 0,147	1,181 ± 0,224	0,583	0,08 (- 0,48, 0,65)	18	1,186 ± 0,126	1,158 ± 0,296	0,537	0,13 (- 0,70, 0,96)	

Media±DE

*P < 0,05, **P < 0,01

Efecto del tamaño se presenta con la D de Cohen.

Test de los rangos de Wilcoxon

(HF: historia familiar; cpg: ciclos por grado, ApoE: apolipoproteína E)

7.5.2 Análisis del grosor de la retina del área macular y peripapilar en grupos de estudio

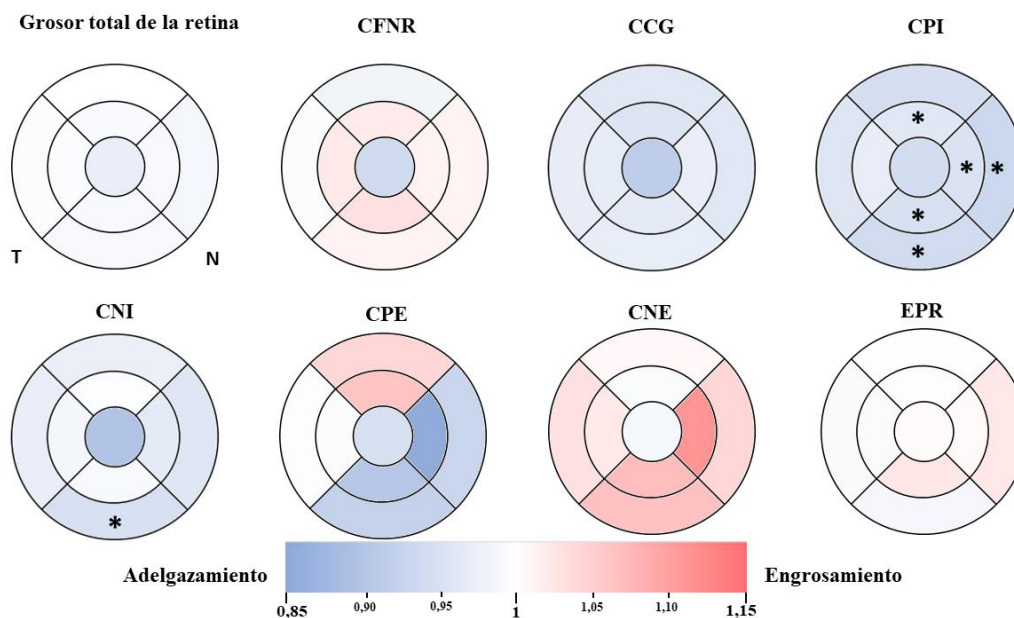
Análisis del grosor macular

Cuando analizamos mediante OCT el grosor a nivel macular encontramos diferencias estadísticamente significativas solamente en la CPI y la CNI.

En la CPI el grupo de **HF+ ApoE ε4+ 40-60** presentaba un descenso de grosor estadísticamente significativo en comparación con el grupo **HF- ApoE ε4- 40-60** en: i) el sector nasal, tanto en el anillo macular interno ($(41,82 \pm 2,59$ vs. $43,93 \pm 2,49$), $W = 239,50$, $p = 0,021$; d de Cohen = $-0,83$; $[-1,54 -0,12]$, intervalo de confianza al 95% de certeza), como en el anillo macular externo ($30,00 \pm 2,47$ vs. $32,27 \pm 2,89$; $W = 237,00$, $p = 0,025$; d de Cohen = $-0,86$ $[-1,57 -0,15]$); ii) el sector superior en el anillo macular interno ($40,91 \pm 2,20$ vs. $42,73 \pm 1,98$; $W = 247,00$, $p = 0,010$; d de Cohen = $-0,86$ $[-1,57 -0,15]$); y en iii) el sector inferior, tanto en el anillo macular interno ($40,32 \pm 2,51$ vs $42,60 \pm 2,77$; $W = 250,00$, $p = 0,008$; d de Cohen = $-0,87$ $[-1,58 -0,16]$) como en el anillo externo ($26,95 \pm 2,26$ frente a $28,93 \pm 1,94$; $W = 250,50$, $p = 0,008$; d de Cohen = $-0,93$ $[-1,64 -0,21]$)

En la CNI, el grupo **HF+ ApoE ε4+ 40-60** presentó una disminución estadísticamente significativa del grosor en comparación con el grupo **HF- ApoE ε4- 40-60**, únicamente en el sector inferior del anillo macular externo ($30,81 \pm 2,29$ vs. $33,00 \pm 2,36$; $W = 234,00$, $p = 0,014$; d de Cohen = $-0,94$ $[-1,67 -0,22]$)

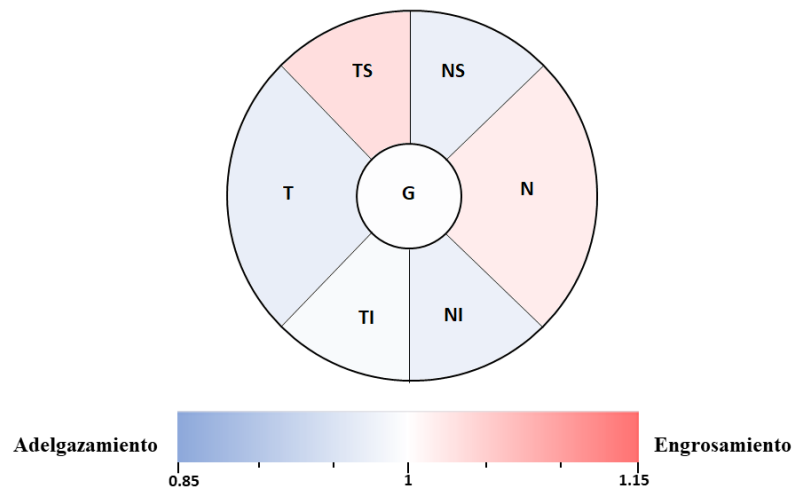
Los resultados de este análisis se muestran en la Gráfica 44.



Gráfica 44. Representación colorimétrica de los cambios de grosor de las capas de la retina entre el grupo HF+ ApoE ε4+ 40-60 y el grupo HF- ApoE ε4- 40-60 en el área macular mediante sectores circulares concéntricos. CFNR: capa de fibras nerviosas de la retina; CCG: capa de células ganglionares; CPI: capa plexiforme interna; CNI: capa nuclear interna; CPE: capa plexiforme externa; CNE: capa nuclear externa; EPR: epitelio pigmentario de la retina; HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *P < 0,05, **P < 0,01 Prueba de suma de rangos de Wilcoxon con corrección de continuidad.

Análisis del grosor peripapilar

En la CFNRp no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el grosor al comparar el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - 40-60** con el grupo **HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60**. (Gráfica 45).



Gráfica 45. Representación colorimétrica de los cambios de grosor de la CFNR peripapilar entre el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - 40-60** y el grupo **HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60** el área peripapilar mediante sectores horarios. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ Test de Mann-Whitney.

7.5.3 Análisis mediante magnetoencefalografía

Latencia máxima del M100

Al realizar las comparaciones principales, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en la latencia máxima M100, ni al comparar los grupos más generales (**HF-**, $0,153 \pm 0,019$ e **HF+**, $0,153 \pm 0,021$, $t(61,62) = -0,06$, $p = 0,955$; d de Cohen = $-0,01 [-0,41 0,39]$) ni al comparar las más restrictivas (**HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60**, $0,155 \pm 0,022$, **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - 40-60**; $0,152 \pm 0,023$, $t(27,65) = 0,35$, $p = 0,765$; d de Cohen = $0,11 [-0,56 0,79]$).

Análisis de tiempo-frecuencia

Al realizar las comparaciones principales en tiempo-frecuencia, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), ni entre **HF-** y **HF+**, ni entre los subgrupos **HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60** y **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - 40-60**.

7.5.4 Correlaciones entre pruebas de función visual, grosor retiniano y magnetoencefalografía

Cuando analizamos la correlación de la latencia del pico M100 con las variables de la función visual, solo se encontró una relación negativa entre la AV y la latencia M100 para **HF+** ($r=-0,181$ y p -valor $0,040$) y el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4+$ 40-60** ($r=-0,408$ y p -valor $0,019$).

Además, el grupo de **HF- ApoE $\epsilon 4-$ 40-60** presentó una relación negativa estadísticamente significativa entre la latencia M100 y la SC de la frecuencia espacial de 3cpg ($r= -0,472$ y p -valor= $0,044$).

Los resultados detallados de la correlación de la latencia del pico M100 con las variables de la función visual se encuentran en la Tabla 58.

Por último, el grupo de **HF+ ApoE $\epsilon 4+$ 40-60** presentó una relación negativa entre la latencia M100 y el grosor retiniano de la CPI en el sector inferior del anillo externos (I2) ($r=-0,475$ y p -valor= $0,034$) (Tabla 58).

Tabla 58. Correlaciones entre la AV y SC y la latencia del pico M100 en los diferentes grupos de estudio

	HF- (n=33)			HF+ (n=95)			HF- ApoE ε4- 40-60 (n=14)			HF+ ApoE ε4+ 40-60 (n=26)		
	n	rho	p-valor	n	rho	P-valor	n	rho	p-valor	n	rho	p-valor
AV	33	-0,001	0,499	95	-0,181	0,040*	14	0,066	0,588	26	-0,408	0,019*
SC-3	31	-0,030	0,437	91	-0,040	0,352	14	-0,472	0,044*	26	-0,204	0,159
SC-6	31	-0,005	0,490	91	-0,008	0,471	14	0,078	0,604	26	-0,066	0,375
SC-12	31	0,262	0,922	91	0,086	0,792	14	0,061	0,582	26	-0,132	0,260
SC-18	31	0,079	0,664	91	0,012	0,544	14	-0,194	0,253	26	0,050	0,596
CPI-N1							13	0,104	0,735	20	-0,029	0,903
CPI-N2							13	0,048	0,877	20	-0,062	0,796
CPI-S1							13	-0,184	0,548	20	0,063	0,791
CPI-I1							13	-0,096	0,754	20	-0,182	0,443
CPI-I2							13	-0,044	0,886	20	-0,475	0,034*
CPI-I2							13	-0,152	0,621	19	-0,370	0,119

Correlación de Spearman

*P < 0,05,

(rho: coeficiente de correlación, HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; AV: agudeza visual, SC: sensibilidad al contraste)

Por otro lado, cuando analizamos las correlaciones entre las variables de la función visual y el grosor de la retina con la actividad de tiempo-frecuencia se encontró un patrón en el espacio sensorial y en el espacio fuente (corteza calcarina) apareciendo las mismas relaciones significativas en ambos análisis. El grupo **HF+** presentó correlaciones positivas entre la respuesta

de tiempo frecuencia y la agudeza visual ($r=0,233$ p -valor= $0,006$) en el espacio de los sensores y ($r=0,242$ y p -valor= $0,007$) en el espacio fuente (corteza calcarina) (Tabla 59 y Gráfica 46).

El grupo **HF+ ApoE ϵ 4+ 40-60** presentó correlaciones positivas estadísticamente significativas entre la respuesta de la frecuencia-tiempo y la agudeza visual en el espacio sensor ($r=0,450$ y p -valor $0,008$) y en el espacio fuente $r=0,399$ y p -valor= $0,034$). También se encuentran estas correlaciones positivas entre la respuesta frecuencia tiempo y la sensibilidad al contraste en 18 cpg en el espacio sensorial ($r=0,476$ y p -valor= $0,036$) y en espacio fuente ($r=0,436$ y p -valor= $0,028$) (Tabla 59 y Gráfica 46).

No encontramos correlación estadísticamente significativa entre el grosor de la retina y la actividad frecuencia-tiempo.

Tabla 59. Correlaciones entre la AV y SC y la respuestas frecuencia-tiempo en los espacios sensor y espacio fuente en los grupos de estudio.

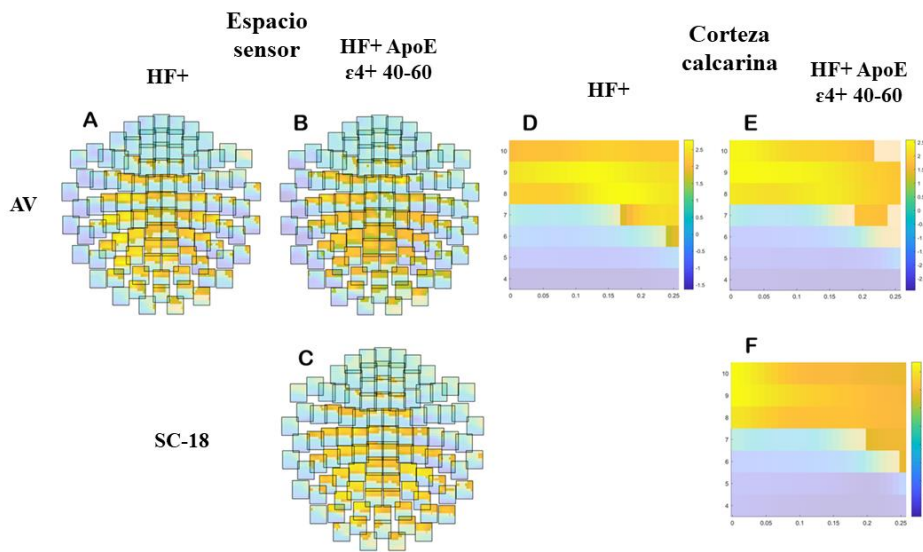
Espacio sensor								
	HF- (n=33)		HF+ (n=96)		HF- ApoE ϵ 4- 40-60 (n=14)		HF+ ApoE ϵ 4+ 40-60 (n=27)	
	<i>rho</i>	<i>p</i> -valor	<i>rho</i>	<i>p</i> -valor	<i>rho</i>	<i>p</i> -valor	<i>rho</i>	<i>p</i> -valor
AV	0,381	0,526	0,233	0,006**	0,488	0,604	0,450	0,008**
SC-3	0,376	0,478	0,197	0,535	0,596	0,118	0,360	0,095
SC-6	0,365	0,635	0,198	0,629	0,573	0,396	0,366	0,371
SC-12	-	-	0,192	0,419	0,568	0,840	0,361	0,092
SC-18	0,360	0,0641	0,210	0,270	0,486	0,679	0,476	0,036*

Espacio fuente (corteza calcarina)								
	HF- (n=33)		HF+ (n=96)		HF- ApoE ϵ 4- 40-60 (n=14)		HF+ ApoE ϵ 4+ 40-60 (n=27)	
	<i>rho</i>	<i>p</i> -valor	<i>rho</i>	<i>p</i> -valor	<i>rho</i>	<i>p</i>	<i>rho</i>	<i>p</i>
AV	-	-	0,242	0,007**	-	-	0,399	0,034*
SC-3	-	-	-	-	0,470	0,256	0,355	0,219
SC-6	-	-	-	-	0,527	0,200	0,336	0,290
SC-12	-	-	-	-	-	-	-	-
SC-18	0,315	0,236	-	-	-	-	0,436	0,028

Correlaciones de Spearman

* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$

(ρ : coeficiente de correlación, HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; AV: agudeza visual, SC: sensibilidad al contraste)



Gráfica 46. Prueba de permutación basada en clusters para las relaciones de la actividad de la TF con la función visual. Los colores azules indican correlaciones negativas, mientras que los amarillos indican correlaciones positivas. Los triplete de sensores de tiempo-frecuencia pertenecientes al cluster significativo se muestran en colores sólidos.

A: correlación entre agudeza visual frecuencia tiempo en el grupo HF+ (sensores); B: correlación entre agudeza visual y frecuencia-tiempo en el grupo HF+ApoE $\epsilon 4+$ 40-60 (sensores); C: correlación entre sensibilidad de contraste en 18 cpd y Frecuencia tiempo en el grupo HF+ApoE $\epsilon 4+$ 40-60 (sensores); D: correlación entre la agudeza visual y la frecuencia-tiempo en el grupo FH+ (calcarina); E: correlación entre la agudeza visual y la frecuencia tiempo en el grupo HF+ApoE $\epsilon 4+$ 40-60 (calcarina); F: correlación entre la sensibilidad al contraste a 18 cpd y la frecuencia-tiempo en el grupo FH+40-60 $\epsilon 4+$ (calcarina).

7.6 Estudio de las drusas retinianas mediante OCT

Debido a la detallada clasificación de los participantes aquellos grupos con menos de 5 sujetos fueron descartados del análisis estadístico.

Además, respecto al tipo de drusas, ninguno de los participantes del estudio mostró drusas blandas y ningún paciente presentaba drusas grandes ($>125\mu\text{m}$).

7.6.1 Caracterización de las drusas por historia familiar

Cuando clasificamos las drusas por historia familiar nos encontramos que el grupo de sujetos sin historia familiar (**HF-**) está formado por 58 personas y el grupo de personas con un antecedente de la enfermedad (**HF+**) por 130 personas. En el grupo de HF- un 63,79% de sujetos presentaban drusas duras, mientras que en el grupo de HF+ 61,53%.

Las características de distribución, localización y tamaño de las drusas se observan en la Tabla 60.

Cuando comparamos entre los grupos el número de drusas y el tamaño de las mismas, no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) Tabla 60.

Tabla 60. Clasificación de las drusas según la historia familiar

Variables analizadas	Grupos de estudio	HF- (n=58)	HF+ (n=130)	p-valor HF- vs HF+
Existencia de drusas	SI	37 (63,79%)	80 (61,54%)	
	NO	21 (36,21%)	50 (38,46%)	
Distribución	Unilateral	11 (29,73%)	41 (50,25%)	
	Bilateral	26 (70,27%)	39 (48,75%)	
Localización	Foveal	0	1 (1,25%)	
	Macular	5 (13,51%)	17 (21,25%)	
	Periférica	14 (37,83%)	28 (35,00%)	
	Macular+ periférica	18 (48,64%)	34 (42,50%)	
Número de drusas +DE		10,86 ± 18,24	11,38 ± 25,14	0,077
Tamaño de drusas +DE		59,98 ± 7,95	61,94 ± 11,43	0,783
Clasificación según el tamaño	Pequeñas ($\leq 63 \mu\text{m}$)	26 (70,27%)	52 (65,00%)	
	Medianas ($> 65 \mu\text{m}$ y $\leq 125 \mu\text{m}$)	11 (29,73%)	18 (35,00%)	

n(%); media ± DE
* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar, vs: versus; DE: desviación estándar)

7.6.2 Caracterización de las drusas por genotipo ApoE

Cuando clasificamos las drusas por caracterización alélica del gen ApoE, tenemos dos grupos de estudio. El primer grupo **ApoE $\epsilon 4^-$** , está formado por aquellos sujetos que no tienen ningún alelo $\epsilon 4$, es decir ($\epsilon 2\epsilon 2$, $\epsilon 2\epsilon 3$, $\epsilon 3\epsilon 3$), y está formado por 117 sujetos. El grupo **ApoE $\epsilon 4^+$** , está constituido por 58 sujetos de estudio que tenían al menos un alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon 2\epsilon 4$, $\epsilon 3\epsilon 4$ y $\epsilon 4\epsilon 4$) (Tabla 61). La presencia de drusas duras en el grupo ApoE $\epsilon 4^-$ se detectó en el 61,53% de los sujetos y en el grupo ApoE $\epsilon 4^+$ en el 62,07%. No hay diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el número y tamaño de las drusas entre los grupos. Los detalles de la distribución de las drusas, su localización, número y tamaño se encuentran en la Tabla 61.

Tabla 61. Clasificación de las drusas según la caracterización alélica para el alelo $\epsilon 4$ del ApoE.

	Grupos de estudio	ApoE $\epsilon 4$ - (n=117)	ApoE $\epsilon 4$ + (n=58)	p-valor ApoE $\epsilon 4$ - vs ApoE $\epsilon 4$ +
Existencia de drusas	SI	72 (61,53%)	36 (62,07%)	
	NO	45 (38,47%)	22 (37,95%)	
Distribución	Unilateral	33 (45,83%)	15 (41,67%)	
	Bilateral	39 (51,17%)	21 (58,33%)	
Localización	Foveal	0	1 (2,77%)	
	Macular	13 (18,05%)	8 (22,22%)	
	Periférica	29 (40,27%)	8 (22,22%)	
	Macular+ periférica	30 (41,66%)	19 (52,77%)	
Número de drusas +DE		9,99 \pm 20,13	11,36 \pm 22,28	0,950
Tamaño de drusas +DE		61,08 \pm 10,40	60,76 \pm 11,05	0,764
Clasificación según el tamaño	Pequeñas ($\leq 63 \mu\text{m}$)	48 (66,66%)	26 (72,22%)	
	Medianas (>65 $\leq 125 \mu\text{m}$)	24 (33,33%)	10 (27,77%)	

n(%); media \pm DE
* $P < 0,05$, ** $P < 0,01$ Test de Mann-Whitney
(ApoE: apolipoproteína E, vs: versus; DE: desviación estándar)

Al analizar los dos alelos del gen ApoE, clasificamos a los sujetos en los siguientes grupos: **ApoE $\epsilon 2\epsilon 2$** (n=1), **ApoE $\epsilon 2\epsilon 3$** (n=9), **ApoE $\epsilon 2\epsilon 4$** (n=2), **ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$** (n=107), **ApoE $\epsilon 3\epsilon 4$** (n=51) y ApoE $\epsilon 4\epsilon 4$ (n=6). Los grupos ApoE $\epsilon 2\epsilon 3$ y ApoE $\epsilon 4\epsilon 4$ tienen un número de participantes con drusas inferior a 5, por lo que no se incluyen en el análisis estadístico.

La presencia de drusas según la caracterización alélica fue de 64,48% en el grupo ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$ y de 62,74% en ApoE $\epsilon 3\epsilon 4$. Los detalles de la distribución de las drusas, la localización, el número y el tamaño se pueden encontrar en la Tabla 62.

Tabla 62. Clasificación de las drusas teniendo en cuenta los dos alelos para el gen ApoE

VARIABLES ANALIZADAS	GRUPOS DE ESTUDIO	ApoE ε3ε3 (n=107)	ApoE ε3ε4 (n=51)	p-valor ApoE ε3ε3 vs ApoE ε3ε4
Existencia de drusas	SI	69 (64,48%)	32 (62,74%)	
	NO	38 (35,52%)	19 (37,26%)	
Distribución	Unilateral	32 (46,37%)	16 (50,00%)	
	Bilateral	37 (53,62%)	16 (50,00%)	
Localización	Foveal	0	1 (3,13%)	
	Macular	13 (18,84%)	8 (25,00%)	
	Periférica	27 (39,13%)	8 (25,00%)	
	Macular+ periférica	29 (42,03%)	15 (46,88%)	
Número de drusas +DE		10,30 ± 20,51	10,94 ± 23,32	0,438
Tamaño de drusas +DE		60,76 ± 10,32	61,77 ± 11,99	0,949
Clasificación según el tamaño	Pequeñas(≤63 μm)	47 (98,12%)	22 (68,75%)	
	Medianas (>65 y≤125 μm)	22 (31,88%)	10 (32,25%)	

n(%); media ± DE
*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar, vs: versus; DE: desviación estándar)

7.6.3 Caracterización de las drusas por historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

Cuando caracterizamos las drusas según la historia familiar y la caracterización genética para el ApoE ε4 encontramos los siguientes grupos de estudio. El grupo de estudio de **HF- ApoE ε4-** estaba formado por 37 sujetos, el grupo **HF- ApoE ε4+** estaba formado por 11 participantes, el grupo **HF+ ApoE ε4-** lo formaban 69 sujetos y el grupo de **HF+ ApoE ε4+** lo formaban 46 participantes (Tabla 63).

Tabla 63. Caracterización de las drusas por historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

Variables analizadas	Grupos de estudio	HF- ApoE ε4- (n=37)	HF- ApoE ε4+ (n=11)	HF+ ApoE ε4- (n=69)	HF+ ApoE ε4+ (n=46)
Existencia de drusas	SI	22 (59,45%)	7 (63,64%)	44 (63,76%)	28 (60,87%)
	NO	15 (40,55%)	4 (36,36%)	25 (36,24%)	18 (39,13%)
Distribución	Unilateral	5 (22,73%)	1 (14,28%)	24 (54,55%)	13 (46,43%)
	Bilateral	17 (77,27%)	6 (85,72%)	20 (45,45%)	15 (53,57%)
Localización	Foveal	0	0	0	1 (3,57%)
	Macular	2 (9,09%)	1 (14,28%)	10 (22,73%)	6 (21,43%)
	Periférica	8 (36,36%)	1 (14,28%)	17 (38,64%)	7 (25,00%)
	Macular+ periférica	12 (54,54%)	5 (71,42%)	17 (38,64%)	14 (50,00%)
Número de drusas +DE		8,36±8,98	24,14±37,79	11,55±24,89	8,54±16,48
Tamaño de drusas +DE		58,42±7,66	59,31±6,22	62,00±11,02	61,22±12,15
Clasificación según el tamaño	Pequeñas(≤63 μm)	17 (77,27%)	5 (71,42%)	27 (61,36%)	20 (71,43%)
	Medianas (>65 y≤125 μm)	5 (22,72%)	2 (28,57%)	17 (38,64%)	8 (28,57%)

n(%); media ± DE

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; vs: versus; DE: desviación estándar)

Cuando comparamos entre grupos el tamaño medio de las drusas y el número medio de drusas no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabla 64).

Tabla 64. p-valor del número de drusas y del tamaño de las drusas entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA y caracterización alélica del ApoE ε4

p-valor tamaño de las drusas					
p-valor número de drusas		HF- ApoE ε4-	HF- ApoE ε4+	HF+ ApoE ε4-	HF+ ApoE ε4+
	HF- ApoE ε4-		0,838	0,311	0,769
	HF- ApoE ε4+	0,645		0,774	0,951
	HF+ ApoE ε4-	0,129	0,275		0,628
	HF+ ApoE ε4+	0,172	0,340	0,802	

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E)

7.6.4 Caracterización de las drusas por historia familiar, genotipo ApoE y factores de riesgo cardiovasculares

Hipercolesterolemia

Cuando caracterizamos las drusas según la historia familiar, la caracterización genética para el ApoE ε4 y el estado de hipercolesterolemia (HCOL+ o HCOL-) encontramos los siguientes grupos

de estudio. El grupo de estudio de **HF- ApoE ε4- HCOL-** (n=26), el grupo **HF- ApoE ε4- HCOL+** (n=11), el grupo **HF- ApoE ε4- HCOL+** (n= 7), el grupo de **HF- ApoE ε4- HCOL+** (n= 46), el grupo **HF+ ApoE ε4- HCOL +** (n=23), el grupo **HF+ ApoE ε4+ HCOL-** (n=24) y el grupo **HF+ ApoE ε4+ HCOL +** (n=22) (Tabla 65).

Tabla 65. Caracterización de las drusas por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4y la presencia y ausencia de HCOL.

		HF- ApoE ε4- HCOL-	HF- ApoE ε4- HCOL+	HF- ApoE ε4+ HCOL-	HF+ ApoE ε4- HCOL -	HF+ ApoE ε4- HCOL +	HF+ ApoE ε4+ HCOL -	HF+ ApoE ε4+ HCOL +
		(n=26)	(n=11)	(n=7)	(n=46)	(n=23)	(n=24)	(n=22)
Existencia de drusas	Si	17 (65,38%)	5 (45,45%)	5 (71,43%)	29 (63,04%)	15 (65,22%)	15 (62,50%)	13 (59,09%)
	NO	9 (34,62%)	6 (54,55%)	2 (28,57%)	17 (36,96%)	8 (34,78%)	9 (37,5%)	9 (40,91%)
Distribución	Unilateral	5 (29,41%)	0	1 (20,00%)	15 (51,73%)	9 (60,00%)	8 (53,33%)	5 (38,46%)
	Bilateral	12 (70,59%)	5 (100%)	4 (80,00%)	14 (48,28%)	6 (40,00%)	7 (46,67%)	8 (61,54%)
Localización	Foveal	0	0	0	0	0	0	1 (7,69%)
	Macular	1 (5,88%)	1 (20,00%)	1 (20,00%)	5 (17,24%)	5 (33,33%)	5 (33,33%)	1 (7,69%)
	Periférica	8 (47,06%)	0	1 (20,00%)	12 (41,38%)	5 (33,33%)	4 (26,67%)	3 (23,08%)
	Macular + Periférica	8 (47,06%)	4 (80,00%)	3 (60,00%)	12 (41,38%)	5 (33,33%)	6 (40,00%)	8 (61,54%)
	Macular + Periférica	8 (47,06%)	4 (80,00%)	3 (60,00%)	12 (41,38%)	5 (33,33%)	6 (40,00%)	8 (61,54%)
Número de drusas +DE		12,53±31,8 4	12,80±11,9 9	24,60±45,7 3	15,14±30,0 0	4,60±5,03	4,67±3,44	13,00±23,6 0
Tamaño de drusas +DE		65,42±10,7 4	61,59±9,57	57,92±7,30	61,73±12,2 0	62,51±8,6 4	59,05±9,8 1	63,73±14,3 8
Clasificación según el tamaño	Pequeña (≤63 μm)	9 (52,94%)	3 (60,00%)	4 (80,00%)	19 (65,52%)	8 (53,33%)	12 (80,00%)	8 (61,54%)
	Mediana (>65 and ≤125 μm)	8 (47,06%)	2 (40,00%)	1 (20,00%)	10 (34,48%)	7 (46,67%)	3 (20,00%)	5 (38,46%)

n(%); media ± DE

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; DE: desviación estándar; HCOL:hipercolesterolemia)

Cuando comparamos entre grupo el número medio de drusas encontramos que existían diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos el grupo **HF- ApoE ε4- HCOL+** (12,80±11,99) vs **HF+ ApoE ε4- HCOL +** (4,60±5,03), (p-valor=0,038) y cuando comparamos **HF- ApoE ε4- HCOL+** (12,80±11,99) vs **HF+ ApoE ε4+ HCOL-** (4,67±3,44) (p=0,025) (Tabla X). Cuando comparamos el tamaño medio de drusas entre grupos no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre grupos (Tabla 66).

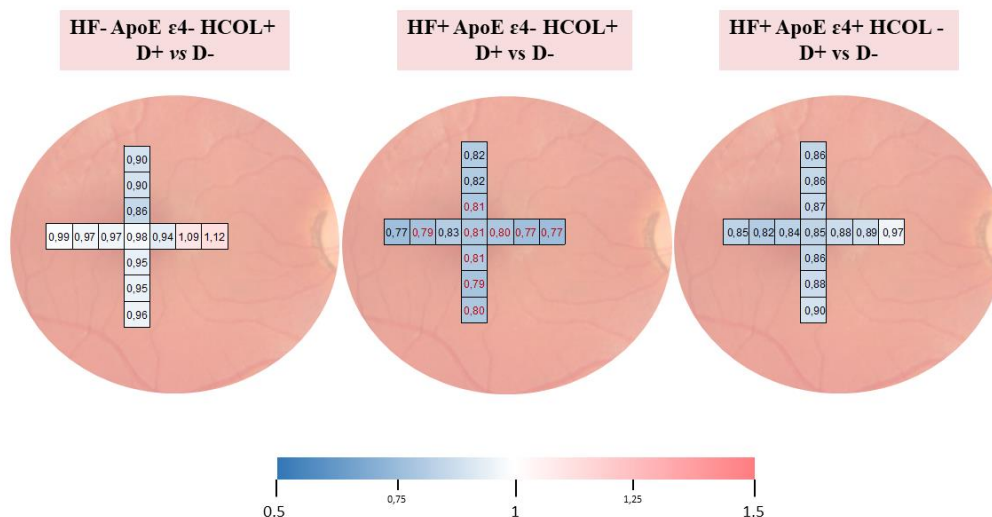
Tabla 66. p-valor del número de drusas entre los grupos de estudio según la historia familiar, genotipo ApoE ε4 y HCOL.

	p-valor tamaño de las drusas						
	HF- ApoE ε4- HCOL- (n=26)	HF- ApoE ε4- HCOL+ (n=11)	HF- ApoE ε4+ HCOL- (n=7)	HF+ ApoE ε4- HCOL - (n=46)	HF+ ApoE ε4- HCOL + (n=23)	HF+ ApoE ε4+ HCOL - (n=24)	HF+ ApoE ε4+ HCOL + (n=22)
HF- ApoE ε4- HCOL- (n=26)		0,481	0,845	0,509	0,113	0,895	0,451
HF- ApoE ε4- HCOL+ (n=11)	0,07		0,465	0,903	0,600	0,631	0,921
HF- ApoE ε4+ HCOL- (n=7)	0,723	0,463		0,808	0,238	0,662	0,522
HF+ ApoE ε4- HCOL - (n=46)	0,731	0,096	0,922		0,480	0,683	0,817
HF+ ApoE ε4- HCOL + (n=23)	0,143	0,038*	0,559	0,255		0,300	0,678
HF+ ApoE ε4+ HCOL - (n=24)	0,447	0,025*	0,930	0,708	0,556		0,765
HF+ ApoE ε4+ HCOL + (n=22)	0,758	0,092	0,881	0,934	0,362	0,626	

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; HCOL: hipercolesterolemia)

En estos grupos también analizamos el grosor coroidal y encontramos diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) cuando comparamos entre **HF+ ApoE ε4- HCOL+ con drusas duras (D+)** y **HF+ ApoE ε4- HCOL+ sin drusas duras (D-)** en diferentes puntos de la coroides. Los detalles pueden verse en la Gráfica 47.



Gráfica 47. Representación colorimétrica del análisis del grosor de la coroides en diferentes puntos entre los participantes con y sin drusas en HF-ApoE ε4- HCOL+, HF+ ApoE ε4- HCOL+, y HF+ ApoE ε4+ HCOL-. El adelgazamiento se muestra en tonos azules, mientras que el engrosamiento se muestra en tonos rojos. Los puntos que alcanzan significación estadística se marcan como números rojos.

Hipertensión arterial

Cuando caracterizamos las drusas según la historia familiar, la caracterización genética para el ApoE ε4 y el estado de hipertensión arterial de los sujetos (HTA- e HTA+) encontramos los siguientes grupos de estudio: el grupo de estudio de **HF- ApoE ε4- HTA-** (n=36), el grupo **HF- ApoE ε4- HTA+** (n= 9), el grupo **HF- ApoE ε4+ HTA-** (n=5), el grupo **HF- ApoE ε4+ HTA+** (n= 6), el grupo **HF+ ApoE ε4- HTA-** (n=55), el grupo **HF+ ApoE ε4- HTA-** (n= 14), el grupo **HF+ ApoE ε4+ HTA-** (n= 38) y el grupo **HF+ ApoE ε4+ HTA+** (n=8) (Tabla 67).

Cuando analizamos las entre los grupos de estudio no encontramos diferencias entre la presencia y localización de las drusas. El grupo con el mayor número de drusas fue de **HF+ ApoE ε4+ HTA+** (75%), seguido del grupo **HF+ ApoE ε4- HTA+** (71,43%) y el grupo con menos presencia de drusas fue **HF- ApoE ε4- HTA-** (47,22%) (Tabla 67).

Tabla 67. Caracterización de las drusas por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4 y la presencia y ausencia de HTA

		HF- ApoE ϵ 4- HTA- (n=28)	HF- ApoE ϵ 4- HTA + (n=9)	HF- ApoE ϵ 4+ HTA + (n=6)	HF+ ApoE ϵ 4- HTA - (n=55)	HF+ ApoE ϵ 4- HTA + (n=14)	HF+ ApoE ϵ 4+ HTA - (n=38)	HF+ ApoE ϵ 4+ HTA + (n=8)
Existencia de drusas	SI	17 (47,22%)	5 (55,55%)	4 (66,67%)	34 (61,82%)	10 (71,43%)	22 (57,89%)	6 (75%)
	NO	11 (52,78%)	4 (44,45%)	2 (33,33%)	21 (38,18%)	4 (28,57%)	16 (42,11%)	2 (25%)
Distribución	Unilateral	5 (29,41%)	0	1 (25,00%)	20 (58,82%)	4 (40,00%)	10 (45,45%)	3 (50,00%)
	Bilateral	12 (70,59%)	5 (100%)	3 (75,00%)	14 (41,17%)	6 (60,00%)	12 (54,55%)	3 (50,00%)
Localización	Foveal	0	0	0	0	0	0	1 (16,67%)
	Macular	1 (5,88%)	1 (20,00%)	1 (25,00%)	7 (20,59%)	3 (30,00%)	5 (22,73%)	1 (16,67%)
	Periférica	8 (47,06%)	0	0	14 (41,18%)	3 (30,00%)	5 (22,73%)	2 (33,33%)
	Macular+ periférica	8 (47,06%)	4 (80,00%)	3 (75,00%)	13 (38,24%)	4 (40,00%)	12 (54,55%)	2 (33,33%)
Número de drusas +DE		5,59±3,69	17,80±15,00	38,25±47,06	12,24±27,49	9,20±13,44	10,14±18,24	2,67±1,37
Tamaño de drusas +DE		58,42±8,43	58,44±4,89	61,15±7,55	61,76±12,24	62,81±5,38	62,19±12,34	57,68±11,74
Clasificación según el tamaño	Pequeñas(\leq 63 μm)	13 (76,47%)	4 (80,88%)	2 (50,00%)	23 (67,65%)	4 (40,00%)	16 (72,73%)	4 (66,67%)
	Medianas (>65 y \leq125 μm)	4 (23,53%)	1 (20,00%)	2 (50,00%)	11 (32,35%)	6 (60,00%)	6 (27,27%)	2 (33,33%)

n(%); media \pm DE

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; DE: desviación estándar, HTA: hipertensión arterial)

Cuando comparamos el número medio de drusas entre los grupos de estudio encontramos diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos entre el grupo de **HF- ApoE ϵ 4- HTA-** (5,59±3,69) y el grupo de **HF+ ApoE ϵ 4+ HTA +** (2,67±1,37) (p-valor=0,041) (Tabla 68). También encontramos diferencias estadísticamente significativas en el número de drusas cuando comparamos el grupo **HF- ApoE ϵ 4- HTA+** (17,80±15,00) con: i) el grupo **HF+ ApoE ϵ 4- HTA-** (12,24±27,49) (p-valor= 0,040), y con ii) el grupo **HF+ ApoE ϵ 4+ HTA +** (2,67±1,37) (p-valor= 0,016) (Tabla 68). Cuando comparamos el tamaño de las drusas entre los grupos de estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) (Tabla 68).

Tabla 68. p-valor del número de drusas entre los grupos de estudio según la historia familiar, genotipo ApoE ϵ 4 y HTA.

		p-valor tamaño de las drusas					
		HF- ApoE ϵ 4- HTA-	Hf- ApoE ϵ 4- HTA+	Hf+ ApoE ϵ 4- HTA-	HF+ ApoE ϵ 4- HTA+	HF+ ApoE ϵ 4+ HTA-	HF+ ApoE ϵ 4+ HTA+
p-valor número de las drusas	HF- ApoE ϵ 4- HTA-		0,969	0,617	0,113	0,479	0,529
	Hf- ApoE ϵ 4- HTA+	0,054		0,867	0,086	0,901	0,584
	Hf+ ApoE ϵ 4- HTA-	0,268	0,040*		0,287	0,775	0,363
	HF+ ApoE ϵ 4- HTA+	0,820	0,139	0,543		0,329	0,233
	HF+ ApoE ϵ 4+ HTA-	0,989	0,079	0,314	0,790		0,240
	HF+ ApoE ϵ 4+ HTA+	0,041*	0,016*	0,420	0,249	0,080	

*P < 0,05, Test de Mann-Whitney

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; HTA: hipertensión arterial)

Diabetes Mellitus

Cuando analizamos las drusas según la historia familiar, la caracterización genética para el ApoE ϵ 4 y la presencia o no de Diabetes Mellitus (DM- o DM+) encontramos los siguientes grupos de estudio: el grupo de **HF- ApoE ϵ 4- DM-** (n=36), el grupo **HF- ApoE ϵ 4+ DM-** (n=11), el grupo **HF+ ApoE ϵ 4- DM-** (n=64) participantes, el grupo **HF+ ApoE ϵ 4- DM+** (n= 5) y el grupo **HF+ ApoE ϵ 4+ DM-** (n=45) (Tabla 69).

Tabla 69. Caracterización de las drusas por historia familiar, caracterización alélica del ApoE ϵ 4y la presencia y ausencia de DM

		FH- ApoE ϵ 4- DM- (n=36)	FH- ApoE ϵ 4+ DM- (n=11)	FH+ ApoE ϵ 4- DM- (n=64)	FH+ ApoE ϵ 4+ DM- (n=45)
Existencia de drusas	Si	21 (58,33%)	7 (63,64%)	41 (64,06%)	27 (60,00%)
	NO	15 (41,67%)	4 (36,36%)	23 (35,94%)	18 (30%)
Distribución	Unilateral	5 (23,81%)	1 (14,29%)	22 (53,66%)	13 (48,15%)
	Bilateral	16 (76,19%)	6 (85,71%)	19 (46,34%)	14 (51,85%)
Localización	Foveal	0	0	0	1 (3,70%)
	Macular	1 (4,76%)	1 (14,29%)	9 (21,95%)	6 (22,22%)
	Periférica	8 (38,10%)	1 (14,29%)	16 (39,02%)	7 (25,93%)
	Macular + Periférica	12 (57,14%)	5 (71,43%)	16 (39,02%)	13 (48,15%)
Número de drusas +DE		7,14±7,09	24,14±37,78	12,10±25,70	8,63±16,79
Tamaño de drusas +DE		58,34±7,84	59,31±6,62	61,89±11,30	60,83±12,20
Clasificación según el tamaño	Pequeña ($\leq 63 \mu\text{m}$)	16 (76,19%)	5 (71,43%)	26 (63,41%)	20 (74,07%)
	Mediana (>65 and $\leq 125 \mu\text{m}$)	5 (23,81%)	2 (28,57%)	15 (36,59%)	7 (25,93%)

n(%); media \pm DE

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; DE: desviación estándar, DM:diabetes mellitus)

Cuando comparamos entre grupos el tamaño medio de las drusas y el número medio de drusas no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$) (Tabla 70).

Tabla 70. p-valor del número de drusas entre los grupos de estudio según la historia familiar, genotipo ApoE $\epsilon 4$ y DM

		p-valor tamaño de las drusas			
		HF- ApoE $\epsilon 4$ - DM-	HF- ApoE $\epsilon 4+$ DM-	HF+ ApoE $\epsilon 4$ - DM-	HF+ ApoE $\epsilon 4+$ DM-
p-valor número de las drusas	HF- ApoE $\epsilon 4$ - DM-		0,811	0,372	0,843
	HF- ApoE $\epsilon 4+$ DM-	0,540		0,861	0,932
	HF+ ApoE $\epsilon 4$ - DM-	0,220	0,295		0,552
	HF+ ApoE $\epsilon 4+$ DM-	0,222	0,335	0,904	

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann-Whitney

(HF: historia familiar, ApoE: apolipoproteína E; DM: diabetes mellitus)

7.7 Estudio de la vascularización

7.7.1 Estudio del grosor coroideo mediante OCT

Para analizar el grosor coroideo clasificamos a los participantes teniendo en cuenta la historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE $\epsilon 4$ y la presencia o ausencia de drusas duras en la retina. Teniendo en cuenta esta clasificación los grupos de estudio se conformaron de la siguiente manera: el grupo **HF- ApoE $\epsilon 4$ - sin drusas** (n=29), el grupo **HF- ApoE $\epsilon 4$ - con drusas** (n=14), el grupo **HF- ApoE $\epsilon 4+$ sin drusas** (n=9), el grupo **HF- ApoE $\epsilon 4+$ con drusas** (n=5), el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - sin drusas** (n=57), el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - con drusas** el grupo (n=17), el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4+$ sin drusas** (n=35) y el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4+$ con drusas** (n=18) (Tabla 71).

Tabla 71. Análisis del grosor coroideo en diferentes puntos según la historia familiar de la enfermedad, caracterización alélica para el ApoEε4 y la presencia o ausencia de drusas retinianas

	HF- ApoE ε4- sin drusas (n=29)	HF- ApoE ε4- con drusas (n=14)	HF- ApoE ε4+ sin drusas (n=9)	HF- ApoE ε4+ con drusas (n=5)	HF+ ApoE ε4- sin drusas (n=57)	HF+ApoE ε4- con drusas (n=17)	HF+ApoE ε4+ sin drusas (n=35)	HF+ ApoE ε4+ con drusas (n=18)	
Subfoveal	268,0 (213,5- 307,5)	249,5 (176,8- 268,0)	257,0 (234,0- 318,0)	252,5 (164,5- 279,8)	273,0 (231,0- 309,5)	255,0 (215,5- 287,0)	263,0 (212,0- 302,0)	241,0 (224,5- 296,5)	
Temp oral	500μ m	260,0 (210,5- 325,0)	234,0 (159,8- 259,0)	266,0 (231,5- 316,0)	256,5 (173,3- 296,3)	263,0 (220,5- 302,0)	252,0 (199,5- 292,0)	256,0 (228,0- 295,0)	252,0 (222,8- 297,3)
	1000 μm	248,0 (207,5- 316,0)	219,5 (161,8- 267,50)	276,0 (202,5- 300,0)	256,5 (176,5- 310,3)	263,0 (218,5- 288,5)	248,0 (195,5- 292,0)	253,0 (219,0- 287,0)	247,5 (217,5- 282,0)
	1500 μm	232,0 (202,0- 296,0)	222,5 (157,5- 255,3)	254,0 (186,5- 343,0)	255,0 (189,8- 292,5)	255,0 (216,0- 288,5)	251,0 (202,5- 282,0)	250,0 (215,0- 280,0)	265,0 (214,5- 291,0)
Nasal	500μ m	261,0 (204,5- 313,5)	230,5 (177,0- 252,5)	238,0 (228,0- 302,5)	256,5 (180,3- 292,3)	267,0 (220,5- 295,0)	234,0 (198,5- 285,5)	249,0 (199,0- 297,0)	244,0 (224,0- 286,2)
	1000 μm	233,0 (195,5- 303,5)	206,0 (150,8- 282,0)	223,0 (204,5- 291,5)	257,0 (173,3- 295,8)	255,0 (190,5- 299,0)	225,0 (191,0- 274,5)	240,0 (182,0- 281,0)	248,5 (198,8- 268,0)
	1500 μm	221 (175,50- 278,5)	182,5 (140,5- 269,3)	217,0 (171,0- 278,0)	271,0 (134,0- 300,0)	228,0 (183,5- 274,5)	205,0 (170,5- 242,0)	218,0 (174,0- 265,0)	252,0 (179,8- 263,0)
Superi or	500μ m	262,0 (218,0- 301,0)	222,0 (170,8- 273,5)	260,0 (228,5- 311,5)	265,5 (182,8- 292,8)	265,0 (228,0- 299,0)	262,0 (219,5- 282,5)	257,0 (209,0- 309,0)	252,5 (222,0- 284,0)
	1000 μm	255,0 (218,5- 297,0)	227,0 (170,8- 263,8)	256,0 (227,5- 308,5)	272,5 (180,8- 281,8)	271,0 (228,5- 302,0)	259,0 (217,5- 289,0)	267,0 (223,0- 299,0)	252,5 (234,3- 288,0)
	1500 μm	259,0 (209,5- 306,5)	223,0 (147,0- 253,3)	250,0 (225,5- 319,0)	269,0 (174,0- 298,0)	261,0 (224,5- 305,5)	261,0 (206,0- 286,0)	262,0 (226,0- 300,0)	257,5 (233,3- 290,3)
Inferio r	500μ m	262,0 (209,5- 311,5)	222,5 (172,8- 274,3)	256,0 (222,0- 308,5)	272,0 (179,5- 284,3)	270,0 (231,5- 304,0)	252,0 (208,5- 276,5)	265,0 (216,0- 310,0)	251,5 (216,3- 301,3)
	1000 μm	266,0 (217,0- 306,5)	219,0 (165,0- 270,8)	267,0 (229,5- 308,5)	267,5 (171,0- 296,5)	271,0 (227,5- 295,5)	252,0 (211,5- 268,0)	270,0 (216,0- 322,0)	243,0 (219,8- 287,3)
	1500 μm	264,0 (213,5- 312,0)	217,0 (169,0- 257,25)	262,0 (218,5- 300,5)	271,5 (183,0- 276,0)	268,0 (224,0- 304,0)	257,0 (211,0- 266,5)	250,0 (214,0- 317,0)	269,0 (216,0- 309,5)

Mediana (RI)

(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil)

En el análisis estadístico entre grupos se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos entre el grupo de **HF- ApoE ε4- con drusas** y el grupo **HF- ApoE ε4- sin drusas** en los puntos **superior a 1500μm** ((223,0 (147,0-253,3), **HF- ApoE ε4- con drusas** vs 259,0 (209,5-306,5), **HF- ApoE ε4- sin drusas**) (p valor 0,030) e **inferior a 1500 μm** ((217,0 (169,0-257,25), **HF- ApoE ε4- con drusas** vs 264,0 (213,5-312,0), **HF- ApoE ε4- sin drusas**) (p-valor 0,028) (Tabla 72).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo **HF- ApoE ε4- con drusas** con el grupo **HF+ ApoE ε4- con drusas** en el punto **superior a 1500μm** (223,0 (147,0-253,3), **HF- ApoE ε4- con drusas** vs 259,0 (217,5-289,0), **HF+ ApoE ε4- con drusas**) (p-valor 0,039) (Tabla 72).

También se encontraron diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos entre el grupo **HF- ApoE ε4- con drusas** y el grupo **HF+ ApoE ε4+ con drusas**, tanto en el punto **superior a 1500μm** (223,0 (147,0-253,3), **HF- ApoE ε4- con drusas** vs 257,5 (233,3-290,3), **HF+ ApoE ε4+ con drusas**) (p-valor 0,019) y en el **punto inferior a 1500μm** (264,0 (213,5-312,0)) **HF- ApoE ε4- con drusas** vs 269,0 (216,0-309,5), **HF+ ApoE ε4+ con drusas**) (p-valor =0,040). (Tabla 72).

Tabla 72. p-valor del grosor coroideo y de la FAZ entre los grupos de estudio teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y la presencia o ausencia de drusas

HF-				HF+				Sin drusas	Con drusas	ApoE ε4-	ApoE ε4+	HF-
ApoE ε4-		ApoE ε4+		ApoE ε4-		ApoE ε4+						
Sin drusas	Con drusas	Sin drusas	Con drusas	Sin drusas	Con drusas	Sin drusas	Con drusas	Sin drusas	Con drusas	ApoE ε4-	ApoE ε4+	HF+
	Coroides: Sup 1500 (0,030*), Inf 1500 (0,028*)							Sin drusas				
					Coroides Sup 1500 (0,039*)		Coroides: Sup 1500 (0,019*), Inf 1500 (0,040*)	Con drusas				
								Sin drusas				
								Con drusas				
					Superficial ZAF (<0,001**)			Sin drusas				
						Superficial ZAF (0,013*)		Con drusas				
								Sin drusas				
								Con drusas				

*P < 0,05, **P < 0,01, Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar; ApoE: apolipoproteína E, RI: rango intercuartil)

7.7.2 Estudio de la zona avascular foveal mediante OCTA

Para analizar las zonas foveales avasculares clasificamos a los pacientes teniendo en cuenta la historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y la presencia o ausencia de drusas duras en la retina. Teniendo en cuenta esta clasificación los grupos de estudio se conformaron de la siguiente manera: el grupo **HF- ApoE ε4- sin drusas** (n=29), el grupo **HF- ApoE ε4- con drusas** (n=14), el grupo **HF- ApoE ε4+ sin drusas** (n=9), el grupo **HF- ApoE ε4+ con drusas** (n=5) el grupo **HF+ ApoE ε4- sin drusas** (n=57), el grupo **HF+ ApoE ε4- con drusas** el grupo (n=17), el grupo **HF+ ApoE ε4+ sin drusas** (n=35) y el grupo **HF+ ApoE ε4+ con drusas** (n=18) (Tabla 73).

Tabla 73. Análisis de las ZAF tanto del plexo superficial como del plexo profundo por historia familiar de la enfermedad, caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y presencia o ausencia de drusas

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - Sin drusas (n=29)	HF- ApoE $\epsilon 4$ - Con drusas (n=14)	HF- ApoE $\epsilon 4$ + Sin drusas (n=9)	HF- ApoE $\epsilon 4$ + Con drusas (n=5)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ - Sin drusas (n=57)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ - Con drusas (n=17)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + Sin drusas (n=35)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + Con drusas (n=18)
ZAF Superficia I	0,47 (0,39- 0,62)	0,45 (0,42- 0,68)	0,47(0,37- 0,84)	0,47 (0,37- 0,82)	0,51 (0,39- 0,62)	0,67 (0,62- 0,80)	0,54 (0,44- 0,68)	0,59 (0,43- 0,83)
ZAF Profunda	0,23 (0,18- 0,31)	0,22 (0,16- 0,34)	0,24 (0,2- 0,359)	0,23 (0,12- 0,34)	0,26 (0,39- 0,33)	0,29 (0,24- 0,38)	0,28 (0,23- 0,33)	0,29 (0,21- 0,41)

Mediana (RI) Áreas en mm²

(HF: historia familiar; ApoE: apolipoproteína E, RI: rango intercuartil).

Hubo diferencias estadísticamente significativas en la ZAF superficial entre el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - sin drusas** (0,51 (0,39-0,62)) y el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ - con drusas** (0,67 (0,62-0,80)) (p-valor <0,001**). También hubo diferencias significativas (p<0,05) en la ZAF superficial entre el **grupo HF+ ApoE $\epsilon 4$ - con drusas** (0,67 (0,62-0,80)) y el **grupo HF+ ApoE $\epsilon 4$ + sin drusas** (0,54 (0,44-0,68)) (p-valor 0,013*) (Tabla 72).

7.7.3 Estudio de la vascularización retiniana mediante OCTA y análisis de imagen con AngioTool y Erlangen

7.4.2.1 Análisis de la densidad vascular según la historia familiar

Cuando comparamos entre los grupos de estudio de **HF-** (n=21) e **HF+** (64) no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) en ninguno de los parámetros analizados en el área macular con ninguno de los programas empleados. Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en el análisis entre los grupos de estudio, **HF-** (n=31) y **HF+** (n=77) cuando analizamos los parámetros de densidad vascular en el área peripapilar.

7.4.2.2 Análisis de la densidad vascular según la historia familiar y caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$

Análisis macular

Cuando comparamos las mediciones vasculares del área macular entre los grupos de estudio con el software AngioTool, no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05).

El análisis mediante el programa EA-Tool mostró una densidad vascular macular significativamente mayor en el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ -** (25,22(21,75-27,50)) en comparación con el grupo **HF+ ApoE $\epsilon 4$ +** (20,65(18,26-25,63)) en el sector H12 del anillo C3 del plexo profundo (valor p 0,041) (Tabla 74).

Análisis peripapilar

El análisis con AngioTool mostró un porcentaje de superficie ocupada por vasos estadísticamente mayor en el grupo **HF+ ApoE ε4-** (47,52 (45,20-49,19)) en comparación con el grupo **HF+ ApoE ε4+** (45,83(44,29-47,22)) (valor p 0,031) (Tabla 74).

El análisis de la densidad vascular mediante EA-Tool por sectores identificó cambios significativos sólo en el anillo C3. Cuando comparamos entre **HF- ApoE ε4-** vs. **HF+ ApoE ε4+** encontramos una densidad vascular significativamente mayor en los sectores H3, H4, H10 y H11 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla x). La comparación entre **FH+ ApoE ε4-** vs. **FH+ ApoE ε4+** reveló una densidad vascular significativamente mayor en los sectores H4, y H12 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla 74).

Tabla 74. Análisis vascular de los datos con significación estadística por historia familiar de la enfermedad y caracterización alélica del ApoE ε4

Análisis macular										
Software	Plexo	Anillo	Sector	HF- ApoE ε4- (n=18)	HF+ ApoE ε4- (n= 42)	Hf+ ApoE ε4+ (n=20)	HF- ApoE ε4- vs. HF+ ApoE ε4+ P-value	HF+ ApoE ε4- vs. HF+ ApoE ε4+ P-value		
EA-Tool	PVP	C3	H12	23,3 (18,4- 27,4)	25,2 (21,7- 27,4)	20,6 (18,2- 25,6)	0,313	0,041*		
Análisis peripapilar										
Software	Plexo	Anillo	Sector	HF- ApoE ε4- (n=24)	HF+ ApoE ε4- (n= 44)	Hf+ ApoE ε4+ (n=30)	HF- ApoE ε4- vs. HF+ ApoE ε4+ P-value	HF+ ApoE ε4- vs. HF+ ApoE ε4+ P-value		
AngioTool	% de área ocupada por vasos			47,1 (43,7- 48,6)	47,5 (45,2- 49,1)	45,8 (44,2- 47,2)	0,423	0,031*		
			H3	17,2 (12,0- 22,6)	16,9 (13,1- 27,4)	23,2 (17,4- 30,5)	0,021*	0,073		
			H4	16,0 (11,3- 31,3)	19,6 (13,9- 31,1)	23,9 (20,3- 30,7)	0,030*	0,049*		
EA-Tool	EA-Tool	C3	H10	22,1 (17,5- 26,2)	24,1 (17,6- 27,9)	27,2 (20,7- 31,8)	0,037*	0,151		
			H11	23,9 (17,4- 27,6)	24,0 (15,1- 32,0)	27,9 (23,2- 37,9)	0,031*	0,057		
			H12	22,8 (14,1- 32,5)	17,8 (10,6- 29,6)	31,5 (16,4- 39,1)	0,28	0,023*		

Mediana (RI); *p < 0,05 Test de Mann Whitney (HF: Historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; vs: versus; EA-Tool: Earlagen; PVP: plexo vascular profundo; RI: rango intercuartil)

7.4.2.3 Análisis de la densidad vascular según la historia familiar, caracterización alélica del ApoE ε4 y factores de riesgo cardiovascular

Hipercolesterolemia

Ninguno de los análisis que se llevó a cabo con el programa AngioTool mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio ($p > 0,05$).

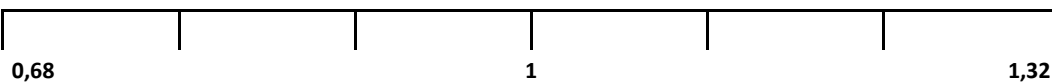
Análisis macular

Cuando se analizaron los grupos utilizando el software EA-Tool, se encontraron diferencias significativas que se muestran en la Tabla 75. La escala colorimétrica muestra la normalización de los medios entre los grupos, el rojo y el azul representan un aumento y una disminución de la densidad vascular, respectivamente.

Cuando comparamos **HF- ApoE ε4- HCOL-** con: i) **HF- ApoE ε4- HCOL+**, el segundo grupo mostró una mayor densidad vascular estadísticamente significativa en el plexo vascular profundo, en el C1H11 y en el C3H9 ($p < 0.05$, en ambos casos); ii) **HF+ ApoE ε4- HCOL+**, encontramos una mayor densidad vascular significativa en el plexo vascular profundo en el C1H1, C2H1, C3H1 y C3H2 ($p < 0,05$, en todos los casos); iii) **FH+ ApoE ε4+ HCOL-**, encontramos cambios de densidad vascular significativos en el plexo vascular superficial en el C2H11 y el C3H4 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla 75)

Tabla 75. p-valor de la densidad vascular macular de los sujetos por historia familiar de la enfermedad, caracterización alélica del ApoE ε4 y la presencia o ausencia de HCOL con el programa EA-Tool

		Análisis peripapilar					
		HF- ApoE ε4- HCOL-	HF- ApoE ε4- HCOL+	HF + ApoE ε4- HCOL-	HF + ApoE ε4- HCOL+	HF+ ApoE ε4+ HCOL-	HF+ ApoE ε4+ HCOL+
Análisis macular	HF- ApoE ε4- HCOL-						
	HF- ApoE ε4- HCOL+	PVP C1 H11 (0,039*) PVP C3 H9 (0,025*)				C2 H11 (0,034*) C3 H11 (0,048*)	C3 H3 (0,045*)
	HF + ApoE ε4- HCOL-					C2 H3 (0,049*) C3 H11 (0,041*) C3 H12 (0,028*)	C2 H12 (0,041*)
	HF + ApoE ε4- HCOL+	PVP C1 H1 (0,039*) PVP C2 H1 (0,012*) PVP C3 H1 (0,046*) PVP C3 H2 (0,023*)		PVS C3 H2 (0,023*) PVP C1 H1 (0,036*) PVP C2 H1 (0,009**) PVP C3 H2 (0,020*) PVP C3 H12 (0,043*)			
	HF+ ApoE ε4+ HCOL-	PVS C2 H11 (0,035*) PVS C3 H4 (0,022*)	PVP C1 H10 (0,022*) PVP C1 H11 (0,032*)	PVS C3 H4 (0,031*) PVS C1 H10 (0,043*)	PVP C1 H1 (0,033*) PVP C2 H1 (0,019*) PVP C3 H11 (0,033*) PVP C3 H12 (0,003**)		
	FH+ ApoE ε4+ HCL+		PVP C1 H4 (0,048*)	PVP C1 H9 (0,040*)	PVS C3 H1 (0,016*) PVS C3 H2 (0,025*) PVP C2 H1 (0,005**) PVP C3 H1 (0,011*) PVP C3 H2 (0,025*)		
	(p-valor); *p < 0.05, **p < 0.01, Test U de Mann Whitney (HF: historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; HCOL: hipercolesterolemia; PVP: Plexo vascular profundo; PVS: Plexo vascular superficial).						



Cuando comparamos **HF- ApoE ε4- HCOL+** con: i) **HF+ ApoE ε4+ HCOL-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular inferior estadísticamente significativa en el plexo vascular profundo, en el C1H10 y en el C1H11 ($p < 0.05$, en ambos casos); ii) **HF+ ApoE ε4+ HCOL+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular inferior estadísticamente significativa en el plexo vascular profundo, en el C1H4 ($p < 0,05$) (Tabla 75).

Cuando comparamos **HF+ ApoE ε4- HCOL-** con: i) **HF+ ApoE ε4- HCOL+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular más alta y estadísticamente significativa en el plexo vascular superficial, en el C3H2 y en el plexo vascular profundo, en el C1H1, C2H1, C3H2 y en el C3H12 ($p < 0.05$, en todos los casos); ii) **HF+ ApoE ε4+ HCOL-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular superficial estadísticamente significativa mayor en el C3H4 y una densidad superficial menor en el C1H10 ($p < 0,05$, en ambos casos); iii) **HF+ ApoE ε4+ HCOL+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular profunda estadísticamente significativa menor en el C1H9 ($p < 0,05$) (Tabla 75).

Cuando comparamos **HF+ ApoE ε4- HCOL+** con: i) **HF+ ApoE ε4+ HCL-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular profunda estadísticamente significativa menor en las zonas C1H1, C2H1, C3H11 y C3H12 ($p < 0.05$, en todos los casos); ii) **HF+ ApoE ε4+ HCOL+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular superficial inferior estadísticamente significativa en el C3H1, C3H2 y en la densidad vascular profunda en C2H1, C3H1 y C3H2 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla 75)

Análisis peripapilar

Cuando examinamos la densidad vascular alrededor del nervio óptico encontramos que cuando comparamos el grupo **HF+ ApoE ε4+ HCOL-** con: i) **HF- ApoE ε4- HCOL+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular inferior estadísticamente significativa en el C2H11 y C3H11 ($p < 0.05$, en ambos casos); ii) **HF+ ApoE ε4- HCL-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular inferior estadísticamente significativa en el C2H3, C3H11 y C3H12 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla 75).

Cuando comparamos el grupo **HF+ ApoE ε4+ HCOL+** con: i) **HF- ApoE ε4- HCL+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular inferior estadísticamente significativa en el C3H3 ($p < 0,05$); ii) **HF+ ApoE ε4- HCL-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular superior estadísticamente significativa en el C2H12 ($p < 0,05$) (Tabla 75).

Hipertensión arterial

Análisis macular

Cuando estudiamos la densidad vascular del área macular utilizando el programa AngioTool, se encontraron diferencias estadísticamente significativas (descensos) en el número total de puntos terminales del plexo superficial entre **HF+ ApoE ε4- HTA-** y **HF+ ApoE ε4+ HTA+** ($p < 0,05$) (Tabla 76).

Cuando utilizamos EA-Tool para comparar la densidad vascular en el grupo **HF- ApoE ε4- HTA-** con: i) **HF+ ApoE ε4- HTA-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular superficial estadísticamente significativa mayor en el C1H10 ($p < 0,05$); ii) **HF+ ApoE ε4- HTA+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular profunda estadísticamente significativa menor en el C1H8 ($p < 0,05$); iii) **HF+ ApoE ε4+ HTA+**, el segundo grupo mostró una densidad vascular superficial estadísticamente significativa mayor en el C1H5 ($p < 0,05$) (Tabla 76).

Cuando utilizamos el EA-Tool para comparar la densidad vascular en el grupo **HF+ ApoE ε4- HTA-** con: i) **HF+ ApoE ε4+ HTA-**, el segundo grupo mostró una densidad vascular superficial inferior estadísticamente significativa en el C1H11 y en el plexo vascular profundo C1H9, C1H10, C1H11 y C1H12 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla 76).

Por último, la densidad vascular macular superficial en el grupo **HF+ ApoE ε4+ HTA+** fue significativamente mayor en comparación con **HF+ ApoE ε4+ HTA-** en C3H11 ($p < 0,05$) (Tabla 76).

Tabla 76. Análisis de la densidad vascular por historia familiar, la caracterización alélica de la ApoE y la presencia o ausencia de HTA con los programas AngioTool y EA-Tool

		Análisis peripapilar				
		HF- ApoE ε4- HTA-	HF+ ApoE ε4- HTA-	HF+ ApoE ε4- HTA+	HF+ ApoE ε4+ HTA-	HF+ ApoE ε4+ HTA+
Análisis macular	HF- ApoE ε4- HTA-					C1 H11 (0,015*)
	HF+ ApoE ε4- HTA-	PVS C1 H10 (0,025*)			C3 H4 (0,035*)	C1 H11 (0,010*)
					C3 H12 (0,013*)	C2 H10 (0,015*)
	HF+ ApoE ε4- HTA+	PVP C1 H8 (0,044*)			% de área ocupada por vasos (p-value 0,026*)	
					Longitud total media de los vasos (0,021*)	
	HF+ ApoE ε4+ HTA-				C1 H11 (0,024*)	C1 H10 (0,021*)
% de área ocupada por vasos (p-value 0,011*)						
PVP C1 H9 (0,012*)					C1 H11 (0,007**)	
PVP C1 H10 (0,026*)					C2 H10 (0,046*)	
HF+ ApoE ε4+ HTA+	PVS C1 H5 (0,015*)	PVS número total de puntos terminales (0,043*)			PVS C3 H11 (0,048*)	

0
1
2

(p-valor); *p < 0.05, **p < 0.01, Test U de Mann Whitney (HF: historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; HTA: hipertensión arterial; PVP: Plexo vascular profundo; PVS: Plexo vascular superficial).

0,68
1
1,32

Análisis peripapilar

El análisis peripapilar con AngioTool reveló diferencias significativas entre el grupo **HF+ ApoE ε4+ HTA-** y i) **HF+ ApoE ε4- HTA-** en el % de área ocupada por los vasos y en la longitud total media de los mismos ($p < 0,05$, en ambos casos); ii) **HF+ ApoE ε4- HTA+** en el % de área ocupada por los vasos ($p < 0,05$) (Tabla 76).

El análisis peripapilar del EA-Tool comparando el grupo **HF+ ApoE ε4+ HTA-** con: i) **HF+ ApoE ε4- HTA-**, mostró en el segundo grupo una densidad vascular menos significativa en el C3H4 y C3H12 ($p < 0,05$, en ambos casos); ii) **HF+ ApoE ε4- HTA+**, mostró en el segundo grupo una mayor densidad vascular significativa en el C1H11 ($p < 0,05$) (Tabla 76).

El análisis peripapilar en el grupo **HF+ ApoE ε4+ HTA+** comparado con: i) **HF- ApoE ε4- HTA-**, mostró en el segundo grupo una menor densidad vascular significativa en el C1H11 ($p < 0,05$); ii) **HF+ ApoE ε4- HTA-**, mostraron en el segundo grupo una densidad vascular menos significativa en el C1H11 y C2H10 ($p < 0,05$, en ambos casos); iii) **HF+ ApoE ε4+ HTA-**, mostraron en el segundo grupo una densidad vascular menos significativa en el C1H10, C1H11 y C2H10 ($p < 0,05$, en todos los casos) (Tabla 76).

7.8 Estudio oftalmológico longitudinal

7.8.1 Análisis longitudinal de las pruebas estructurales de la retina

Analizamos tras 27 meses mediante OCT tanto el grosor del área macular por sectores y capas como la CFNRp en 15 participantes **HF- ApoE ε4-** y 21 sujetos con **HF+ ApoE ε4+**

7.8.1.1 Estudio longitudinal del grosor macular total

En el grupo **HF- ApoE ε4-**, cuando analizamos entre la primera y la segunda visita, observamos que existe incremento de grosor estadísticamente significativamente en el sector superior del anillo interno (344,00(334,50-354,00), v1 vs 344,00(328,25-355,75) ($p < 0,05$) (Tabla 77 y Gráfica 48).

El grupo **HF+ ApoE ε4+** muestra diferencias estadísticamente significativas entre la primera y la segunda visita en los sectores superior del anillo interno (344,00(339,00-352,00), v1 vs 342(333,5-347,25),v2) ($p < 0,05$) y del anillo externo (298,00(294,00-302,00), v1 vs 295,00(290,00-308,00), v2)($p < 0,05$), en sector nasal del anillo interno (345,00(340,00-355,00), v1 vs 342,00(334,50-352,50)v2)($p < 0,05$) y en el sector inferior del anillo externo (289,00(282,00-297,00), v1 vs 284,00(277,00-291,50)v2) ($p < 0,05$). También existían cambios en el sector temporal tanto del anillo interno (329,00(323,00-337,00), v1 vs 284,00(277,00-291,50) v2)

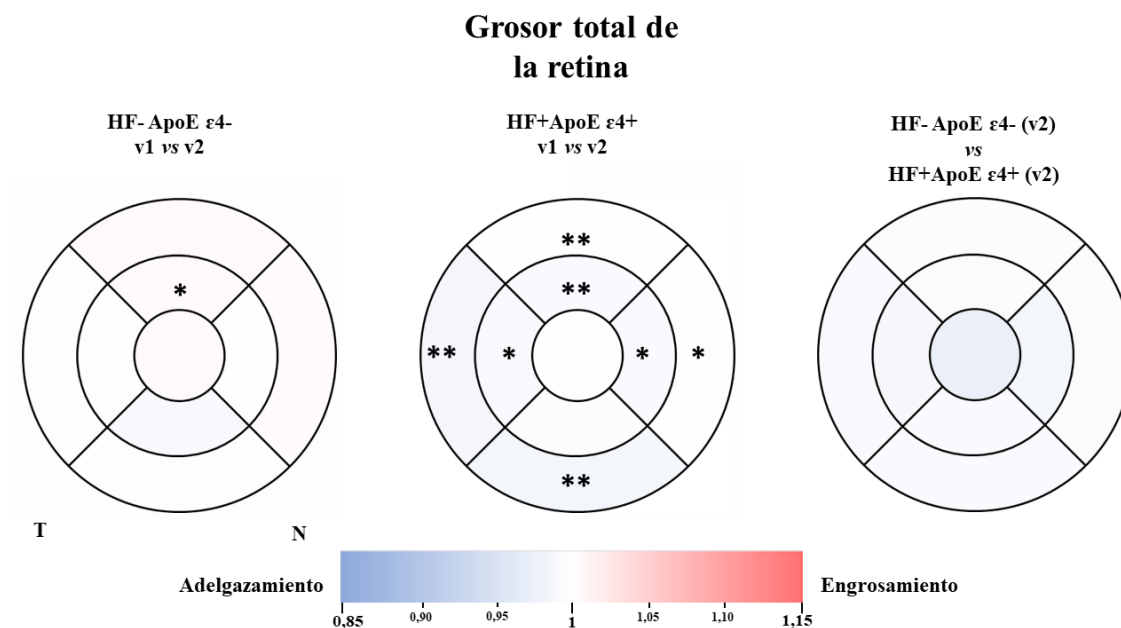
($p < 0,01$) y del anillo externo (282,00(277,00-290,00), v2 vs 280,00(267,00-285,50)) ($p < 0,01$) y en el volumen total (8,66(8,48-8,83), v1 vs 8,52(8,31-8,77)v2) ($p < 0,01$) (Tabla 77 y Gráfica 48).

Cuando comparamos los datos de la segunda visita entre los grupos de estudio **HF+ ApoE $\epsilon 4+$** y **HF- ApoE $\epsilon 4-$** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabla 77 y Gráfica 48).

Tabla 77. Análisis longitudinal del espesor total de la retina según historia familiar y caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$

	HF- ApoE $\epsilon 4-$ (v1) (n=29)	HF- ApoE $\epsilon 4-$ (v2) (n=15)	p- valor HF- ApoE $\epsilon 4-$ v1 vs v2	HF+ ApoE $\epsilon 4+$ (v1) (n=35)	HF+ ApoE $\epsilon 4+$ (v2) (n=21)	p-valor HF+ ApoE $\epsilon 4+$ v1 vs v2	p- valor HF- ApoE $\epsilon 4-$ v2 vs HF+ ApoE $\epsilon 4+$
Fóvea	281,00(267,00-296,00)	281,00(271,50-297,00)	0,569	279,50(264,00-296,25)	278,00(264,50-286,00)	0,121	0,195
Anillo macular interno	Superior	344,00(334,50-354,00)	0,023*	344,00(339,00-352,00)	342,00(333,00-347,50)	0,009**	0,827
	Nasal	347,00(342,00-358,00)	0,063	345,00(340,00-355,00)	342,00(334,50-352,50)	0,013*	0,225
	Inferior	343,00(332,50-351,00)	0,238	339,00(333,00-349,00)	337,00(330,00-348,00)	0,134	0,500
	Temporal	330,00(320,00-337,00)	331,00(315,00-344,00)	0,789	329,00(323,00-337,00)	326,00(317,00-331,00)	0,014*
Anillo macular externo	Superior	295,00(286,50-310,50)	0,608	298,00(294,00-302,00)	295,00(290,00-308,00)	0,003**	0,800
	Nasal	318,00(304,50-329,50)	0,161	316,00(307,00-327,00)	314,00(307,00-326,00)	0,036*	0,613
	Inferior	288,00(280,50-301,00)	0,059	289,00(282,00-297,00)	284,00(277,00-291,50)	0,002**	0,448
	Temporal	281,00(271,00-296,50)	276,50(269,50-294,75)	0,637	282,00(277,00-290,00)	280,00(267,00-285,50)	0,004**
Volumen macular	8,61(8,44-8,97)	8,69(8,28-8,96)	0,100	8,66(8,48-8,83)	8,52(8,305-8,77)	0,002**	0,409

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)



Gráfica 48. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la retina total mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE ε4+ y HF- ApoE ε4- entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.1.2 Estudio longitudinal del grosor de la CFNR macular

Cuando comparamos entre las visitas de los sujetos del grupo **HF- ApoE ε4-** encontramos un incremento del grosor estadísticamente significativa en el sector temporal del anillo macular externo (19,00(18,00-21,00)), v1 vs 19,50(18,00-20,75), v2) ($p < 0,05$) (Tabla 78 y Gráfica 49).

En el grupo de **HF+ ApoE ε4+** también existían cambios estadísticamente significativos entre la primera y segunda visita, mostrándose un adelgazamiento estadísticamente significativo en el anillo macular externo en el sector nasal (51,00(43,00-54,00) v1, vs 47(45,00-47,00) v2) ($p < 0,051$) y en el sector inferior (41,0(37,00-44,00), v1 vs 38,00(36,50-38,00), v2) ($p < 0,05$). También encontramos una reducción estadísticamente significativa del volumen global de esta capa (0,94(0,86-1,02), v1 vs 0,89(0,86-0,89)v2) ($p < 0,05$) (Tabla 78 y Gráfica 49).

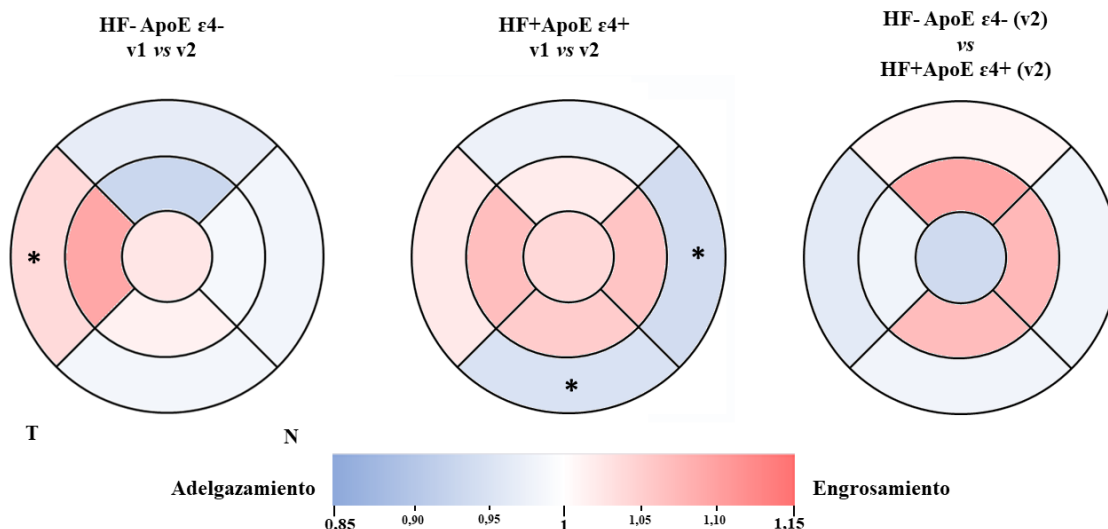
Al comparar los valores de la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE ε4-** y **HF+ ApoE ε4+** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabla 78 y Gráfica 49).

Tabla 78. Análisis longitudinal del espesor total de la CFNR macular según historia familiar y caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$

	HF- ApoE $\epsilon 4-$ (v1) (n=29)	HF- ApoE $\epsilon 4-$ (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE $\epsilon 4-$ v1 vs v2	HF+ ApoE $\epsilon 4+$ (v1) (n=35)	HF+ ApoE $\epsilon 4+$ (v2) (n=21)	p-valor HF+ ApoE $\epsilon 4+$ v1 vs v2	p- valor HF- ApoE $\epsilon 4-$ v2 vs HF+ ApoE $\epsilon 4+$ (v2)
Fóvea	13,00(11,50-14,00)	13,00(12,00-14,25)	0,325	12,00(10,00-13,00)	12,00(11,00-12,00)	0,537	0,136
Superior	25,00(23,00-27,00)	23,00(21,75-25,00)	0,389	25,00(23,00-26,00)	24,00(22,00-24,00)	0,237	0,317
Anillo macular interno	Nasal 21,00(19,50-22,00)	20,00(19,75-22)	0,564	21,00(20,00-22,00)	21,00(19,00-21,00)	0,728	0,986
Inferior	25,00(22,00-26,00)	25,00(23,00-27,00)	0,156	26,00(24,00-27,00)	25,00(24,00-25,00)	1,000	0,518
Temporal	17,00(17,00-18,00)	18,00(16,00-20,25)	0,064	17,00(17,00-18,00)	17,00(16,00-17,00)	0,378	0,249
Superior	37,00(35,00-41,00)	36,5(33,75-41,00)	0,201	37,00(35,00-41,00)	36(33,5-36)	0,087	0,946
Anillo macular externo	Nasal 47,00(44,50-52,50)	47,50(42,25-54,50)	0,829	51,00(43,00-54,00)	47,00(45,00-47,00)	0,011*	0,698
Inferior	40,00(36,00-45,50)	40,50(34,75-45,25)	0,441	41,0(37,00-44,00)	38,00(36,50-38,00)	0,016*	0,566
Temporal	19,00(18,00-21,00)	19,50(18,00-20,75)	0,024*	19,00(18,00-20,00)	18,00(18,00-18,00)	0,592	0,264
Volumen macular	0,91(0,87-0,98)	0,92(0,835-0,965)	0,325	0,94(0,86-1,02)	0,89(0,86-0,89)	0,023*	0,999

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)

CFNRm



Gráfica 49. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de CFNRm mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE $\epsilon 4+$ y HF- ApoE $\epsilon 4-$ entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE $\epsilon 4+$ y el grupo HF- ApoE $\epsilon 4-$ en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.1.3 Estudio longitudinal de la CCG

Al comparar entre la primera y segunda visita del grupo **HF- ApoE ε4-** observamos una reducción del grosor estadísticamente significativa en el anillo macular interno en los sectores superior (54,00(50,00-56,00) v1 vs 54(49,25-54,25) v2) ($p < 0,05$) y en el sector nasal (53,00(49,50-56,00), v1 vs 53(50,50-53,00), v2) ($p < 0,05$). También encontramos un incremento del volumen global de esta capa estadísticamente significativo (1,10(1,03-1,17), v1 vs 1,09(1,00-1,15),v2) ($p < 0,05$) (Tabla 79 y Gráfica 50).

Cuando comparamos entre la primera y segunda visita en el grupo de **HF+ ApoE ε4+** observamos una reducción del grosor estadísticamente significativa en el sector nasal en el anillo macular interno (52,00(47,00-54,00), v1 vs 51,00(49,00-53,500), v2) ($p < 0,01$) y en el anillo macular externo en los sectores superior (34,00(31,00-37,00), v1 vs 34,00(33,00-36,50), v2), inferior (33,00(30,00-35,00), v1 vs 33,00(29,50-34,00), v2) y temporal (34,00(32,00-37,00), v1 vs 34(31-37,5),v2) ($p < 0,05$) en todos los casos. También encontramos un incremento del volumen global de esta capa estadísticamente significativo (1,08(1,02-1,13), v1 vs 1,07(1,015-1,12),v2) ($p < 0,01$) (Tabla 79 y Gráfica 50).

Al comparar los valores de la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabla 79 y Gráfica 50).

7.8.1.4 Estudio longitudinal de la CPI

Cuando analizamos entre la primera y segunda visita entre el grupo **HF- ApoE ε4-** encontramos una reducción del estadísticamente significativa en el sector inferior del anillo macular externo (29,00(27,00-30,00), v1 vs 27,00(24,75-29,00) ($p < 0,01$). También encontramos una reducción del volumen estadísticamente significativa (0,93(0,87-0,98), v1 vs 0,93(0,83-0,96) ($p < 0,05$) (Tabla 80 y Gráfica 51).

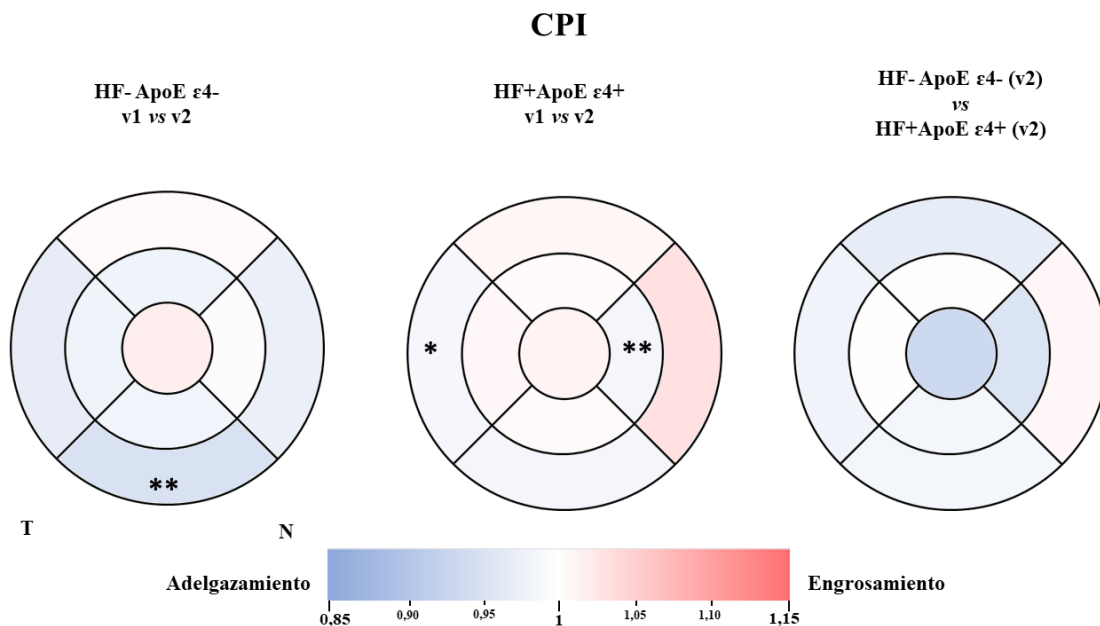
Al comparar entre la primera y segunda visita en el grupo de **HF+ ApoE ε4+** encontramos una reducción de grosor estadísticamente significativa en el sector nasal del anillo macular interno (42,00(40,00-44,00), v1 vs 42,00(39,50-43,50), v2) ($p < 0,01$) y en el sector temporal del anillo macular externo (32,00(30,00-34,00), v1 vs 32(29-33,5), v2) ($p < 0,05$). Encontramos también una reducción del volumen general de esta capa estadísticamente significativa (0,90(0,85-0,94), v1 vs 0,9(0,83-0,93) v2) ($p < 0,05$) (Tabla 80 y Gráfica 51).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar los valores de la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE ε4- vs HF+ ApoE ε4+** (Tabla 80 y Gráfica 51).

Tabla 80. Análisis longitudinal del espesor de la CPI según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (v1) (n=29)	HF- ApoE ε4- (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE ε4- v1 vs v2	HF+ ApoE ε4+ (v1) (n=35)	HF+ ApoE ε4+ (v2) (n=21)	HF+ ApoE ε4+ v1 vs v2	p- valor HF- ApoE ε4- v2 vs HF+ ApoE ε4+ (v2)	
Fóvea	20,00(19,00- 24,00)	21(20- 23,25)	0,723	19,00(18,00- 22,00)	20(18-22,5)	0,360	0,165	
Anillo macular interior	Superior	43,00(40,50- 44,00)	41(38,75- 44)	0,273	41,00(40,00- 43,00)	41(39-43)	0,905	0,785
	Nasal	44,00(42,00- 45,00)	44,5(39,75- 45)	0,852	42,00(40,00- 44,00)	42(39,5-43,5)	0,008**	0,053
	Inferior	42,00(40,50- 44,00)	41,5(39,5- 44,25)	0,070	41,00(39,00- 42,00)	41(39-42)	0,271	0,425
	Temporal	42,00(39,00- 43,50)	42(38,75- 42)	0,357	40,00(39,00- 43,00)	41(39-43,5)	0,787	0,812
Anillo macular exterior	Superior	29,00(27,00- 31,00)	29,5(26,75- 31)	0,745	28,00(26,00- 30,00)	28(26,5-30)	0,070	0,317
	Nasal	32,00(28,00- 33,00)	31(27-33)	0,250	30,00(27,00- 31,00)	30(28,5-32)	0,999	0,773
	Inferior	29,00(27,00- 30,00)	27(24,75- 29)	0,004**	27,00(25,00- 29,00)	27(24-28)	0,064	0,444
	Temporal	33,00(30,50- 36,00)	32,5(30- 34,25)	0,429	32,00(30,00- 34,00)	32(29-33,5)	0,039*	0,487
Volumen CPI	0,93(0,87- 0,98)	0,93(0,83- 0,96)	0,031*	0,90(0,85- 0,94)	0,9(0,83-0,93)	0,013*	0,328	

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)



Gráfica 51. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la CPI mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE ε4+ y HF- ApoE ε4- entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.1.5 Estudio longitudinal de la CNI

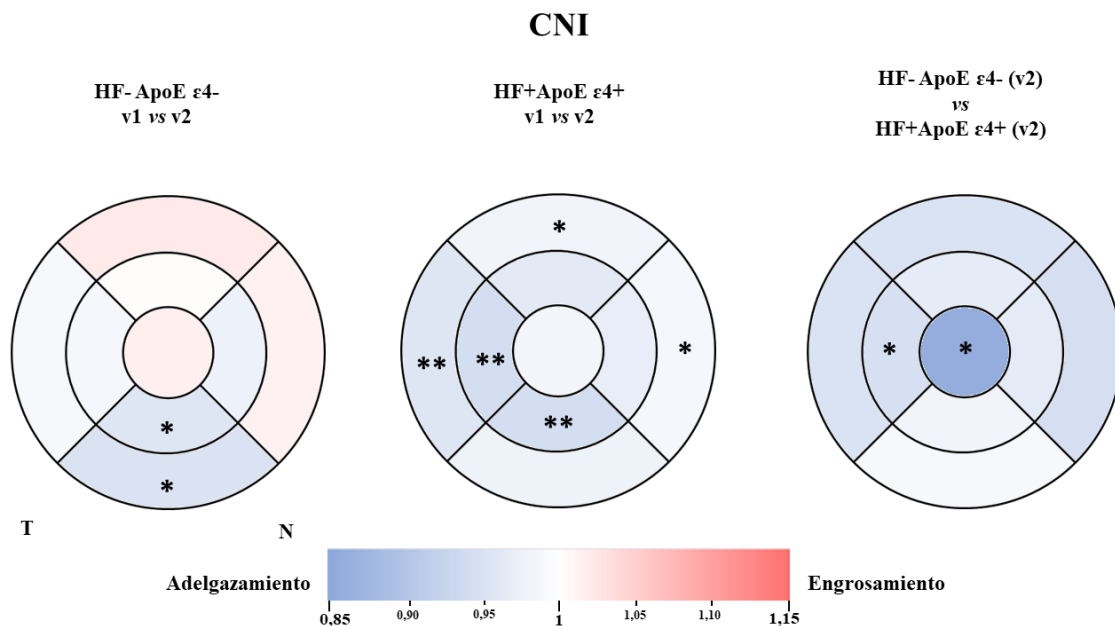
Al comparar la primera y segunda visita del grupo **HF- ApoE ε4-** encontramos una reducción del grosor estadísticamente significativa en los sectores inferiores, tanto del anillo macular interno (43,00(39,50-45,00), v1 vs 40,50(38,00-43,00) v2) como del anillo macular externo (32,00(30,00-34,00), v1 vs 29,50(28,75-34,00)(p<0,05 en ambos casos) (Tabla 81 y Gráfica 52).

Al analizar los grosores entre la primera y segunda visita del grupo **HF+ ApoE ε4+** encontramos reducciones de grosor estadísticamente significativas en el sector inferior del anillo macular interno (41,50(40,00-45,00), v1 vs 39,00(38,00-42,00), v2) (p<0,01), en el sector temporal del anillo macular interno (38,00(36,00-40,25), v1 vs 36,00 (34,50-38,00) y del anillo macular externo (32,00(31,00-34,00), v1 vs 32,00 (29,00-32,50), v2) (p<0,01 en ambos casos). También encontramos una reducción del grosor estadísticamente significativa en el anillo macular externo en los sectores nasal (34,00(32,00-36,00), v1 vs 33,00(31,50-34,50), v2) (p<0,05) y superior (31,00(29,50-33,00) v1, vs 31(29,5-32),v2) (p<0,05). También encontramos una reducción significativa del volumen global de esta capa (0,96(0,9-0,98), v1 vs 0,93(0,87-0,96),v2) (p<0,05) (Tabla 81 y Gráfica 52).

Al comparar en la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE ε4-** y el grupo **HF+ ApoE ε4+** encontramos una reducción del grosor significativamente estadística en el sector foveal (22,00(18,75-23,00)), **HF- ApoE ε4-** vs 19,00(16,00-21,00), **HF+ ApoE ε4+**) y en el sector temporal del anillo macular interno (38,00(36,75-39,25), **HF- ApoE ε4-** vs 36(34,5-38), **HF+ ApoE ε4+**). (p<0,05 en ambos casos) (Tabla 81 y Gráfica 52).

Tabla 81. Análisis longitudinal del espesor de la CNI según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4								
		HF- ApoE ε4- (v1) (n=29)	HF- ApoE ε4- (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE ε4- v1 vs v2	HF+ ApoE ε4+ (v1) (n=35)	HF+ ApoE ε4+ (v2) (n=21)	HF+ ApoE ε4+ v1 vs v2	p- valor HF- ApoE ε4- v2 vs HF+ ApoE ε4+ (v2)
Fóvea		20,00(18,50-25,00)	22(18,75-23)	0,438	18,00(16,00-21,25)	19(16-21)	0,663	0,047*
Anillo macular interior	Superior	40,00(39,00-42,50)	41(38-44)	0,758	41,00(38,00-43,00)	40(36-42,5)	0,063	0,361
	Nasal	43,00(39,50-46,00)	42,5(39,75-44)	0,323	41,00(39,00-43,00)	40(37,5-43,5)	0,137	0,237
	Inferior	43,00(39,50-45,00)	40,5(38-43)	0,032*	41,50(40,00-45,00)	39(38-42)	0,006**	0,396
	Temporal	38,00(36,00-41,00)	38(36,75-39,25)	0,794	38,00(36,00-40,25)	36(34,5-38)	0,001**	0,045*
Anillo macular exterior	Superior	32,00(30,00-33,00)	32,5(29,5-35,25)	0,176	31,00(29,50-33,00)	31(29,5-32)	0,020*	0,122
	Nasal	35,00(33,00-36,50)	35,5(32,75-37,25)	0,330	34,00(32,00-36,00)	33(31,5-34,5)	0,048*	0,051
	Inferior	32,00(30,00-34,00)	29,5(28,75-34)	0,012*	31,00(29,00-32,00)	30(28,5-31)	0,709	0,824
	Temporal	33,00(31,50-35,00)	32,5(30,75-35,5)	0,917	32,00(31,00-34,00)	32(29-32,5)	0,006**	0,164
Volumen CPI		0,98(0,93-1,02)	0,955(0,9075-1,0175)	0,418	0,96(0,9-0,98)	0,93(0,87-0,96)	0,010*	0,132

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney
(HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)



Gráfica 52. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la CNI mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE ε4+ y HF- ApoE ε4- entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en la segunda visita. En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.1.6 Estudio longitudinal de la CPE

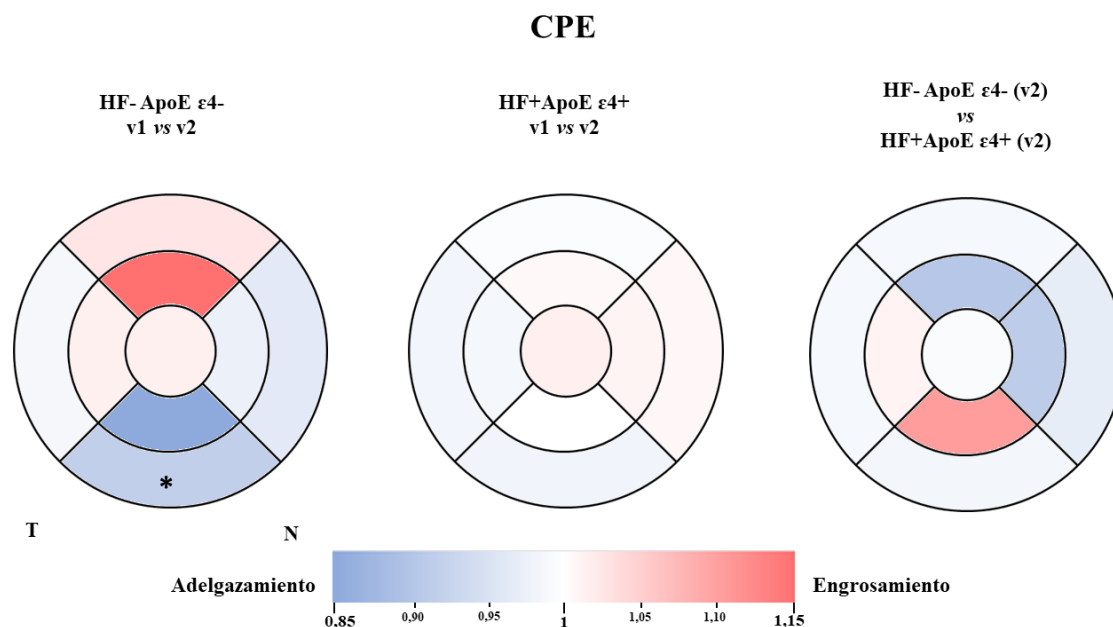
Al analizar las diferencias de grosor entre la primera y segunda visita del grupo **HF- ApoE ε4-** encontramos una disminución de grosor estadísticamente significativa en el sector inferior del anillo macular externo (30,00(27,00-32,50), v1 vs 27(25,75-28,5), v2) ($p < 0,05$) (Tabla 82 y Gráfica 53).

No encontramos diferencias entre la primera y segunda visita en el grupo **HF+ ApoE ε4+** y tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos en la segunda visita los grosores entre el grupo **HF- ApoE ε4** y el grupo **HF+ ApoE ε4+** ($p > 0,05$) (Tabla 82 y Gráfica 53).

Tabla 82. Análisis longitudinal del espesor de la CPE según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (v1) (n=29)	HF- ApoE ε4- (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE ε4- v1 vs v2	HF+ ApoE ε4+ (v1) (n=35)	HF+ ApoE ε4+ (v2) (n=21)	HF+ ApoE ε4+ v1 vs v2	p- valor HF- ApoE ε4- v2 vs HF+ ApoE ε4+ (v2)
Fóvea	26,00(24,00-29,00)	26,5(22,75-33)	0,404456896	25,00(23,00-30,00)	26(23,5-30)	0,369	0,933
Superior	31,00(28,50-38,00)	34(31-46)	0,141	31,00(28,00-39,00)	31(28-39)	0,878	0,068
Anillo macular interior	Nasal 32,00(29,50-49,00)	33,5(29,75-42)	0,916	33,00(30,00-39,00)	33(29-38,5)	0,527	0,625
Inferior	34,00(31,00-51,50)	32,5(28,75-34,5)	0,122	33,00(29,00-46,00)	32(30-42,5)	0,861	0,489
Temporal	30,00(28,50-32,50)	31(29,75-33)	0,549	32,00(29,00-34,00)	30(28-34)	0,647	0,509
Superior	26,00(24,50-29,00)	27(25,75-29,25)	0,429	27,00(25,00-29,00)	26(24,5-30)	0,754	0,551
Anillo macular exterior	Nasal 31,00(27,50-36,00)	29,5(27,75-33,25)	0,179	30,00(27,00-31,00)	29(28,5-31,5)	0,489	0,932
Inferior	30,00(27,00-32,50)	27(25,75-28,5)	0,011*	27,00(26,00-29,00)	26(25-29)	0,094	0,539
Temporal	28,00(26,00-30,00)	28(26-29)	0,886	27,00(26,00-29,00)	27(26-28,5)	0,319	0,443
Volumen CPI	1,63(1,55-1,69)	0,84(0,805-0,8625)	0,694	1,72(1,63-1,83)	0,81(0,785-0,855)	0,905	0,353

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)



Gráfica 53. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la CPE mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE ε4+ y HF- ApoE ε4- entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

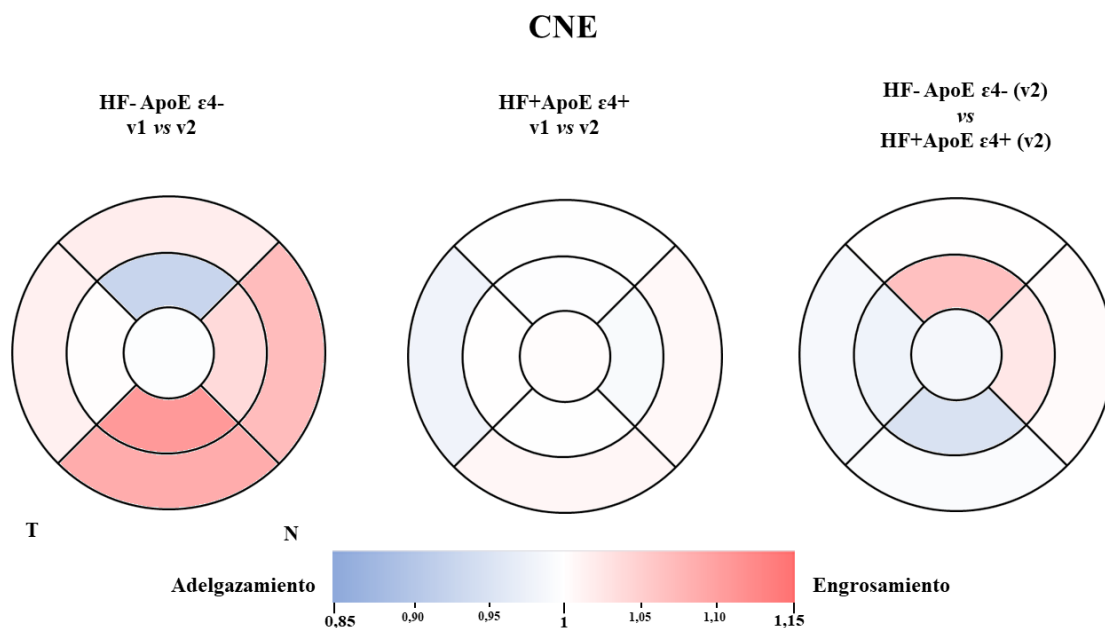
7.8.1.6 Estudio longitudinal de la CNE

No encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las primera visita y la segunda en el grupo **HF- ApoE ε4-** ni en el grupo **HF+ ApoE ε4+** ($p>0,05$). Tampoco se encuentran diferencias estadísticamente significativas en la segunda visita entre los grupos de estudio ($p>0,05$) (Tabla 83 y Gráfica 54).

Tabla 83. Análisis longitudinal del espesor de la CNE según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (v1) (n=29)	HF- ApoE ε4- (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE ε4- v1 vs v2	HF+ ApoE ε4+ (v1) (n=35)	HF+ ApoE ε4+ (v2) (n=21)	HF+ ApoE ε4+ v1 vs v2	p- valor HF- ApoE ε4- v2 vs HF+ ApoE ε4+ (v2)
Fóvea	96,00(90,50-102,00)	96(86-103,25)	0,825	97,00(91,00-102,00)	96(91-101,5)	0,498	0,879
Anillo macular interior	Superior	69,00(65,50-75,50)	0,195	71,00(63,00-76,00)	74(56,5-80)	0,711	0,399
	Nasal	72,00(56,50-78,50)	0,660	76,00(67,00-80,00)	75(64-82,5)	0,360	0,637
	Inferior	65,00(45,50-71,00)	0,345	67,00(57,00-73,00)	71(59,5-74,5)	0,406	0,698
	Temporal	73,00(69,00-78,50)	73,5(66,25-82,25)	0,874	75,00(69,00-77,00)	76(70,5-78,5)	0,622
Anillo macular exterior	Superior	58,00(54,00-63,50)	0,134	61,00(55,00-63,00)	60(55-66,5)	0,603	0,625
	Nasal	52,00(48,00-57,50)	0,324	57,00(50,00-62,00)	58(51-63)	0,965	0,761
	Inferior	49,00(43,00-53,00)	0,195	51,00(48,00-57,00)	52(50,5-58)	0,207	0,710
	Temporal	56,00(51,00-58,00)	57(51,75-62)	0,858	57,00(54,00-62,00)	58(52-62,5)	0,886
Volumen CPI	1,63(1,55-1,69)	1,665(1,565-1,8375)	0,833	1,72(1,63-1,83)	1,72(1,6-1,885)	0,375	0,590

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)



Gráfica 54. . Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la CNE mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE ε4+ y HF- ApoE ε4- entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.1.7 Estudio longitudinal del EPR

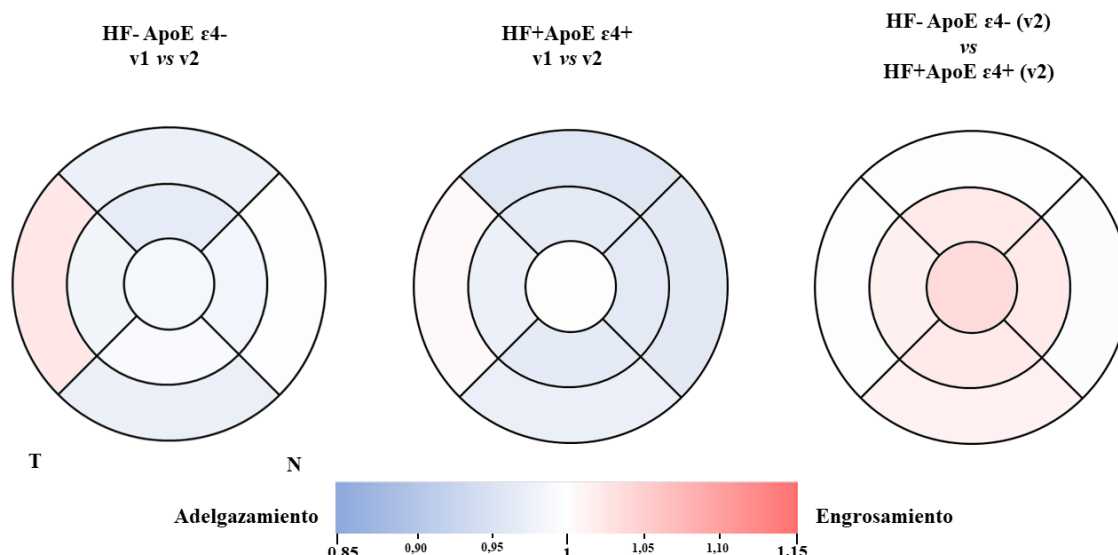
No encontramos diferencias significativas cuando comparamos entre la primera y segunda visita de los grupos **HF- ApoE ε4-** y **HF+ ApoE ε4+** ($p > 0,05$). Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos en la segunda visitas los valores entre ambos grupos de estudio ($p > 0,05$) (Tabla 84 y Gráfica 55)

Tabla 84. Análisis longitudinal del espesor de EPR según historia familiar y caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - (v1) (n=29)	HF- ApoE $\epsilon 4$ - (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE $\epsilon 4$ - v1 vs v2	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + (v1) (n=35)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + (v2) (n=21)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + v1 vs v2	p- valor HF- ApoE $\epsilon 4$ - v2 vs HF+ ApoE $\epsilon 4$ + (v2)+	
Fóvea	16,00(15,00-17,00)	15,5(14-17,25)	0,680	16,00(15,00-17),00	16(15-17,5)	0,542	0,295	
Anillo macular interior	Superior	15,00(14,00-16,00)	0,107	15,00(14,00-16,00)	15(14-16,5)	0,284	0,515	
	Nasal	15,00(14,00-16,00)	0,763	15,00(14,00-16,00)	15(14-16,5)	0,285	0,414	
	Inferior	14,00(14,00-15,00)	0,470	15,00(13,00-15,50)	15(13-15,5)	0,357	0,593	
	Temporal	14,00(14,00-15,00)	14(13-15)	0,366	14,00(13,00-15,00)	14(13-15,5)	0,376	0,890
Anillo macular exterior	Superior	13,00(13,00-14,00)	0,212	14,00(12,00-14,00)	13(12-14)	0,058	0,944	
	Nasal	13,00(12,25-14,00)	0,739	13,00(12,00-14,00)	13(12-14)	0,218	0,917	
	Inferior	13,00(12,00-13,00)	12(11,75-13)	0,157	13,00(12,00-13,00)	12(11-13)	0,405	0,741
	Temporal	13,00(12,00-13,00)	13(12,75-13,25)	0,102	13,00(12,00-13,00)	13(12-14)	0,449	0,588
VolumenEPR	0,38(0,37-0,39)	0,38(0,3675-0,39)	0,757	0,38(0,35-0,40)		0,227	0,509	

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)

EPR



Gráfica 55. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la CNE mediante sectores circulares concéntricos. Estudio en los grupos HF+ ApoE $\epsilon 4$ + y HF- ApoE $\epsilon 4$ - entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE $\epsilon 4$ + y el grupo HF- ApoE $\epsilon 4$ - en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.1.8 Estudio longitudinal de la CFNR peripapilar mediante OCT

Cuando analizamos longitudinalmente el grosor de la CFNR encontramos que en el grupo **HF- ApoE ε4-** existe una reducción estadísticamente significativa en el sector nasal inferior entre la primera y la segunda visita (111,00(102,50-132,00), v1 vs 112,00(99,75-125,25) v2) ($p < 0,05$) (Tabla 85 y Gráfica 56).

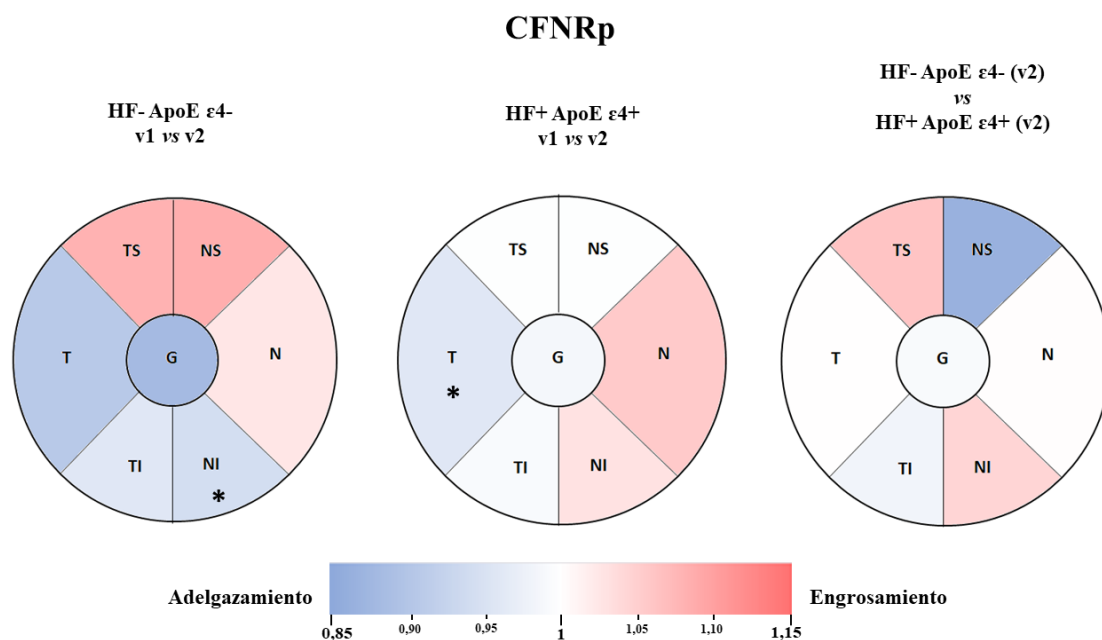
En el grupo de **HF+ ApoE ε4+** también encontramos diferencias estadísticamente significativas entre las dos visitas. Así este grupo muestra una reducción de grosor estadísticamente significativa en el sector temporal (66,00(64,00-74,00), v1 vs 66(60,00-71,50 v2) ($p < 0,05$) (Tabla 85 y Gráfica 56).

Cuando comparamos en esta segunda visita el grosor peripapilar entre el grupo de estudio **HF- ApoE ε4-** y **HF+ ApoE ε4+** no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabla 85 y Gráfica 56).

Tabla 85. Análisis longitudinal del espesor de la CFNR peripapilar en sectores según historia familiar y caracterización alélica del ApoE ε4

	HF- ApoE ε4- (v1) (n=29)	HF- ApoE ε4- (v2) (n=15)	p-valor HF- ApoE ε4- v1 vs v2	HF+ ApoE ε4+(v1) (n=35)	HF+ ApoE ε4+ (v2) (n=21)	p-valor HF+ ApoE ε4+ v1 vs v2	p-valor HF- ApoE ε4- v2 vs HF+ ApoE ε4+
Sector peripapilar							
Temporal	68,00(59,00-83,00)	67(58-70,5)	0,185	66,00(64,00-74,00)	66(60,00-71,50)	0,014*	0,879
Temporal-Superior	137,00(118,00-144,50)	126(106,5-141,75)	0,209	134,00(116-150)	134(123,5-144)	0,080	0,189
Temporal-Inferior	147,00(125,50-166,00)	145(134-153,5)	1,000	141,00(132,00-151,00)	142(127,5-155,5)	0,400	0,567
Nasal	73,00(67,50-86,00)	76,5(72,25-90)	0,937	75,00(64,00-92,00)	79(70,5-95,5)	0,349	0,840
Nasal-Superior	103,00(93,00-132,50)	115(91,75-155,75)	0,065	107,00(90,00-120,00)	104(89,5-122)	0,159	0,238
Nasal-Inferior	111,00(102,50-132,00)	112(99,75-125,25)	0,036*	111,00(99,00-134,00)	119(91-148)	0,888	0,661
Espesor promedio peripapilar	98,00(90,50-106,00)	97,5(90,75-99,25)	0,531	98,00(90,00-107,00)	97(87,5-107)	0,106	0,840

Mediana (RI), *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon y Test de Test de Mann-Whitney (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; v1: visita 1 : v2: visita 2)



Gráfica 56. Representación colorimétrica de los cambios de grosor longitudinal de la CFNR peripapilar mediante sectores horarios. Estudio en los grupos HF+ ApoE ε4+ y HF- ApoE ε4- entre la primera y segunda visita y entre el grupo HF+ ApoE ε4+ y el grupo HF- ApoE ε4- en la segunda visita En rojo engrosamiento y en azul adelgazamientos. Con asterisco los resultados con diferencias estadísticamente significativas. *p < 0,05, **p < 0,01; Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.2 Análisis longitudinal de la AV

Cuando analizamos la AV de los grupos **HF- ApoE ε4-** y **HF- ApoE ε4-** entre 40 y 60 años de edad, tras 27 meses de seguimiento, la media de los grupos, así como su conformación quedan se exponen en la Tabla 86.

Cuando analizamos la AV entre la primera visita y la segunda visita entre los mismos grupos de estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) (Tabla 86 y Gráfica 57).

Tabla 86. Análisis longitudinal de la AV teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

	HF- ApoE ε4- 40-60 (v1) (n=16)	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	p-valor	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v1) (n=28)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2) (n=17)	p-valor
Agudeza Visual (dec)	0,981±0,040	0,933±0,070	0,102	1,036±0,095	1,077±0,148	0,285

Media ± DE;

Test de Wilcoxon *p < 0,05, **p < 0,01

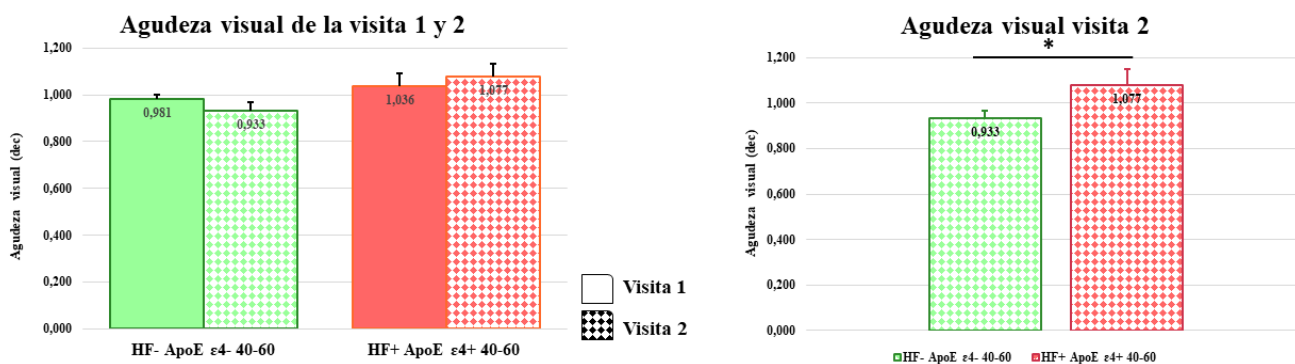
(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; dec: escala decimal; DE: desviación estándar, v1: visita 1; v2: visita 2)

Cuando comparamos los valores de la segunda visita entre el grupo de menor riesgo para el desarrollo de EA (HF- ApoE ε4- 40-60 y el grupo de mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad (HF+ ApoE ε4+ 40-60), encontramos que el grupo HF+ ApoE ε4+ 40-60 tiene una AV estadísticamente superior (p<0,05) al grupo de HF- ApoE ε4- 40-60. (Tabla 87 y Gráfica 57).

Tabla 87. p-valor de la AV en la segunda visita teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edad comprendida entre 40-60 años

HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2) (n=17)	p- valor
0,933±0,070	1,077±0,148	0,014*

*p < 0,05, **< 0,01 Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; dec: escala decimal; DE: desviación estándar, v1: visita 1; v2: visita)



Gráfica 57. Valores de la agudeza visual de la primera y la segunda visita entre los grupos de estudio según la historia familiar de EA, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre los 40-60 años y comparación de la AV en la segunda visita entre el grupo HF- ApoE ε4- 40-60 y el HF+ ApoE ε4+ 40-60. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Wilconxon y Test de Test de Mann Whitney.

La media de la AV y los grupos de estudio de edades de más de 60 años se exponen en la Tabla 88.

Tabla 88. Análisis longitudinal de la AV teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los años

	HF- ApoE ε4- >60 (v1) (n=16)	HF- ApoE ε4- >60 (v2) (n=6)	p-valor	HF+ ApoE ε4+ >60 (v1) (n=11)	HF+ ApoE ε4+ >60 (v2) (n=6)	p-valor
Agudeza Visual (dec)	1,063±0,139	1,067±0,163	0,999	1,000±0,074	1,033±0,082	0,785

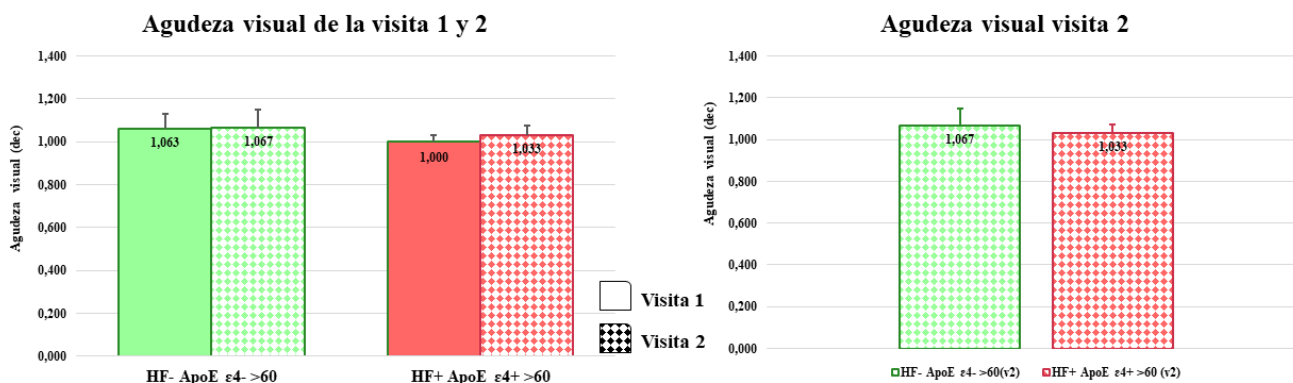
Media ± DE;
Test de Wilconxon *P < 0,05, **P < 0,01
(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; dec: escala decimal; DE: desviación estándar, v1: visita 1; v2: visita 2)

Cuando comparamos los valores de la segunda visita entre el grupo de menor riesgo para el desarrollo de EA (HF- ApoE ε4- >60 y el grupo de mayor riesgo para el desarrollo de la enfermedad (HF+ ApoE ε4+ >60), no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) en la AV de los participantes.(Tabla 89 y Gráfica 58)

Tabla 89. p-valor de la AV en la segunda visita teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a 60 años

HF- ApoE ε4- >60 (v2) (n=6)	HF+ ApoE ε4+ >60 (v2) (n= 6)	p-valor
1,067±0,163	1,033±0,082	0,523

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann Whitney (HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; dec: escala decimal; DE: desviación estándar, v1: visita 1; v2: visita)



Gráfica 58. Valores de la agudeza visual de la primera y la segunda visita entre los grupos de estudio según la historia familiar de EA, caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años. (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E); Test de Wilcoxon

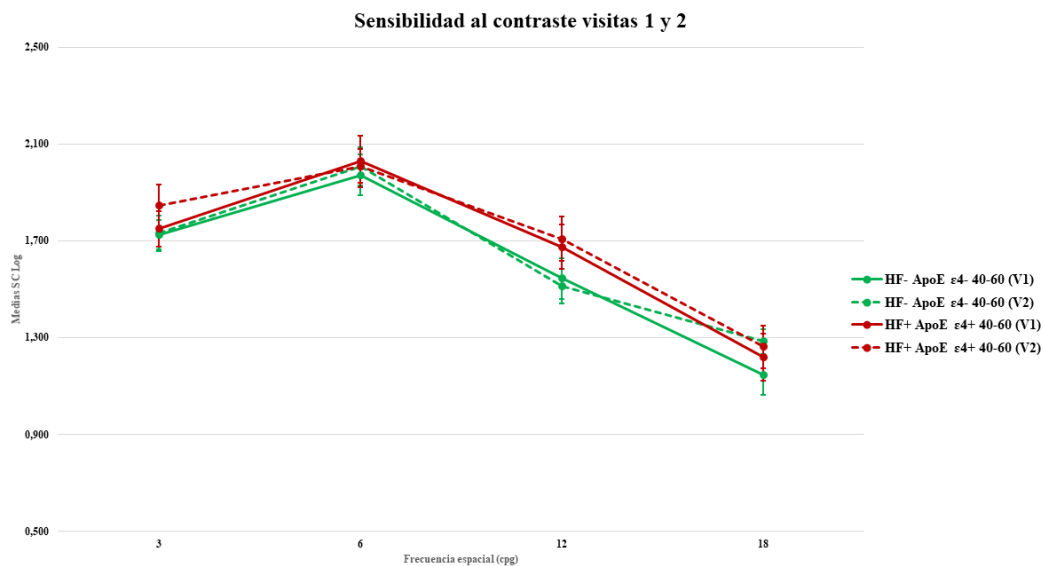
7.8.3 Análisis longitudinal de la SC

La media de la sensibilidad al contraste en las diferentes frecuencias espaciales por grupos de estudio se muestra en la Tabla 90. Entre la primera y la segunda visita no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). (Tabla 90 y Gráfica 59.)

Tabla 90. Análisis longitudinal de la SC teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años .

		HF- ApoE	HF- ApoE	p-valor	HF+ ApoE	HF+ ApoE	p-valor
		ε4- 40-60 (V1) (n=16)	ε4- 40-60 (V2) (n=9)		ε4+ 40-60 (V1) (n=28)	ε4+ 40-60 (V2) (n=17)	
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,724±0,121	1,731±0,148	0,131	1,749±0,148	1,845±0,176	0,100
	6	1,972±0,171	2,007±0,158	0,943	2,028±0,213	2,008±0,139	0,823
	12	1,544±0,170	1,511±0,142	0,311	1,675±0,181	1,708±0,181	0,259
	18	1,144±0,164	1,283±0,100	0,119	1,219±0,197	1,261±0,176	0,059

Media ± DE; *P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon
(HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; DE: desviación estándar)



Gráfica 59. Valores de sensibilidad al contraste en la primera y segunda visita entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA, caracterización del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cpg. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cpg: ciclos por grado; (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

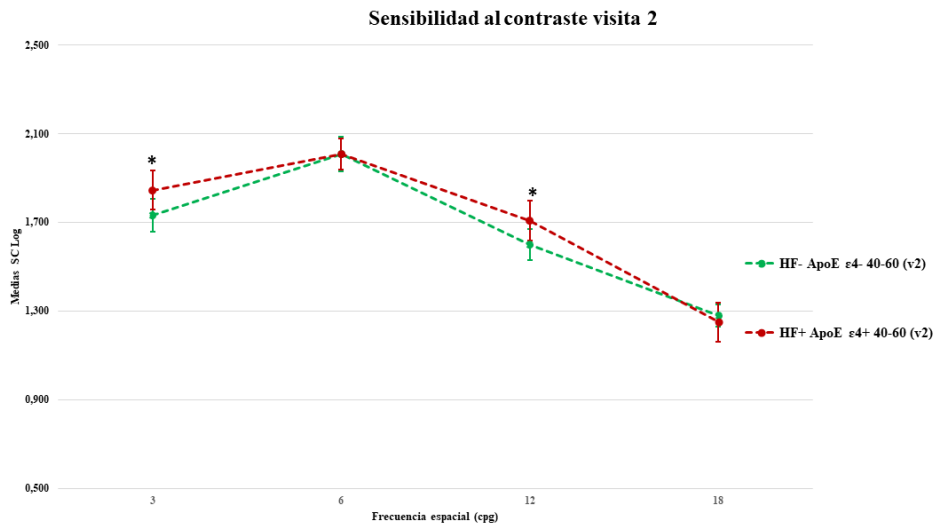
Cuando comparamos los valores de la sensibilidad al contraste entre los grupos de estudio con menor y mayor riesgo para el desarrollo de la EA, encontramos que el grupo de **HF+ ApoE ε4+ 40-60** presentan una sensibilidad al contraste estadísticamente superior ($p < 0,05$) en la frecuencia de 3cpg ($1,845 \pm 0,176$) y en la frecuencia de 12 cpg ($1,708 \pm 0,181$) en comparación al grupo **HF- ApoE ε4- 40-60**, que tiene unos valores de sensibilidad al contraste de $1,731 \pm 0,148$ en la frecuencia de 3 cpg y $1,511 \pm 0,142$ en los 12 cpg. (Tabla 91 y Gráfica 60).

Tabla 91. p-valor de la SC en la segunda visita teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años

		HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2) (n=17)	p- valor
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,731±0,148	1,845±0,176	0,047*
	6	2,007±0,158	2,008±0,139	0,932
	12	1,511±0,142	1,708±0,181	0,008**
	18	1,283±0,100	1,261±0,176	0,777

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; dec: escala decimal; DE: desviación estándar, v1: visita 1; v2: visita 2)



Gráfica 60. Valores de sensibilidad al contraste en la segunda visita entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA, caracterización del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cpg. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cpg: ciclos por grado; HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

Al analizar de forma longitudinal la SC en las diferentes frecuencias espaciales de sujetos mayores de 60 años por grupos de estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) (Tabla 92 y Gráfica 61).

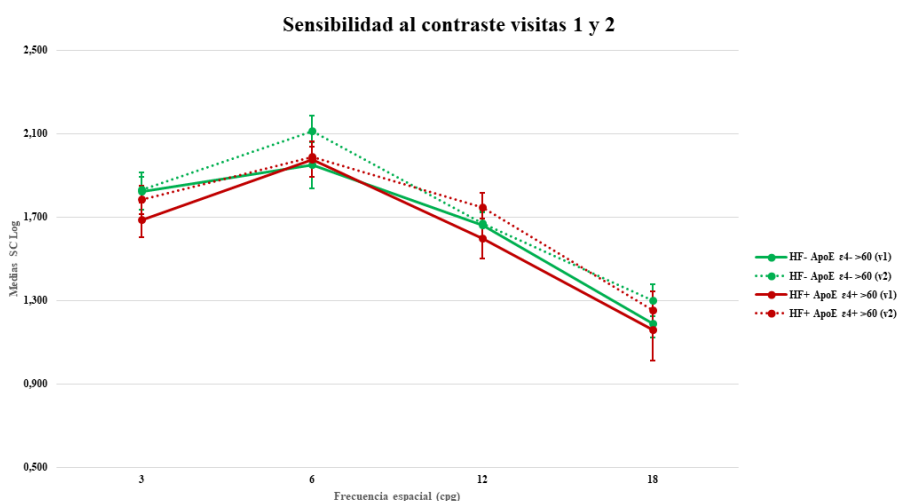
Tabla 92. Análisis longitudinal de la SC teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a 60 años

		HF- ApoE ε4- >60 (v1) (n=16)	HF- ApoE ε4- >60 (v2) (n=6)	p-valor	HF+ ApoE ε4+ >60 (v1) (n=11)	HF+ ApoE ε4+ >60 (v2) (n=6)	p-valor
Sensibilidad al contraste (cpg)	3	1,824 ± 0,179	1,830±0,122	0,257	1,686±0,166	1,782±0,134	0,180
	6	1,949±0,220	2,112±0,147	0,136	1,977±0,169	1,990±0,095	0,457
	12	1,659±0,126	1,670±0,122	0,892	1,597±0,189	1,745±0,141	0,269
	18	1,186± 0,126	1,300±0,155	0,096	1,158±0,296	1,250±0,190	0,461

Media ± DE;

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; dec: escala decimal; DE: desviación estándar, v1: visita 1; v2: visita 2)



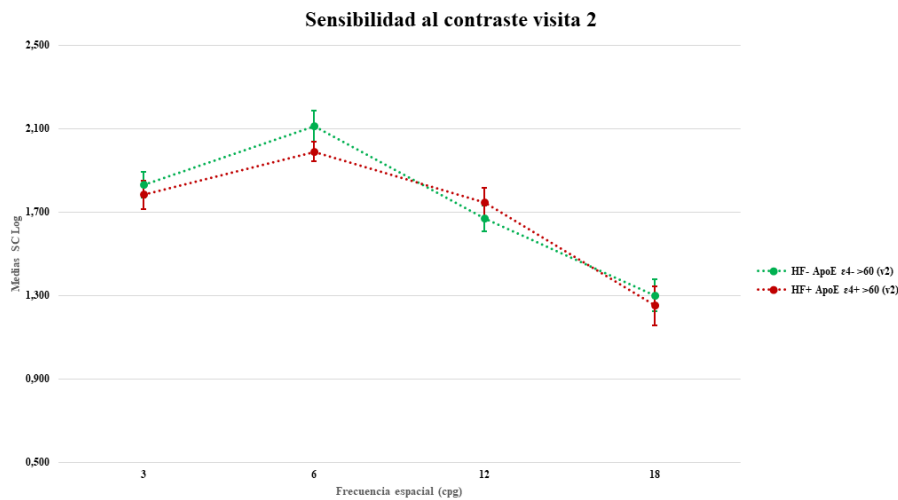
Gráfica 61. Valores de la sensibilidad al contraste en la primera y segunda visita entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA, caracterización del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cpg. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cpg: ciclos por grado; HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Wilcoxon

Cuando comparamos los valores de la sensibilidad al contraste en la segunda visita entre el grupo de mayor riesgo para el desarrollo de la EA (HF+ ApoE ε4+ >60) y el grupo de menor riesgo (HF- ApoE ε4- >60) no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio (p<0,05) (Tabla 93 y Gráfica 62).

Tabla 93. p-valor de la SC en la segunda visita teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años

	HF- ApoE ε4- >60 (v2) (n=6)	HF+ ApoE ε4+ >60 (v2) (n=6)	p-valor
3	1,830±0,122	1,782±0,134	0,613
6	2,112±0,147	1,990±0,095	0,127
12	1,670±0,122	1,745±0,141	0,677
18	1,300±0,155	1,250±0,190	0,309

Media ± DE
P > 0,05, **P < 0,01 Test de Mann Whitney
(HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; DE: desviación estándar)



Gráfica 62. Valores de sensibilidad al contraste en la segunda visita entre los grupos de estudio según la historia familiar de la EA, caracterización del ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años para las frecuencias espaciales de 3, 6, 12 y 18 cp/g. Valores medios y desviación estándar (SC: sensibilidad al contraste; cp/g: ciclos por grado; HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E). *p<0,05; Test de Mann-Whitney.

7.8.4 Análisis longitudinal de la percepción del color

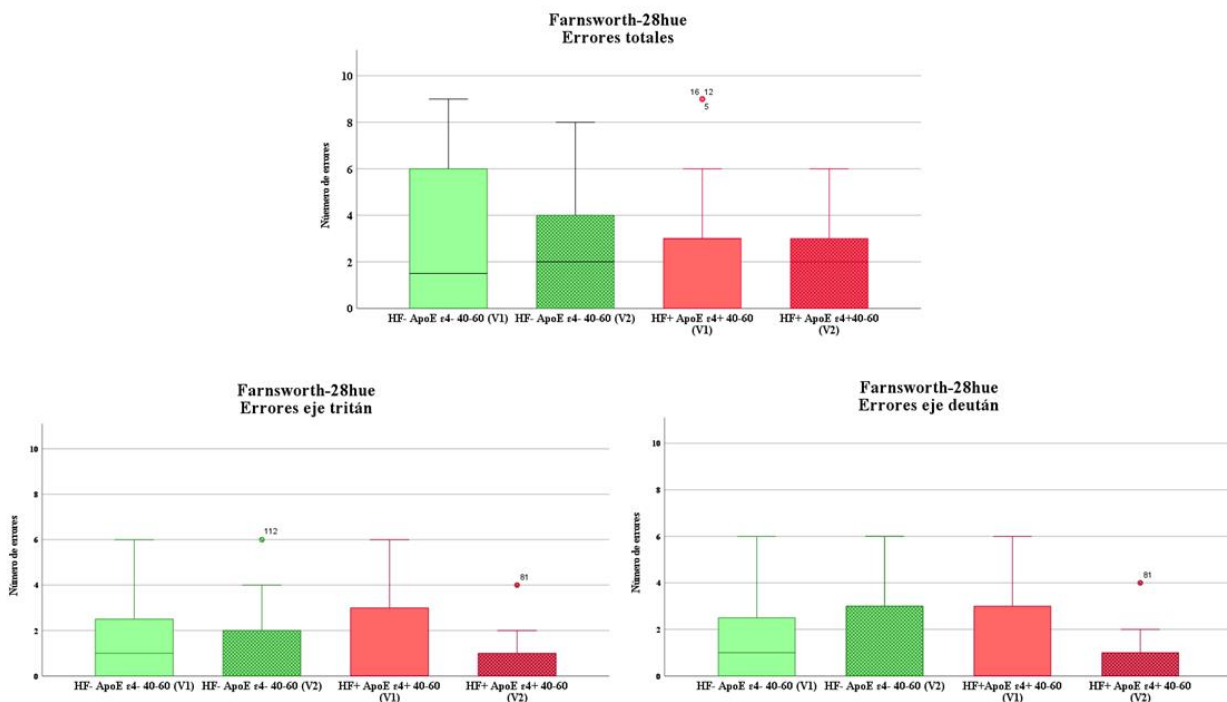
Los grupos de estudio con edades comprendidas entre 40-60 en los que se ha analizado de forma longitudinal los errores inespecíficos en el test de la percepción del color se muestran en la Tabla 94. No encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre la primera y segunda visita en los grupos de estudio en ninguno de los ejes estudiados. (Tabla 94 y Gráfica 63).

Tabla 94. Análisis longitudinal de los errores inespecíficos en la percepción del color teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años

	HF- ApoE ε4- 40-60 (v1) (n=16)	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	p-valor	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v1) (n=28)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2) (n=17)	p-valor
Errores totales	1,500(0,000-6,000)	2,000(0,000-6,000)	0,127	3,000(0,000-3,000)	2,000(0,000-4,500)	0,304
Errores tritán	1,000(0,000-2,750)	0,000(0,000-3,000)	0,303	0,000(0,000-3,000)	0,000(0,000-1,500)	0,263
Errores deután	1,000(0,000-2,750)	0,000(0,000-3,000)	0,347	0,000(0,000-3,000)	0,000(0,000-1,500)	0,205

Mediana (RI);
Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; vs: versus; ApoE: apolipoproteína E; RI rango intercuartil)

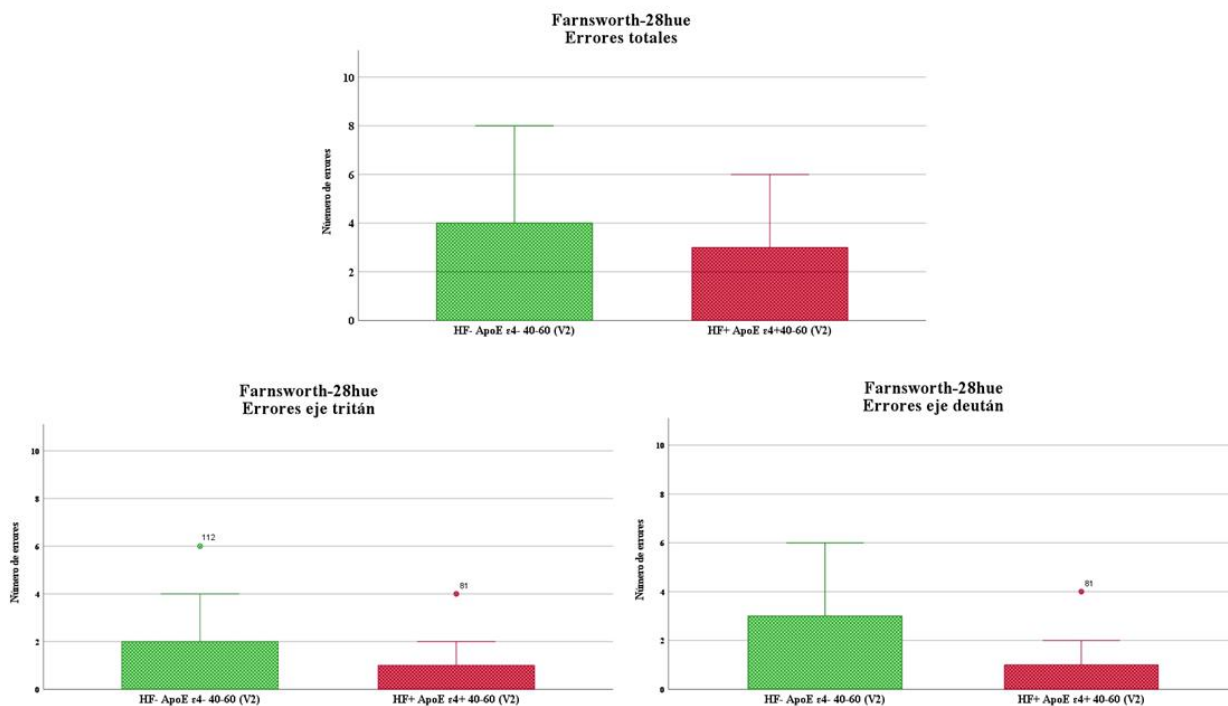


Gráfica 63. Percepción del color en la primera y la segunda visita en los sujetos del estudio clasificados por historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades entre 40-60 años. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: Apolipoprotein E, V2: visita2). p>0,05; Test de. Wilcoxon

Al comparar los valores de la segunda visita entre el grupo de participantes con más riesgo para el desarrollo de la EA y el grupo con menor riesgo no encontramos diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) (Tabla 95y Gráfica 64).

	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2)	p-valor
Errores totales	2,000(0,000-6,000)	2,000(0,000-4,500)	0,710
Errores tritán	0,000(0,000-3,000)	0,000(0,000-1,500)	0,620
Errores deután	0,000(0,000-3,000)	0,000(0,000-1,500)	0,853

Media ± DE; *p < 0,05, **p < 0,01 Test de Mann Whitney (HF: Historia familiar; vs: versus; cpq: ciclos por grado; DE: desviación estándar)



Gráfica 64. Percepción del color en la segunda visita en los sujetos del estudio clasificados por historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE $\epsilon 4$ y edades entre 40-60 años. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: Apolipoprotein E, V1: visita 1, V2: visita2). $p > 0,05$; Test de Mann-Whitney.

También estudiamos el número de errores inespecíficos en los sujetos con edades de más de 60 años, distribuyéndose en los grupos que se muestran en la Tabla 96. No encontrando tampoco diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre la primera y segunda visita. (Tabla 96 y Gráfica 65).

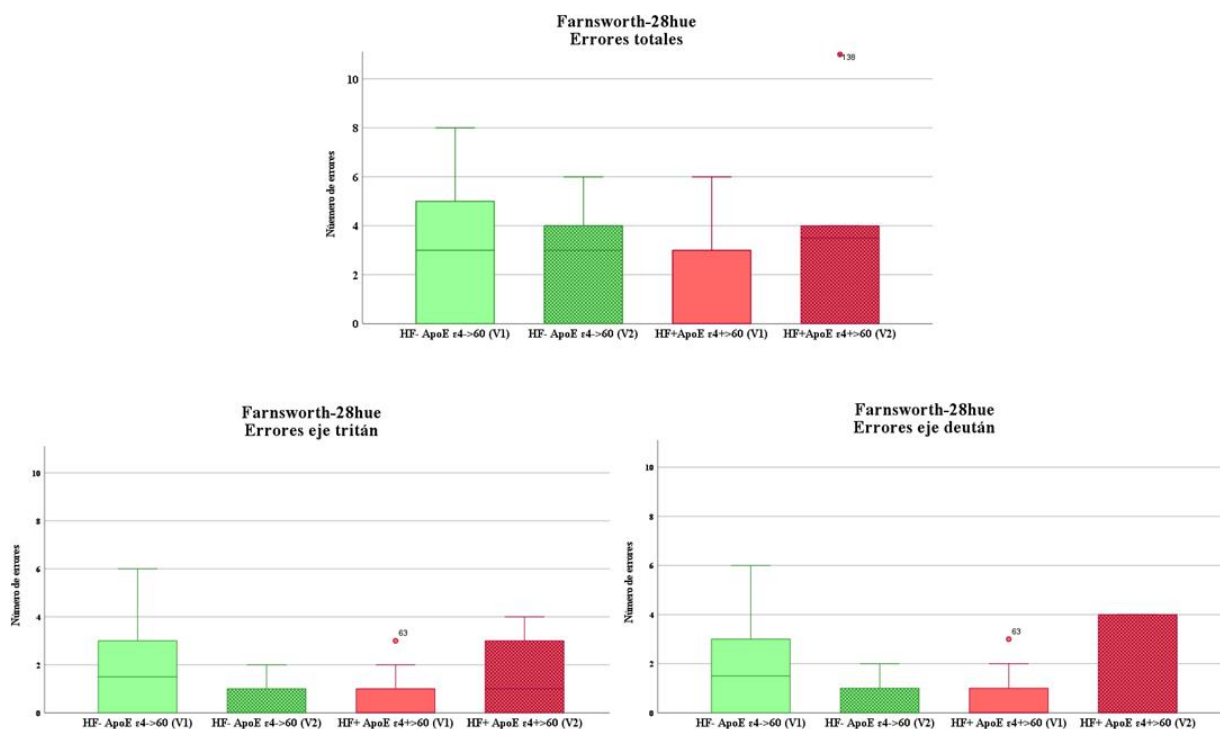
Tabla 96. Análisis longitudinal de los errores inespecíficos en la percepción del color teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y edades superiores a 60 años.

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v1) (n=16)	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v2) (n=6)	p-valor	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v1) (n=11)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v2) (n=6)	p-valor
Errores totales	3,000(0,000-5,250)	3,000(0,000-4,500)	0,343	3,000(0,000-3,000)	3,500(0,000-5,750)	0,588
Errores tritán	1,500(0,000-3,000)	0,000(0,000-1,250)	0,461	0,000(0,000-2,000)	1,000(0,000-3,250)	0,257
Errores deután	1,500(0,000-3,000)	0,000(0,000-1,250)	0,461	0,000(0,000-2,000)	0,000(0,000-4,000)	0,414

Mediana (RI)

*P < 0,05, **P < 0,01 Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI rango intercuartil)



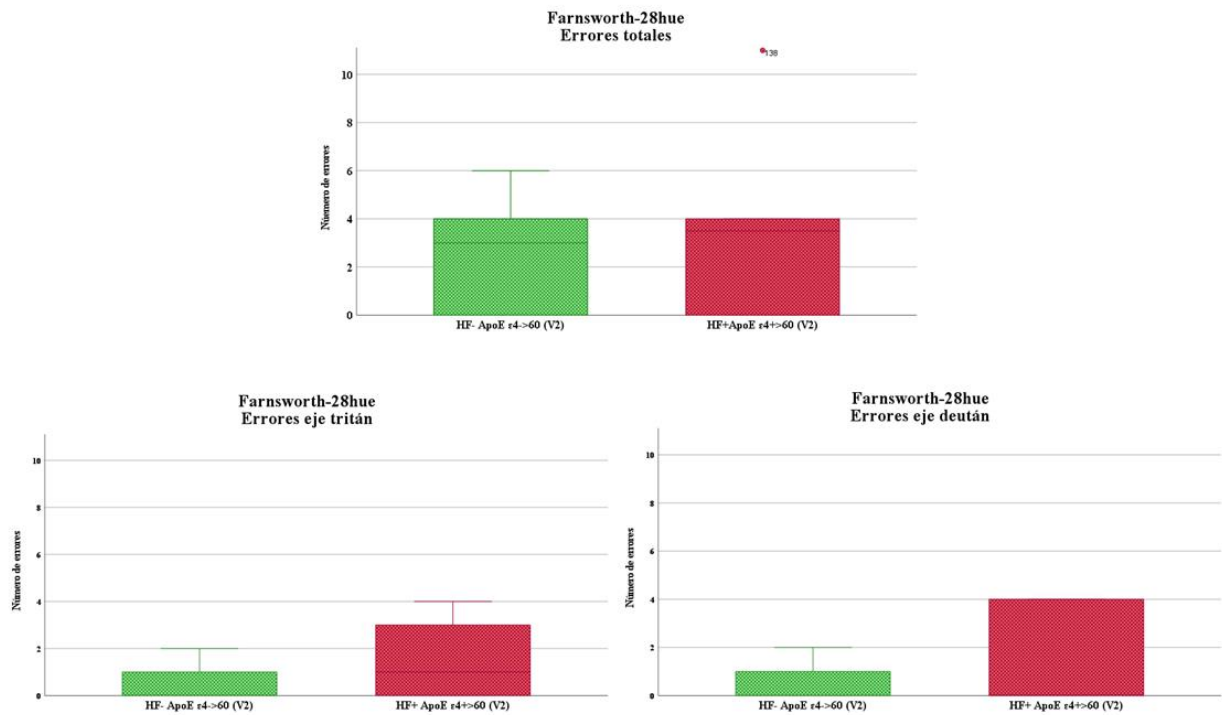
Gráfica 65. Percepción del color en la primera y la segunda visita en los sujetos del estudio clasificados por historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: Apolipoprotein E, V2: visita2). $p > 0,05$; Test de Test de Mann-Whitney.

Al comparar los valores de la segunda visita entre el grupo de participantes con más riesgo para el desarrollo de la EA y el grupo con menor riesgo no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) (Tabla 97 y Gráfica 66).

Tabla 97. p-valor de los errores inespecíficos en la percepción al color en la segunda visita de los grupos de estudio teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a 60 años

	HF- ApoE ε4- >60 (v2)	HF+ ApoE ε4- >60 (v2)	HF- ApoE ε4- >60 (v2) vs HF- ApoE ε4- >60 (v2)
Errores totales	3,000(0,000-4,500)	3,500(0,000-5,750)	0,868
Errores tritán	0,000(0,000-1,250)	1,000(0,000-3,250)	0,325
Errores deután	0,000(0,000-1,250)	0,000(0,000-4,000)	0,702

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ Test de Mann Whitney (HF: Historia familiar; vs: versus; cpg: ciclos por grado; DE: desviación estándar; v1: visita 1; v2: visita 2)



Gráfica 66. Percepción del color en la segunda visita en los sujetos del estudio clasificados por historia familiar de la EA, caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años. Análisis de los errores totales, los defectos inespecíficos en el eje del tritán y los defectos inespecíficos en el eje del deután. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar, ApoE: Apolipoprotein E, V1: visita 1, V2: visita2). *p<0,05; **p<0,01 Test de Mann-Whitney.

7.8.5 Análisis longitudinal del Test Digital de Percepción

Los grupos de estudio con edades comprendidas entre 40-60 en los que se ha analizado de forma longitudinal el Test Digital de percepción se exponen en la Tabla 98. Al analizar entre estos grupos entre las visitas 1 y 2 no encontramos diferencias dísticamente ente significativas ($p>0,05$) en el número de errores (Tabla 98 y Gráfica 67).

Tabla 98. Análisis longitudinal del TDP teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años.

	HF- ApoE ε4- 40-60 (v1) (n=16)	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	p-Valor	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v1) (n=28)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2) (n=17)	p-Valor
Pasa	9 (56,30%)	8 (88,90%)		22 (78,60%)	13 (76,50%)	
Falla	7 (43,80%)	1 (11,10%)		6(21,40%)	4 (23,50%)	
Número de errores	0,000(0,000-1,000)	0,000-0,000-0,000)	0,157	0,000(0,000-0,000)	0,000(0,000-0,500)	0,157

(n (%))
Mediana (RI);
*p< 0,05; **p<0,01
Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil, V1: Visita 1; V2:visita2)

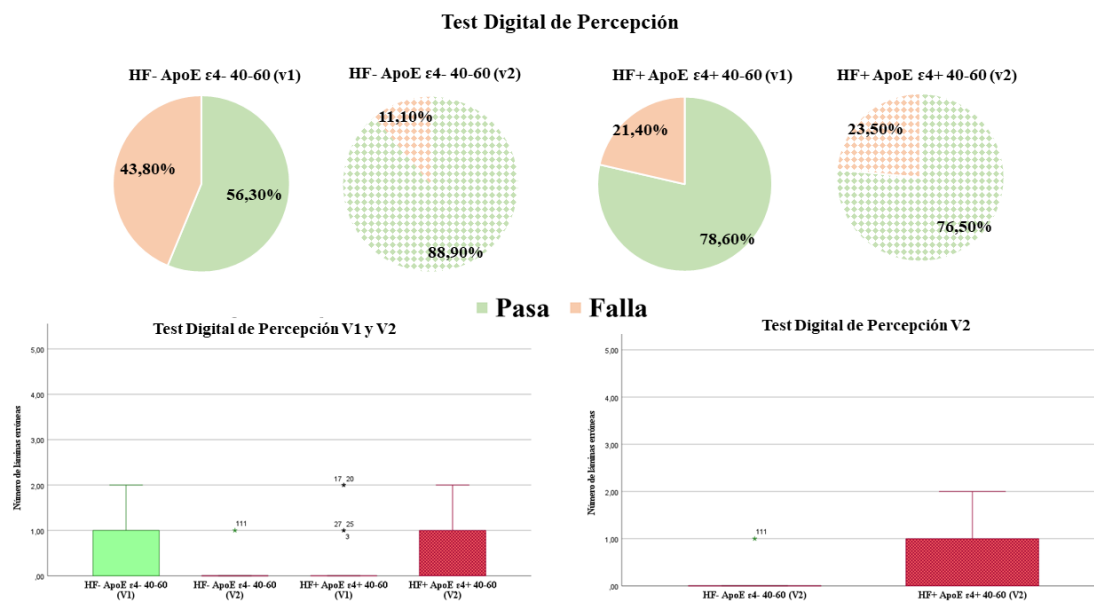
Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos las segundas visitas de los grupos **HF- ApoE ε4- 40-60 vs HF+ ApoE ε4+ 40-60** ($p>0,05$) (Tabla 99 y Gráfica 67).

Tabla 99. p-valor del número de errores del TDP en la segunda visita de los grupos de estudio teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-60años.

	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2) (n=17)	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) vs HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v2)
Pasa	8 (88,90%)	13 (76,50%)	
Falla	1 (11,10%)	4 (23,50%)	
Número de errores	0	0,000(0,000-0,500)	0,454

n (%)
Mediana (RI);
* $p<0,05$; ** $p<0,01$
Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil, V1: Visita 1; V2:visita2n (%))



Gráfica 67. Test Digital de Percepción longitudinal según historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades entre los 40 y 60años. Análisis de porcentaje de sujetos que pasan o fallan el test y número de errores de los que fallan. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E, V1: visita1; V2: visita2). * $p<0,05$, $p<0,01$, Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.**

También estudiamos longitudinalmente los participantes mayores de 60 años, quienes se distribuían en los grupos de estudio que se muestran en la Tabla 100. Al comparar entre los

grupos de estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el número de errores entre la primera y segunda visita. (Tabla 100 y Gráfica 68)

Tabla 100. Análisis longitudinal del TDP teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y edades entre superiores a los 60 años.

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v1) (n=16)	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v2) (n=6)	p-valor	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v1) (n=11)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v2) (n=6)	p-valor
Pasa	6 (37,50%)	4 (66,70%)		6 (54,55%)	5 (83,33%)	
Falla	10 (62,50%)	2 (33,30%)		5 (45,45%)	1 (16,67%)	
Número de errores	1,000 (0,000-1,000)	0,000(0,000-0,750)	0,705	0,500 (0,000-1,000)	0,000(0,000-1,000)	0,705

(n (%))
Mediana (RI);
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$
Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil, V1: Visita 1; V2: visita2)

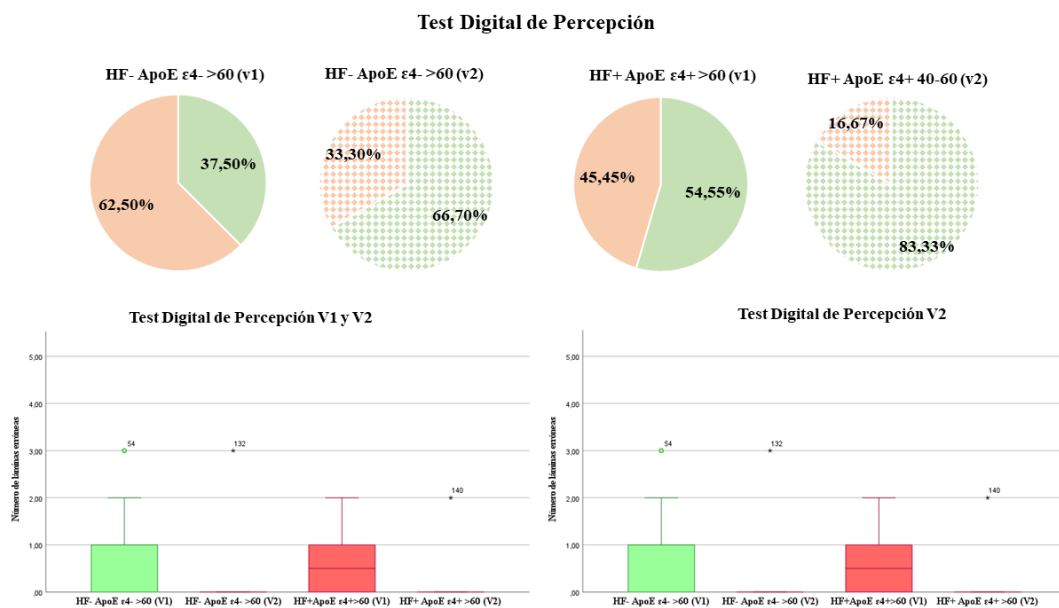
Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas cuando comparamos el número de errores en la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE $\epsilon 4$ - > 60** vs **HF+ ApoE $\epsilon 4$ + > 60** ($p > 0,05$). (Tabla 101 y Gráfica 68).

Tabla 101. p-valor del número de errores del TDP en la segunda visita de los grupos de estudio teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y edades superiores a 60 años.

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v2) (n=6)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v2) (n=6)	p-valor
Pasa	4 (66,70%)	5 (83,33%)	
Falla	2 (33,30%)	1 (16,67%)	0,902
Número de errores	0,000(0,000-0,750)	0,000(0,000-1,000)	

n (%)
Mediana (RI);
* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$
Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; V2: visita2)



Gráfica 68. Test Digital de Percepción longitudinal según historia familiar de la EA, la caracterización alélica para el ApoE ε4 y edades superiores a los 60 años. Análisis de porcentaje de sujetos que pasan o fallan el test y número de errores de los que fallan. Medianas y rangos intercuartílicos (HF: historia familiar; ApoE: Apolipoproteína E, V1: visita1; V2: visita2). *p<0,05; **p<0,01, Test de Wilcoxon y Test de Mann-Whitney.

7.8.6 Análisis longitudinal campimetría computerizada

Los grupos de estudio con edades comprendidas entre 40-60 en los que se ha analizado de forma longitudinal la campimetría computerizada se exponen en la siguiente Tabla 102. No encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) cuando comparamos entre la primera y segunda vista de los grupos de estudio. (Tabla 102).

Tabla 102. Análisis longitudinal de la función visual con campimetría computerizada teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades entre 40-60 años.

	HF- ApoE ε4- 40-60 (v1) (n=16)	HF- ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=9)	p-valor	HF+ ApoE ε4+ 40-60 (v1) (n=24)	HF+ ApoE ε4- 40-60 (v2) (n=17)	p-valor
Pérdidas de fijación	0,500(0,000-1,000)	1,000(0,000-1,000)	0,408	0,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-1,000)	0,890
%Falsos positivos	1,000(0,000-5,000)	2,000(0,000-2,500)	0,414	3,000(0,000-5,750)	2,000(0,000-6,500)	0,552
%Falsos negativos	0,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-3,500)	0,273	0,000(0,000-4,000)	1,000(0,000-3,000)	0,959
VFI (%)	99,500(99,000-100,000)	99,000(98,500-100,000)	0,083	100,000(99,000-100,000)	99,000(97,000-100,000)	0,305
DM	-0,885(-1,868-2,950)	-0,420(-1,695-0,115)	0,484	-0,650(-1,675-0,013)	-0,560(-2,155-0,165)	1,000
DSM	1,635(1,410-1,833)	1,640(1,445-2,085)	0,575	1,535(1,318-1,848)	1,660(1,4650-2,420)	0,064

Mediana (RI);
*p< 0,05; **p<0,01
Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil, V1: Visita 1; V2:visita2)

Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) cuando comparamos los parámetros del CV en la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60 vs HF+ ApoE $\epsilon 4$ + 40-60**. (Tabla 103)

Tabla 103. p-valor de la función visual con campimetría computerizada en la segunda visita de los grupos de estudio teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y edades entre 40-60 años

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60 (v2)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ - 40-60 (v2)	p-valor
Pérdidas de fijación	1,000(0,000-1,000)	0,000(0,000-1,000)	0,311
%Falsos positivos	2,000(0,000-2,500)	2,000(0,000-6,500)	0,460
%Falsos negativos	0,000(0,000-3,500)	1,000(0,000-3,000)	0,954
VFI (%)	99,000(98,500-100,000)	99,000(97,000-100,000)	0,735
DM	-0,420(-1,695-0,115)	-0,560(-2,155-0,165)	0,936
DSM	1,640(1,445-2,085)	1,660(1,4650-2,420)	0,500

Mediana (RI);

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; V2: visita2)

También estudiamos longitudinalmente los participantes mayores de 60 años, quienes se distribuían en los grupos de estudio que se muestran Tabla 104. Al comprar entre la primera y segunda visita de los grupos de estudio no encontramos cambios estadísticamente significativos ($p > 0,05$) (Tabla 104).

Tabla 104. Análisis longitudinal de la función visual con campimetría computerizada teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE $\epsilon 4$ y edades superiores a los 60 años.

	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v1) (n=14)	HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 (v2) (n=6)	p-valor	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v1) (n=8)	HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 (v2) (n=6)	p-valor
Pérdidas de fijación	1,000(0,000-2,000)	1,000(0,750-3,750)	0,336	0,500(0,000-1,000)	0,500(0,000-1,250)	0,317
%Falsos positivos	2,000(0,000-5,000)	2,000(0,000-4,250)	0,705	0,500(0,000-2,500)	2,500(0,000-7,000)	0,109
%Falsos negativos	0,000(0,000-5,500)	2,000(0,000-10,500)	1,000	0,000(0,000-1,500)	0,000(0,000-0,000)	0,317
VFI (%)	99,000(-0,335(-1,698-0,228)	98,500(96,750-100,000)	0,655	99,000(98,000-99,750)	99,000(98,750-100,000)	0,109
DM	1,766(1,490-2,133)	-1,440(-2,725-0,090)	0,753	-1,440(-1,955-2,350)	-0,515(-1,443-0,230)	0,500
DSM	2,300(1,560-5,188)	2,300(1,560-5,188)	0,463	1,505(1,440-1,938)	1,640(1,435-1,845)	0,225

Mediana (RI);

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Test de Wilcoxon

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil, V1: Visita 1; V2: visita2)

Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en las variables analizadas en el CV en la segunda visita entre los grupos **HF- ApoE ε4- > 60** vs **HF+ ApoE ε4+ > 60** ($p > 0,05$) (Tabla 105).

Tabla 105. p-valor de la función visual con campimetría computerizada en la segunda visita de los grupos de estudio teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica del ApoE ε4 y edades superiores a los - 60 años

	HF- ApoE ε4- >60 (v2)	HF+ ApoE ε4+ >60 (v2)	p-valor
Pérdidas de fijación	1,000(0,750-3,750)	0,500(0,000-1,250)	0,204
%Falsos positivos	2,000(0,000-4,250)	2,500(0,000-7,000)	0,681
%Falsos negativos	2,000(0,000-10,500)	0,000(0,000-0,000)	0,059
VFI (%)	98,500(96,750-100,000)	99,000(98,750-100,000)	0,406
DM	-1,440(-2,725-0,090)	-0,515(-1,443-0,230)	0,337
DSM	2,300(1,560-5,188)	1,640(1,435-1,845)	0,200

Mediana (RI);

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Test de Mann Whitney

(HF: Historia familiar; ApoE: apolipoproteína E; RI: rango intercuartil; V2: visita2)

8.DISCUSIÓN

8.DISCUSIÓN

La EA, que es la causa más habitual de demencia en poblaciones ancianas, es causada tanto por factores ambientales como por variaciones genéticas. Numerosos estudios han analizado la relación entre una amplia gama de loci asociados con la EA, incluidos los genes causales y de susceptibilidad, conocidos como factores de riesgo ¹⁰²⁷. Sin embargo, estos factores de riesgo, a diferencia de las variantes patogénicas no son necesarios ni suficientes para causar la EA. Así, la identificación de una variante es solo una pieza de un rompecabezas de riesgos que contiene otras piezas genéticas y no genéticas, la mayoría de las cuales son desconocidas. Es importante destacar que los tamaños de todas las piezas no son iguales. El alelo ε4 del ApoE constituye una categoría de factor de riesgo por sí mismo, ya que es un alelo común con un efecto moderado a fuerte ¹⁰²⁸. Los portadores homocigóticos para el ApoE ε4 muestran un riesgo en torno al 48,30 % y al 18,40 % para los portadores heterocigóticos, apareciendo en estos en frecuencias entre el 14% y el 27% ¹⁰²⁹, lo que subraya la transcendencia de dicho gen en relación con la epidemiología de la enfermedad. Sin embargo, es importante recalcar que incluso a los 85 años, no todos los portadores desarrollan síntomas de EA ¹⁰³⁰.

Por otro lado, la historia familiar de la enfermedad, es decir tener un padre o madre EA, parecer ser otro de los factores de riesgo genéticos más importantes para el desarrollo de esta patología neurodegenerativa ¹⁰³¹. Los familiares de primer grado de personas con EA tiene un riesgo de 4 a 10 veces mayor de padecer la enfermedad en comparación con las personas sin antecedentes familiares ²⁰³. Debido a que se desconoce cómo la transmisión familiar de la EA aumenta biológicamente la susceptibilidad de la EA, aclarar estos mecanismos de riesgo familiar es un paso importante en el desarrollo de mejores estrategias farmacológicas y preventivas ⁵³¹.

Los cambios neuropatológicos de la EA comienzan años antes del inicio de los síntomas clínicos ⁵², siendo estos cambios posibles de detectar a través de biomarcadores específicos ¹⁰³². Los estudios que analizan estos biomarcadores de la enfermedad y sus cambios durante estas etapas preclínicas ¹⁰³³ han ayudado a comprender la existencia de fases “silenciosas” de la enfermedad, las cuales deben emplearse como ventanas de tiempo para la prevención de la EA ¹⁰³⁴.

Con diferentes técnicas de neuroimagen se ha intentado caracterizar los factores de riesgo genético y familiar para el desarrollo de la EA mediante el estudio de rasgos genéticos y hereditarios en individuos sanos sin deterioro cognitivo ¹⁰³⁵.

En sujetos homocigóticos y heterocigóticos para $\epsilon 4$ existe una reducción significativa de las tasas de metabolismo de la glucosa medidas mediante PET en las regiones del cíngulo posterior, parietal temporal y prefrontal, áreas que ya se ven afectadas en pacientes diagnosticados de probable EA ¹⁰³⁶⁻¹⁰³⁹, siendo estos hallazgos también encontrados en sujetos adultos jóvenes con edades entre 20-39 años y heterocigóticos para el alelo $\epsilon 4$ del ApoE ¹⁰⁴⁰. Los portadores del ApoE $\epsilon 4$ muestran también una tendencia a la reducción del volumen hipocampal medidos mediante RM, asociándose con un rendimiento reducido en las pruebas de memoria a largo plazo ⁵²⁶. Las pruebas de magnetoencefalografía han mostrado que los portadores de ApoE $\epsilon 4$ tenían una potencia relativa aumentada en el rango de frecuencias de 4,5-6,5 Hz sobre los lóbulos frontales, siendo este aumento de potencia significativamente mayor en comparación con los pacientes con DCL no portadores. Este estudio pone de manifiesto que la presencia del ApoE $\epsilon 4$ afecta a la actividad en estado de reposo aproximándose a los patrones observados en las primeras etapas de la EA ¹⁰⁴¹.

También han demostrado que las personas con antecedentes maternos de la EA pueden tener cambios en el rendimiento de la memoria ¹⁰⁴², reducciones en el metabolismo de la glucosa cerebral en las cortezas parieto-temporales y el cíngulo posterior ²¹¹, aumento de la carga A β principalmente en la corteza frontal, cíngulo posterior y precúneo ²⁰⁹. Además, se ha encontrado una reducción del volumen de la materia gris en regiones cerebrales relacionadas con la EA, específicamente en la región del precúneo y parahipocampal en sujetos con antecedentes maternos de EA en comparación con aquellos con antecedentes paternos o sin antecedentes familiares de la enfermedad ⁵³².

Sin embargo, la mayoría de estas pruebas suelen ser costosas, complejas de realizar y bastante invasivas ¹⁰³⁵. Además, la presencia del alelo $\epsilon 4$ para el ApoE y las mediciones del PET, aunque ya hayan alcanzado validez analítica y clínica, aún no están indicadas para predecir el riesgo de que una persona cognitivamente sana desarrolle síntomas de EA ^{1038,1043}.

Es por ello que, la búsqueda de nuevos biomarcadores no invasivos, eficientes y económicamente accesibles es un campo de investigación en continuo desarrollo en las enfermedades neurodegenerativas. Este continuo desarrollo ha hecho que los test oftalmológicos empleados en las consultas rutinarias sean analizados como biomarcadores de la patología en estadios previos a la enfermedad (como es el DCL), en pacientes con la enfermedad establecida y a lo largo de las diferentes etapas de la misma.

En el presente estudio se ha realizado el análisis de los test psicofísicos oftalmológicos estudiando la AV, SC, percepción del color, TDP y CV en sujetos con historia familiar de EA (HF+) y portadores del alelo ApoE ϵ 4 (ApoE ϵ 4+) y comparándolo con sujetos sin historia familiar de EA (HF-) y no portadores del alelo ApoE ϵ 4 (ApoE ϵ 4-). Estructuralmente y mediante OCT se han analizado en estos pacientes el grosor macular de cada una de las capas de la retina, de la CFNR peripapilar, el grosor coroideo y se han caracterizado las drusas retinianas que aparecen en estos sujetos. Además, con OCTA se ha analizado la ZAF y las características de la red vascular.

También en este estudio se han analizado las correlaciones de la AV, SC y grosor retiniano con los datos obtenidos mediante magnetoencefalografía y las correlaciones de los volúmenes de sectores oculares tanto de mácula y papila con los grosores y volúmenes de áreas cerebrales medidos mediante RMN.

Así mismo, se ha llevado a cabo un estudio longitudinal a los 27 meses en estos sujetos de alto riesgo.

8.1 Selección de la muestra de los participantes de estudio

Uno de los puntos relevantes del presente estudio es la cuidada selección de los sujetos que participan en el estudio. La inclusión de los pacientes comenzó con el proyecto COGDEM en el año 2016 y terminó en Julio de 2021.

Uno de los criterios que debían cumplir el grupo de familiares es que tuvieran un antecedente materno o paterno únicamente de EA, descartándose otros tipos de demencia como la demencia frontotemporal, demencia por cuerpos de Lewy o demencia tipo Parkinson. Para verificar el diagnóstico parental, el historial médico de los padres fue revisado por un panel de expertos multidisciplinar del Hospital Clínico San Carlos. Además, los informes de autopsia también eran aceptados, pero no podían ser un criterio de inclusión ya que en la mayoría de los pacientes con EA no se realiza este procedimiento. Tampoco se incluyeron familias con mutaciones autosómicas dominantes (PSEN 1 o 2). Como controles para este grupo se seleccionaron sujetos de mediana edad sin antecedentes familiares de la EA definidos a través de un autoinforme del participante en respuesta a un cuestionario detallado de su historia clínica. Estos dos grupos de estudio se encontraban pareados por edad, estatus socioeconómico y otras características demográficas. Además, los participantes de ambos grupos debían estar libres de trastornos neurológicos, psiquiátricos o cualquier condición médica severa. Todos los participantes mostraron puntuaciones normales en las pruebas neuropsicológicas, imágenes

normales de RMN sin evidencias de lesiones vasculares, tumores u otros signos de patología cerebral.

Además, la caracterización alélica para el ApoE fue otro de los rasgos que se tuvo en cuenta para la división de los participantes del presente estudio. Clasificamos por tanto a los sujetos dependiendo de la presencia o ausencia de algún alelo $\epsilon 4$ para el ApoE.

Dentro del estudio, ninguno de los participantes mostraba anomalías o patologías oftalmológicas que pudieran enmascarar alguno de los resultados obtenidos. Además, a todos los participantes de la muestra que acudieron a las consultas se les realizó una completa anamnesis para conocer su historia médica y oftalmológica.

Esta cuidada selección de pacientes hizo posible que los grupos de estudio de menor riesgo para el desarrollo de EA (HF- ApoE $\epsilon 4$ -) presentara una edad de 60,00 años (54,00-66,00) y el grupo de mayor riesgo (HF+ ApoE $\epsilon 4$ +) de 56,00 años (56,00-61,00), no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Estos grupos también se encontraban pareados en términos de grado educativo existiendo en el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - un 18,75% participantes con estudios primarios y un 81,25% con estudios superiores y en el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - un 12,82 % presentaban estudios primarios y un 81,18% presentaba estudios secundarios.

A pesar de que uno de los criterios de inclusión del proyecto general era que todos los participantes del estudio tuvieran un MMSE por encima de 26, en nuestros grupos de estudio si encontramos diferencias estadísticamente significativas en la puntuación del MMSE entre el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - y HF+ ApoE $\epsilon 4$ +. El grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - tiene una puntuación de 29,00(28,00-29,00) y el grupo de HF+ ApoE $\epsilon 4$ + de 29,00(29,00-29,00). Estas diferencias estadísticamente significativas pueden deberse a la pequeña desviación estándar que muestran estas medidas, ya que en ambos grupos la puntuación era normal para participantes cognitivamente sanos.

Otro punto de especial interés es el sexo de los participantes del estudio. Mientras que en el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - no encontramos diferencias entre el número de hombres y mujeres en el grupo de estudio de HF+ ApoE $\epsilon 4$ + encontramos un número de mujeres significativamente mayor en comparación al grupo de hombres (27 mujeres vs 12 hombres). La mayor participación de mujeres en este grupo de alto riesgo puede explicarse por diversos factores. Uno de ellos es el papel tradicional de las mujeres como cuidadoras de las personas afectas de esta patología ya

que suelen sentir de forma más aguda que los hombres las pérdidas asociadas a los trastornos mentales¹⁰⁴⁴. Otro de los factores que influyen en una mayor participación, es que las mujeres son más propensas a desarrollar demencia^{1045,1046} y por tanto muestran un mayor interés en la participación en proyectos de investigación por dos razones: i) los avances en la investigación puede beneficiar a la familia, amigos o generaciones futuras y ii) tienen una preocupación personal sobre la memoria¹⁰⁴⁷.

Por otro lado, el reclutamiento de los pacientes para el estudio longitudinal fue bastante complejo debido a la situación provocada por la pandemia del COVID-19 haciendo imposible la revisión de los participantes en las instalaciones de la Clínica durante el periodo de confinamiento extendiéndose desde el 15 de marzo hasta el 21 de junio del 2020. Además, posteriormente las medidas sanitarias eran muy restrictivas y solo era posible ver a 3 pacientes a la vez en la consulta, por lo que el número de sujetos que podían ser citados para el estudio se reducía drásticamente. Por otro lado, muchos de los participantes mostraban rechazo o miedo a acudir a las revisiones oftalmológicas de seguimiento debido a la inseguridad que aún les generaba la situación sanitaria. Hay que tener en cuenta que una parte de estos sujetos poseen un padre o madre con EA y que en muchos casos son sus cuidadores, y por tanto no querían exponerse de forma innecesaria.

8.2 Cambios en las pruebas estructurales de la retina

8.2.1 Tomografía de coherencia óptica

Pocos estudios han analizado el grosor de la retina en sujetos cognitivamente sanos con alto riesgo genético para el desarrollo de EA^{849,851-856}.

En nuestro estudio, en el análisis de la CFNRm, encontramos un adelgazamiento significativo en el sector foveal en el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ en comparación con el grupo HF- ApoE ϵ 4-. Es sorprendente encontrar cambios en el grosor retiniano entre estos grupos de estudio, ya que hay que recordar que, aunque estos sujetos tienen dos factores de riesgo genético para el desarrollo de EA, estos son sujetos cognitivamente sanos.

Los resultados de los estudios preclínicos de la EA no son homogéneos. Mientras que algunos autores no reportan diferencias significativas cuando analizan la CFNRm del grupo preclínico frente al grupo control⁸⁴⁹, otros autores han descrito recientemente un descenso del volumen macular total en el grupo preclínico. Estos cambios se han reportado tras un seguimiento longitudinal de 27 meses y se relacionaron con la acumulación neocortical de A β .⁸⁵² Otro

estudio, no encontró diferencias significativas entre los participantes con depósitos de A β en las capas internas de la retina en la región macular y aquellos que no presentaban depósitos en estas capas ⁸⁵¹. Hay que destacar que, en estos tres trabajos, los grupos preclínicos estaban formados por sujetos que tenían un familiar afecto de EA ,pero que también tenían quejas subjetivas de memoria. Posiblemente estos sujetos se encontraban en la etapa previa a la demencia que se conoce como DCL y que muchos autores la denominan, etapa preclínica. En esta etapa, la patología está presente en el sistema de memoria del lóbulo temporal medial donde la patología neurofibrilar posiblemente ya ha comenzado ⁸⁵². Los depósitos de A β también pueden encontrarse en la CFNRm, lo que compensaría en parte la disminución del grosor observado en el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+. Por tanto, la reducción en el grosor de la CFNRm podría observarse antes del daño del sistema de memoria nervioso central mesiotemporal, afectación característica de la EA temprana ⁸⁵².

Teniendo en cuenta la caracterización alélica para el ApoE ϵ 4, un reciente estudio encontró que los portadores del alelo ϵ 4 tenían un aumento significativo del grosor total macular en comparación con los sujetos ApoE ϵ 4-. Sin embargo, en este estudio no queda claro si además de clasificar a los sujetos por la caracterización alélica del ApoE ϵ 4, estos sujetos también se clasifican por historia parental de la enfermedad ⁸⁵⁵, siendo uno de los puntos fuertes de nuestro estudio: todos los ApoE ϵ 4+ presentaban un antecedente de HF+, mientras que los ApoE ϵ 4- no tenían este antecedente parental (HF-).

En pacientes con EA establecida se ha reportado una reducción del grosor de la CFNRm en diferentes sectores ^{729,798,845,846}. Las diferencias en los criterios de inclusión de estos pacientes en relación con el MMSE, hace que la clasificación de los diferentes estadios de la EA no sea equivalente. Posiblemente este es uno de los motivos por lo que los resultados de los diferentes autores no son homogéneos. Además, el mayor adelgazamiento en los pacientes con EA se observó en el anillo macular externo en los sectores superior e inferior. Esta alteración predominante podría explicarse por la mayor concentración de haces axonales que se dirigen hacia la cabeza del nervio óptico en estos sectores ¹⁰⁴⁸.

Pocos estudios han analizado el espesor de la CFNRm en pacientes con DCL ^{847,848,1049}. Mientras que algunos estudios informaron de una reducción en el volumen macular en pacientes con DCL con respecto a los controles ⁸⁴⁷, otros encontraron un incremento del volumen macular en pacientes con DCL ⁸⁴⁸. El aumento del volumen macular en pacientes con DCL podría atribuirse a la gliosis antes de la pérdida neuronal y la atrofia de la CFNRm ¹⁰⁵⁰.

En nuestro estudio, el grosor de la CCG en el grupo HF+ ApoE ϵ 4+ mostró una ligera pero no significativa reducción en todos los sectores con respecto a los controles. La mayoría de los estudios que analizaron esta capa en grupos preclínicos de EA tampoco encontraron diferencias significativas con respecto a los grupos control^{849,851-853}. Sin embargo, la reducción del grosor de esa capa es la causa principal de adelgazamiento de la retina en pacientes diagnosticados con EA⁸⁴⁵. Además, este adelgazamiento se ha reportado tanto en pacientes con EA leve⁷⁹⁸, como en pacientes con EA leve a moderada⁸⁶⁶. En pacientes con DCL, esta disminución del grosor también se ha sugerido como una posible herramienta para detectar lesiones neuronales⁸⁵⁷.

En el presente estudio encontramos que los sectores nasales e inferiores tanto del anillo macular interno como del anillo macular externo de la CPI mostraron un adelgazamiento estadísticamente significativo en el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ en comparación con el grupo de HF- ApoE ϵ 4-, siendo esta capa la que presentó más sectores con diferencias estadísticamente significativas. En un estudio anterior, en sujetos con quejas subjetivas de memoria, los autores también encontraron una reducción significativa del grosor en el cuadrante inferior⁸⁵². Sin embargo, los resultados fueron diferentes en pacientes con A β + que mostraron un aumento en el volumen de esta capa⁸⁵³. La disminución del grosor encontrada en nuestros sujetos con HF+ ApoE ϵ 4+ en la CPI podría explicarse por la disminución de la actividad colinérgica en esta capa, como ya se describió en estudios histopatológicos de pacientes asintomáticos con presencia de depósitos de A β ^{1051,1052}. En estadios más avanzados de demencia, es decir DCL y EA establecida, la CCG y la CPI se han analizado como un complejo, mostrando una disminución del grosor en todos los cuadrantes con respecto a los grupos control^{845,857}. En nuestro grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ (40-60 años) también encontramos una reducción estadísticamente significativa de diversos sectores en esta capa en comparación al grupo HF- ApoE ϵ 4- (40-60 años). Los estudios morfométricos han demostrado disminuciones importantes de la densidad sináptica (25-35%) entre 2 y 4 años antes de la aparición de los síntomas cognitivos de la enfermedad de Alzheimer, así como asociaciones entre la concentración de A β en el cerebro y el grado de pérdida sináptica¹⁰⁹. Otra posible explicación de este adelgazamiento precoz de ciertos sectores es la acumulación de P τ tóxica hiperfosforilada, que se encuentra aumentada en la retina de los pacientes con DCL y EA en comparación con los controles, y que también se asocia con la pérdida sináptica retiniana y la atrofia neuronal, lo que sugiere una susceptibilidad específica de las neuronas retinianas en la EA, al igual que ocurre en el cerebro¹⁰⁵³.

En la CNI, encontramos una disminución significativa del grosor en el sector foveal y en el sector inferior del anillo macular externo en el grupo HF+ ApoE ϵ 4+. Solo un estudio previo analizó el

grosor de todas las capas de la retina en la etapa preclínica de la EA, aunque no encontró diferencias en la CNI en comparación con el grupo control ⁸⁵². La ausencia de cambios en esta capa podría deberse a que esta muestra presentaba quejas subjetivas de memoria, ya que se encontraban en un estadio más avanzado que nuestros sujetos cognitivos sanos con alto riesgo de desarrollar demencia.

En cuanto a las capas externas de la retina, el sector inferior del anillo macular externo de la CPE fue el único con adelgazamiento significativo. Además, encontramos que los mismos sectores que mostraron una ligera disminución de espesor no significativa en la CPE (nasal e inferior) también mostraron un ligero aumento no significativo en la CNE. En un estudio anterior en el que realizamos un análisis espacial de los cambios de grosor en las capas de la retina de pacientes con EA medidos por OCT, descubrimos que el uso de anillos concéntricos podía detectar el engrosamiento y adelgazamiento de las capas vecinas dentro de la misma región. Por esta razón, los cambios de espesor de las capas adyacentes pueden compensarse ⁸⁵⁸. Además, solo en los sujetos preclínicos que informaron quejas subjetivas de memoria se detectaron cambios significativos en el grosor de la CNE, con respecto al grupo control, que se explicaron como una posible consecuencia de la degeneración transináptica retrógrada ⁸⁵².

En cuanto al grosor del EPR, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre nuestros grupos de estudio en ninguno de los sectores analizados. Ningún estudio previo ha analizado esta capa en pacientes preclínicos. En pacientes con EA establecida no se han reportado cambios significativos en esta capa ^{798,814}.

Como era de esperar, en el presente trabajo no encontramos cambios significativos en ninguno de los sectores peripapilares de la CFNRp. Sin embargo, en pacientes con EA moderada encontraron una disminución del grosor estadísticamente significativa en comparación con el grupo control. Los cambios en esta área peripapilar se han asociado con la progresión de la enfermedad y el avance del deterioro cognitivo, determinado por la puntuación del MMSE ⁷⁹⁸.

8.3 Correlación entre volúmenes y grosores retinianos y volúmenes y grosores de áreas cerebrales

Cuando en nuestros participantes de estudio analizamos el grosor y volumen cortical de diferentes estructuras cerebrales no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los grupos HF+ ApoE ϵ 4+ y HF- ApoE ϵ 4-. Solamente encontramos que el istmo cingulado casi alcanza significación estadística entre ambos grupos de estudio. Aunque esta región está clásicamente implicada en la degeneración de la EA, no podemos evaluar su importancia, ya que

ella misma se ve afectada por todas las demás regiones en nuestra investigación. En el presente estudio, se observó una tendencia de mayor volumen, sin alcanzar significación estadística, en diferentes áreas cerebrales en el grupo FH+ ApoE ϵ 4+ en comparación con el grupo FH- ApoE ϵ 4-. Clásicamente, se ha reportado que los sujetos portadores de al menos un alelo ϵ 4 para ApoE, a lo largo del continuo temporal de la enfermedad y desde varias décadas antes, presentan una reducción del volumen del hipocampo^{526,1054-1056} o una atrofia focal de esta zona^{1057,1058}. No obstante, se ha descrito una reacción inflamatoria mediada por la progranulina en pacientes en fases tempranas de la enfermedad, que ya presentan marcadores positivos para A β , lo que también contribuye a producir cambios estructurales neuroinflamatorios en fases preclínicas de la enfermedad¹⁰⁵⁹.

Desde otro punto de vista, se ha demostrado con anterioridad que, en comparación con el grupo de control sanos, los pacientes con DCL mostraban una marcada disminución de la conectividad funcional en las áreas posteriores, acompañada de un aumento en las regiones anteroventrales del cerebro, lo que representa la característica común del fallo de la red a partir de las fases predemenciales de la enfermedad, como mecanismo compensatorio¹⁰⁶⁰. Aunque no se ha demostrado que este aumento de la conectividad requiera un aumento de volumen, sigue siendo plausible que el aumento de la plasticidad neuronal necesario para producirlo conlleve un aumento físico transitorio de las estructuras de la red.

Tanto si se considera la hipótesis compensatoria o inflamatoria, una última explicación posible para este ligero aumento no significativo del volumen en nuestros participantes, podría deberse a un artefacto estadístico siendo necesario comprobarlo en estudios más extensos y longitudinales.

Nuestro grupo de estudio de HF+ ApoE ϵ 4+ mostró una disminución de volumen estadísticamente significativa en el área macular en diferentes sectores de la retina en comparación con el grupo FH- ApoE ϵ 4-. Estos resultados concuerdan con nuestro estudio anterior, en el que observamos que existe un adelgazamiento de ciertos sectores retinianos en los familiares con alto riesgo genético para el desarrollo de la EA⁸⁵⁰.

Se ha observado que los antecedentes familiares de EA y el gen ApoE ϵ 4 estaban asociados a un adelgazamiento en la corteza entorrinal, el subículo y el lóbulo temporal medial, siendo estos factores aditivos entre sí¹⁰⁶¹ y siendo estas estructuras las primeras en mostrar signos de EA⁵⁰⁶. Sin embargo, en nuestro trabajo no se observaron cambios cerebrales estadísticamente significativos entre los participantes con HF+ ApoE ϵ 4+ y HF- ApoE ϵ 4-. Este resultado está

respaldado por estudios anteriores que demostraron que los cambios retinianos aparecen antes que los cerebrales ^{858,879,1062,1063}. Además, estas alteraciones retinianas, que podrían producirse a través de una neurodegeneración transneuronal retrógrada ¹⁰⁶⁴ podrían estar asociadas a cambios cerebrales atróficos ya presentes antes de la aparición de los síntomas ^{913,1065}.

La relación entre el cerebro y la retina se ha analizado en otras poblaciones sin historia familiar de EA y gen ApoE ϵ 4. Existen estudios previos que analizaron estas correlaciones en adultos mayores normales con edades medias de $68,0 \pm 5,3$ años, en los que el grosor de la CFNRp en el cuadrante temporal se asoció con el volumen del lóbulo temporal medial y el volumen del hipocampo, mientras que el cuadrante inferior se asoció significativamente con el volumen del lóbulo occipital y selectivamente con la subestructura del volumen del giro lingual ⁹¹². En nuestro trabajo, a diferencia de Shi et al., no encontramos una correlación entre los cuadrantes inferiores de la CFNRp y el volumen del lóbulo occipital.

En un trabajo reciente realizado en una población de edad avanzada (edad media: $65,1 \pm 9,0$ años), se observó una correlación positiva entre el grosor de la CFNRp y el grosor del hipocampo derecho e izquierdo [42]. Asimismo, Méndez-Gómez et al., en una población mayor, de $80,8 \pm 3,9$ años, encontraron una correlación directa entre la CFNRp y la fracción del hipocampo ⁹¹¹. En concordancia con estos autores, encontramos una correlación directa en el grupo HF+ ApoE ϵ 4+ entre el grosor de la región inferotemporal de la CFNRp con: i) el grosor del cíngulo posterior derecho e izquierdo, ii) el istmo cingulado derecho e izquierdo, siendo éstos, áreas del hipocampo; y iii) el volumen del diencéfalo ventral derecho. La asociación entre la retina y el volumen del lóbulo temporal medial puede indicar una degeneración en ambos tejidos al mismo tiempo, precediendo a los cambios cognitivos clínicos en participantes cognitivamente sanos con riesgo de EA ⁹¹³.

En un estudio longitudinal de 12 meses, con participantes con una edad media de $71,8 \pm 3,9$ años, se observó una asociación inversa entre la reducción media del grosor de la CFNRp y la disminución del volumen de la corteza cingulada central. Además, la reducción del grosor de la CFNRp en los cuadrantes inferiores se asoció con la disminución del volumen de la corteza cingulada central ¹⁰⁶⁶. Nosotros encontramos la misma correlación entre el grosor de la CFNRp inferotemporal y el grosor del cíngulo posterior en nuestros participantes HF+ ApoE ϵ 4+. Una posible explicación de las diferencias entre los estudios anteriores y nuestro trabajo podría ser que nuestros participantes son adultos jóvenes con una edad media de $58,8 \pm 6,0$ años y sólo aceptamos valores de MMSE > 26 , mientras que, en los estudios de Shi y sus colaboradores, aceptaron valores de la versión china del Mini-Mental State Examination (CMMSE) de ≥ 24 . Esta

cuestión es importante, porque los valores cognitivos normales están por encima de 26, y los valores inferiores podrían enmascarar estadios previos de la enfermedad, como quejas subjetivas de memoria o DCL. Además, no encontramos diferencias significativas en el grosor de la CFNRp entre nuestros grupos de estudio. Se sabe que la alteración del grosor de la CFNRp es un buen marcador de la progresión de la enfermedad ⁷⁹⁸. Por otra parte, los cambios en esta capa retiniana se asocian a una mayor susceptibilidad a la acumulación de ovillos neurofibrilares y al depósito de placas amiloides en el lóbulo occipital y el lóbulo temporal inferior, que forman parte del córtex de asociación visual ^{893,1067}.

Ong et al. observaron, en un grupo de 164 pacientes de entre 40 y 85 años, entre los que se encontraban pacientes con deterioro cognitivo sin demencia (n = 125), participantes cognitivamente sanos (n = 36) y personas con demencia (n = 3), que el adelgazamiento del complejo CGR-CPI se asocia con una reducción de la materia gris en el volumen del lóbulo occipital y temporal ¹⁰⁶⁸. En otro estudio realizado en 79 adultos neurológicamente normales con una edad media de $76,0 \pm 5,5$ años, la reducción de la CFNRp y la disminución del volumen macular total y del volumen del GCL se asociaron significativamente con una disminución de los volúmenes temporales mediales del hipocampo, la región parahipocampal y la región entorrinal ⁹¹³. En un estudio realizado por Mutlu et al, como parte del Estudio de Rotterdam, en pacientes de edad avanzada ($67 \pm 9,8$ años) con valores de MMSE de $28 \pm 1,7$, sólo se analizaron los datos de las mediciones del espesor de las CCG, CPI y CFNRp en relación con el volumen cerebral y el volumen del hipocampo [48]. En este estudio, se encontró que el adelgazamiento de estas capas de la retina estaba significativamente asociado con un menor volumen cerebral y un menor volumen del hipocampo, encontrando que este adelgazamiento de la retina estaba asociado con el adelgazamiento de la materia gris y blanca del cerebro ¹⁰⁶⁹. Chua et al., en un amplio estudio (2131 participantes) basado en la población con edades comprendidas entre los 40 y los 69 años, también descubrieron que el adelgazamiento de la CCG y el grosor macular total se asociaban significativamente con un menor volumen del hipocampo ¹⁰⁷⁰. Estos hallazgos son consistentes con otro estudio realizado en 20 pacientes cognitivamente sanos y más jóvenes ($50,5 \pm 14,1$ años), en el que se encontró que el volumen de materia gris entorrinal estaba correlacionado con el complejo CGR-CPI ¹⁰⁷¹. En nuestro grupo HF- ApoE $\epsilon 4$ -, hubo una correlación significativamente inversa en la CPI entre los volúmenes del sector macular nasal externo y los volúmenes de la región parahipocampal izquierda, la región entorrinal derecha, el lóbulo temporal medial derecho e izquierdo, el hipocampo derecho e izquierdo, la circunvolución lingual derecha, el cuneus izquierdo, el diencéfalo ventral derecho y la amígdala izquierda. Además, hubo una correlación inversa significativa en esta capa retiniana entre el sector macular

inferior externo y el entorrinal derecho, el lóbulo temporal medial derecho, el diencéfalo ventral derecho, el hipocampo derecho y la amígdala derecha e izquierda.

Los portadores del $\epsilon 4$ para el ApoE presentan un adelgazamiento de la corteza entorrinal en el hemisferio izquierdo en comparación con el hemisferio derecho, independientemente de la edad o el estado cognitivo ¹⁰⁷². En nuestros participantes con FH- ApoE $\epsilon 4-$, hubo una correlación significativa entre el grosor entorrinal izquierdo con el volumen retiniano CO en el INL. La asimetría del grosor de la corteza cerebral en la región entorrinal asociada a la presencia de un alelo ApoE ¹⁰⁷³, puede reflejar en sí misma la patología, pero podría conducir a futuros patrones de distribución espacial y temporal de los cambios patológicos ¹⁰⁷². Este hecho puede explicar, por qué en nuestros participantes con ApoE $\epsilon 4+$, la correlación entre el sector nasal de la CFNRp con el volumen entorrinal derecho fue más fuerte que en los participantes ApoE $\epsilon 4-$.

Como puede observarse en los resultados presentados, la mayoría de las correlaciones encontradas entre los sectores maculares y las estructuras cerebrales en los participantes HF- ApoE $\epsilon 4-$ son inversas, mientras que en los participantes con alto riesgo genético para la forma senil esporádica de la EA (HF+ ApoE $\epsilon 4+$), fueron en su mayoría directas. Esto podría deberse a la presencia o no del gen ApoE $\epsilon 4$, como ya hemos visto en la retina ⁸⁵⁰, así como a los diferentes comportamientos en el sistema nervioso central generados por la presencia de este gen ¹⁰⁷². Cuando el alelo $\epsilon 4$ del ApoE está presente, podrían producirse cambios al mismo tiempo en la retina y en diferentes áreas cerebrales, ya sea por la acumulación de A β o de la proteína tau, o por cambios estructurales cerebrales que serían concomitantes con los cambios retinianos. Sin embargo, la ausencia del gen ApoE $\epsilon 4$ podría generar un comportamiento diferente, ya que las correlaciones son inversas y un cambio en las estructuras cerebrales no se acompañaría de cambios retinianos, porque no estarían relacionados con él o no serían concomitantes en su génesis.

8.4 Cambios en los test psicofísicos

Se han descrito previamente diferentes alteraciones visuales asociadas a diversas enfermedades neurológicas. De hecho, en la EA los pacientes muestran una disminución de la AV y de la SC incluso en los estadios más leves de la misma ⁷³¹, manteniéndose estos cambios estables en las fases más avanzadas ⁷⁹⁸. Diferentes autores han encontrado pérdidas de AV en estos pacientes ^{808,809,1074}, e incluso de alucinaciones cuando la alteración visual es grave ^{810,811}. Otros autores, sin embargo, no han encontrado diferencias significativas ^{802,806}.

En el presente estudio, encontramos un aumento temprano de la AV asociado a un mayor riesgo de demencia futura, tanto al comparar HF+ frente a HF-, como al comparar subgrupos más restringidos y pequeños dentro de un rango de edad limitado y las diferencias de mayor riesgo (HF+ ApoE ϵ 4+ 40-60 vs HF- ApoE ϵ 4- 40-60). El hecho de que esta diferencia se encuentre en ambos sistemas de clasificación sugiere que se trata de un indicador estable del estado de la función visual en las etapas preclínicas de la EA.

La disminución de la SC en el DCL o en el DSC se ha asociado a los depósitos de tau y A β en las regiones cerebrales parietal, temporal y especialmente occipital ¹⁰⁷⁵. Los estudios realizados en pacientes con DCL han encontrado una disminución general significativa de la SC en todas las frecuencias, en todo el campo visual, cuando se mide mediante la tecnología de doble frecuencia ^{1026,1075,1076}.

Con el envejecimiento se producen cambios de comportamiento asociados a la visión, como la disminución de la agudeza visual y la disminución de la sensibilidad al contraste en frecuencias espaciales medias y altas ¹⁰⁷⁷⁻¹⁰⁷⁹. En nuestro estudio se encontró un patrón muy interesante, mientras que el grupo HF+ ApoE ϵ 4+ 40-60 muestran una mayor SC en frecuencias espaciales altas (12cpd) en comparación con el grupo de HF- ApoE ϵ 4- 40-60, el grupo de HF+ >60 muestran una disminución en frecuencias espaciales bajas (3cpd), en comparación con HF- >60.

El aumento de la AV y de la SC en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad parece contradecir los hallazgos anteriores que apuntaban a un empeoramiento progresivo de estas capacidades visuales en las fases clínicas. Proponemos dos posibles explicaciones. Por un lado, el aumento de las capacidades de la función visual podría ser una manifestación de una respuesta compensatoria temprana a la pérdida progresiva de tejido retiniano evidenciada por la disminución del grosor de la retina. Por otro lado, el aumento de la función visual podría ser simplemente una manifestación de la hiperexcitabilidad de las células de la retina debido a la acumulación de A β . Es bien sabido que la acumulación de A β afecta al funcionamiento normal de las neuronas inhibitoras en el cerebro ¹⁰⁸⁰ y pruebas recientes sugieren que esto podría estar mediado por una alteración del sistema dopaminérgico ¹⁰⁸¹. En la enfermedad de Parkinson, donde el sistema dopaminérgico está deteriorado, se observa una pérdida de células dopaminérgicas y de su contacto sináptico con las células amacrinas ¹⁰⁸². Es posible que la actividad dopaminérgica moduladora en la retina de los individuos con riesgo de desarrollar EA se vea afectada de forma similar por el depósito de A β , dando lugar así a una hiperexcitabilidad temprana y a un aumento de la AV y de la SC, que se volvería tóxica y produciría la pérdida de función observada en fases posteriores de la enfermedad.

Con el envejecimiento también se produce una disminución del CV normal y un aumento de la mancha ciega. También se origina una disminución del número de conos en la fóvea lo que produce una reducción generalizada en la discriminación del color¹⁰⁸³. En nuestros participantes no encontramos cambios estadísticamente significativos en la percepción del color, en el test de percepción al color, el TDP o el CV. Los estudios que analizan la visión del color en pacientes con EA muestran resultados controvertidos. Mientras que existen estudios que utilizando los test como el de Ishihara y Farnsworth no encontraron diferencias en la percepción del color entre los pacientes con EA y sujetos sanos^{817,827,828}, otros autores sí que han reportado diferencias significativas^{730,798,832,833,1084}. Un estudio reciente utilizando un nuevo test de placas RGB concluyó que los déficits en la visión del color en pacientes con EA pueden usarse como biomarcadores prometedores en la detección temprana de la enfermedad¹⁰⁸⁵. Estos problemas en la discriminación de los colores parecen relacionarse con el daño de las estructuras responsables de la percepción de los estímulos de color⁸³⁵. Una posible explicación a este defecto de discriminación es la alteración de la corteza extraestriada en los pacientes con EA, la cual se ha relacionado con déficits en el eje tritán⁸⁰⁰. Otra posible explicación es la reducción del grosor y el volumen del área más periférica de V4 que es una región muy importante para el procesamiento de la visión del color^{1086,1087}. En pacientes con EA establecida también se ha descrito una alteración en la capa de los fotorreceptores debido al descenso de la melatonina⁸⁰⁰. La degeneración no presenta especificidad por un tipo de cono en particular¹⁰⁸⁸, pudiendo este hecho explicar porque la deficiencia adquirida en los pacientes con EA no se relaciona con un eje en concreto. El depósito de A β en esta capa de la retina también puede contribuir a la degeneración de los fotorreceptores como ha mostrado el estudio en el que encontraron una disminución del EPR la cual se correlacionaba con el grado de deterioro cognitivo¹⁰⁸⁹. Hay que recordar que nuestros sujetos son cognitivamente sanos, por lo que las alteraciones a nivel de la corteza cerebral, los descensos de melatonina o la presencia de A β no deberían estar presentes, apoyando esto los valores normales que tuvieron en las pruebas de la percepción al color.

8.5 Correlación entre pruebas psicofísicas y magnetoencefalografía

Existen inconsistencias en la literatura sobre la existencia de cambios en la latencia y amplitud de la onda P100 en la EGG (análogo al M100 que se ha analizado en nuestros participantes) entre los pacientes con EA. Muchos estudios, especialmente los que no están diseñados específicamente para medir la función visual, sino otros dominios como el funcionamiento cognitivo, encontraron la ausencia de alteraciones en la latencia y amplitud de la P100.¹⁰⁹⁰ Otros estudios, especialmente los diseñados específicamente para evaluar los potenciales

evocados visuales (PEV), demostraron un retraso significativo en la latencia de la P100, así como de una reducción significativa de su amplitud en los pacientes con EA cuando se comparan con los controles sanos ¹⁰⁹¹⁻¹⁰⁹³. Estos estudios hacen evidente que la medición de las diferencias del potencial visual primario en este tipo de pacientes no es una tarea fácil.

En consecuencia, no parece sorprendente que no se encuentren diferencias directas, en la latencia del M100 o en la actividad de la frecuencia temporal entre los sujetos de alto y bajo riesgo que aún no han desarrollado síntomas clínicos. Sin embargo, el hecho de que las correlaciones de estas dos variables con la AV parezcan comportarse de forma diferente entre los grupos, siendo bastante fuertes para el grupo de alto riesgo y prácticamente inexistentes en el grupo de bajo riesgo, podría ser un primer indicador de una diferencia en los sustratos biológicos de sus sistemas visuales ¹⁰⁹⁴.

Se ha comprobado que la P100 se retrasa y presenta una menor amplitud en las enfermedades del nervio óptico y en las enfermedades maculares ¹⁰⁹⁴. La degeneración del nervio óptico y de la retina está bien documentada en la enfermedad de Alzheimer ^{719,1095}. Además, un estudio reciente de Ramírez-Toraño et al. ¹⁰⁹⁶ ha encontrado una disminución de la conectividad estructural en varias redes visuales en sujetos con alto riesgo de desarrollar la enfermedad. De este modo, la correlación encontrada entre la agudeza visual y la latencia del M100 sólo en el grupo de alto riesgo podría ser un indicador temprano de anomalías en estos sustratos biológicos, que podrían afectar tanto a la agudeza visual como a los potenciales visuales tempranos.

En cuanto a la correlación entre la actividad visual primaria y el grosor de la retina, el único resultado significativo fue una correlación negativa entre la latencia M100 y el grosor del sector inferior del anillo macular externo de la CPI. Sin embargo, hubo una tendencia a las correlaciones negativas con la latencia M100 en los sectores inferiores tanto del anillo interno y externo de la CPI y de la CNI. Los sectores inferiores de la CPI fueron los únicos sectores en los que se encontraron correlaciones significativas. Sin embargo, estos conjunto de datos no alcanzaron la significación después de la corrección para las comparaciones múltiples.

Se encontró una sólida asociación entre la AV y la actividad visual primaria en sujetos con riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer; mostrando una correlación positiva significativa con la latencia M100 y la actividad TF en sujetos con HF+ y sujetos HF+ ApoE ε+. Curiosamente, estas correlaciones se encontraron en los mismos grupos que experimentaron un aumento inesperado de la AV. Es destacable que sólo los grupos de alto riesgo mostraron alteraciones

morfológicas asociadas a respuestas fisiológicas alteradas en la corteza visual primaria. Como la única variable que diferencia a los grupos es su mayor riesgo de desarrollar demencia, es natural pensar que los hallazgos de este estudio podrían demostrar alteraciones fisiológicas iniciales íntimamente asociadas a la progresión de las etapas preclínicas de la enfermedad. Esto sugiere que esta función podría ser utilizada como un indicador para evaluar el estado del sistema visual. Además, dado el patrón de cambios en las diferentes etapas de la enfermedad, podría constituir un biomarcador fácilmente accesible y no invasivo para seguir la progresión de la patología.

Mientras que la literatura previa sobre este tema apunta a latencias más largas y amplitudes disminuidas en la EA, el patrón encontrado en relación con la función visual sugiere lo contrario, ya que el grupo con mayor riesgo presentó un aumento de la agudeza visual y de la sensibilidad al contraste, asociado también en este grupo a latencias más cortas y actividades de frecuencia temporal más altas. Por lo tanto, parece que los hallazgos del presente estudio representan una respuesta fisiológica única para una etapa preclínica que podría modificarse a lo largo del continuo de la enfermedad. Un ejemplo de diferencias similares dependientes de la etapa puede encontrarse en un estudio de Parka et al.¹⁰⁹⁷ que encontraron, en un modelo animal de taupatía, que las respuestas de los PEV a un estímulo luminoso diferían entre los ratones controles y los transgénicos a lo largo de la edad: a los 6 meses de edad, las respuestas de los PEV eran mayores en los animales transgénicos que en los controles; a los 9 meses, la diferencia disminuía; y, a los 16 meses de edad, los PEV de los ratones transgénicos eran más débiles en comparación con los controles. Dado que la muestra utilizada en nuestro estudio es cognitivamente sana y relativamente joven en comparación con la edad habitual de aparición de los síntomas de la enfermedad, su estado fisiopatológico podría ser comparable con el de la fase inicial del modelo animal, en la que los ratones transgénicos presentan mayores PEV. Estos resultados podrían apuntar a una hiperactivación temprana del sistema visual, que puede estar asociada a un mecanismo compensatorio, o a un mal funcionamiento que finalmente conduce a la toxicidad. Estudios electrofisiológicos anteriores que evaluaban la progresión de la EA han encontrado este tipo de resultados aparentemente contradictorios al abordar las diferentes etapas de la enfermedad. Por ejemplo, los patrones de conectividad de varias áreas clásicamente afectadas en la enfermedad de Alzheimer están disminuidos^{1098,1099} pero se ha encontrado un patrón diferente de alteraciones en los estadios preclínicos y prodrómicos, e incluso en sujetos de alto riesgo, mostrando una hiperconectividad de estas áreas que progresa hacia la hipoconectividad a lo largo del continuo de la enfermedad^{1060,1100,1101}. Un intento de explicar este patrón dio lugar al desarrollo del "modelo X"¹¹⁰², que predice la conversión de DCL a EA basándose en la hipsincronización de la actividad oscilatoria cerebral en las regiones corticales afectadas por

el depósito de amiloide. El sistema visual podría presentar un perfil similar con un aumento temprano de la actividad que podría explicar los resultados obtenidos en estos estudios.

Las regiones del cerebro que sufren la mayor pérdida de sinapsis y la muerte neuronal en la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío incluyen: el hipocampo, la corteza entorrinal, el lóbulo temporal medial, el córtex frontal y el córtex parietal inferior. Otro desafío es que, aunque se ha reconocido que la EA es un trastorno de los sistemas cerebrales a gran escala, a menudo se ha estudiado centrándose en una sola región vulnerable (o en múltiples regiones no relacionadas). La razón del enfoque regional en tales estudios fue, en parte, una cuestión de practicidad; sin embargo, también tiene que ver con las limitaciones de las técnicas para estudiar sistemas cerebrales distribuidos. Esta perspectiva ha cambiado en los últimos años. Por ejemplo, con el desarrollo de la conectividad funcional y estructural, la resonancia magnética y los métodos basados en la teoría de grafos, ahora sabemos que, en lugar de aparecer en regiones funcionalmente no relacionadas, la neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer ocurre dentro de los límites de redes de conectividad estructural/funcional bien conocidas.

8.6 Caracterización de las drusas retinianas

Uno de los aspectos que debemos reseñar es que en la población de estudio ninguno de los participantes presentaba drusas blandas. Esto es debido a la estricta selección de la población del estudio y a los criterios de inclusión del mismo, en los que los sujetos no debían presentar modificaciones estructurales maculares.

Las drusas pequeñas y duras se encuentran comúnmente en sujetos jóvenes y de mediana edad sanos⁹³⁸ y un gran número de ellas pueden ser predictoras de drusas blandas¹¹⁰³. Sin embargo, aún se desconoce la importancia de las drusas pequeñas y duras en sujetos jóvenes con una función visual normal¹¹⁰⁴. Además, el fenotipo de drusas duras suele aparecer en los ojos de personas mayores que no muestran una agudeza visual reducida y no se ha podido concluir que la presencia de este tipo de drusas conduzca al desarrollo de la DMAE⁹⁷¹

Estudios previos han asociado la presencia de drusas y DMAE con la EA^{942,949}. Esto se debe a que la patogénesis de ambos trastornos neurodegenerativos crónicos muestra algunas similitudes llamativas, como su relación con el envejecimiento, su etiología desconocida y, más concretamente, la presencia de placas seniles (extracelulares con un núcleo interno de fibras peptídicas de A β) tanto en la sustancia gris cerebral como en la retina¹¹⁰⁵. Aunque algunos trabajos anteriores han intentado analizar el contenido de las drusas en relación con otras enfermedades neurodegenerativas, no se ha llegado a ninguna conclusión sólida^{980,985}. Las

drusas pueden contener un gran número de estructuras de A β , con diámetros que varían entre 0,25 y 10 μ m y capas concéntricas muy organizadas cuando se observan al microscopio electrónico, o ninguna⁹⁸⁰. Además, el A β está implicado en la activación del complemento en la formación de las drusas⁹⁷¹.

Se desconoce el motivo exacto por el que las fibrillas amiloides son difíciles de detectar en las drusas, pero una posible razón es el ritmo de renovación de los oligómeros y las fibrillas⁹⁸⁵. Los oligómeros de A β tienen una mayor tasa de producción y una menor capacidad de eliminación, mientras que las fibrillas tienen una tasa de formación más lenta y una mayor tasa de eliminación, y en las condiciones adecuadas pueden ser estables durante largos periodos de tiempo^{1106,1107}. Además, se sabe que los oligómeros de A β encontrados en las drusas son más peligrosos que las fibrillas de A β , siendo estas últimas casi inexistentes. Estos oligómeros amiloides son tóxicos para el epitelio pigmentario de la retina humana y para las células de neuroblastoma humano SH-SY5Y cultivadas⁹⁸⁵, y estos hallazgos son consistentes con los estudios realizados en pacientes con EA temprana, en los que se encuentran grandes cantidades de estos oligómeros altamente tóxicos en el cerebro, causando disfunción neuronal e interrupción sináptica¹¹³[38]. Esto podría explicar las posibles alteraciones encontradas tanto en la retina como en la coroides de los sujetos con alto riesgo genético de desarrollar EA, que también forman parte de este estudio, y que han sido reportadas previamente^{850,992}. También hemos demostrado estas alteraciones en la retina de un modelo murino de EA preclínica⁸⁷⁹. Todos estos hallazgos siguen apoyando la idea de que los cambios producidos por la EA pueden aparecer tempranamente en la retina, incluso antes de la aparición de las alteraciones cerebrales⁷²⁴.

En el presente estudio, no parece haber una relación entre la historia familiar de la EA y la presencia o ausencia de drusas. Mientras que en el grupo HF- de EA el 63,79% de los participantes presentaban drusas, en el grupo HF+ de EA éstas se observaban en el 61,53% de los sujetos. Además, cuando comparamos el número de drusas y su tamaño entre estos dos grupos de estudio, no encontramos diferencias significativas.

Entre los factores de riesgo genético más importantes para el desarrollo de la EA y que ya se han explicado previamente, la presencia de al menos un alelo ϵ 4 para el gen ApoE, aumenta el riesgo de desarrollar la forma esporádica de la enfermedad entre 4 y 12 veces⁹⁵⁸. Sin embargo, el efecto del alelo ϵ 2 es controvertido. Algunos autores consideran que este alelo aumenta el riesgo de desarrollo de DMAE y un mayor riesgo de progresión en comparación con las otras isoformas⁹⁵⁰, mientras que otros autores no encuentran evidencia de la relación entre este alelo

y la DMAE, algunos incluso muestran que la isoforma 2 tiene un papel protector en las formas húmedas de la enfermedad ^{1108,1109}. Otros autores no encuentran una asociación entre las isoformas del ApoE y el desarrollo de DMAE ^{1110,1111}, incluso consideran que el alelo $\epsilon 4$ no es un factor protector de la DMAE siendo un factor de riesgo para desarrollarla ¹¹¹². Por el contrario, otros autores han informado de que esta isoforma sólo es protectora en el desarrollo de las formas avanzadas y húmedas de la DMAE ¹¹¹³

Cuando se analizaron las drusas en función de la presencia o ausencia de alelos $\epsilon 4$, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Además, cuando analizamos las características de las drusas según la caracterización alélica de la ApoE, tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas.

En cuanto al papel protector de la ApoE $\epsilon 4$ en relación con el desarrollo de la DMAE, se han desarrollado dos hipótesis para explicar este efecto. La primera es la ausencia de puentes disulfuro en la ApoE 4, lo que la hace de menor tamaño y más fácilmente transportable a través de la membrana de Bruch. La segunda hipótesis es que la ApoE 4 tiene una carga positiva, lo que disminuye la hidrofobicidad de la membrana de Bruch y facilita la eliminación de los residuos ⁹⁵⁴. Sin embargo, nuestros participantes tienen drusas duras, por lo que no sabemos si desarrollarán DMAE en el futuro, a pesar de tener al menos un alelo E4.

Se ha demostrado que los factores de riesgo no genéticos desempeñan un papel importante en el desarrollo de la EA, y es probable que la interacción entre los factores genéticos y ambientales desencadene el inicio de los acontecimientos fisiopatológicos que, en última instancia, conducen al desarrollo de esta enfermedad neurodegenerativa ⁹⁴⁹. Parece existir una relación entre la acumulación de factores de riesgo cardiovascular, como la hipertensión, la hipercolesterolemia, la diabetes, y la edad ¹¹¹⁴.

Al analizar las características de las drusas en función de los antecedentes familiares, los alelos de la ApoE y la presencia o ausencia de HCOL, encontramos que hay diferencias estadísticamente significativas en el número de drusas. Así, los sujetos que no tienen antecedentes familiares de la enfermedad y no son portadores de ningún alelo $\epsilon 4$ pero sí tienen HCOL (HF- ApoE $\epsilon 4$ - HCOL+) tienen un número estadísticamente mayor de drusas que aquellos familiares de EA sin alelos $\epsilon 4$ y con colesterol (HF+ ApoE $\epsilon 4$ - HCOL+) y que aquellos familiares de EA con alelos $\epsilon 4$ y HCOL- (HF+ ApoE $\epsilon 4$ + HCOL-).

Cuando estudiamos el grosor de la coroides de estos grupos de estudio, descubrimos que los participantes con drusas tienen coroides más finas que los sujetos sin drusas, lo que fue estadísticamente significativo en el grupo HF+ ApoE ϵ 4- HCOL+ HD+ en comparación con el grupo HF+ ApoE ϵ 4- HCOL+ HD-. Esto sugiere que la presencia de colesterol junto con la ausencia de alelos ϵ 4 en la caracterización ApoE puede conferir un mayor riesgo de drusas en la retina. Esto puede deberse a que el mayor riesgo conferido por los alelos ϵ 2 y, en menor medida, ϵ 3 se ve agravado por la formación de placas de aterosclerosis y la acumulación de depósitos de lípidos en el ojo causados por los altos niveles de VLDL en la sangre. No se sabe si la formación de estas drusas está causada por cambios en la retina externa debidos al estrés metabólico asociado al metabolismo de los ácidos grasos o por cambios de perfusión en la coroides debidos a la arteriosclerosis ¹¹¹⁵. Los cambios en la membrana de Bruch, el EPR y las capas de la retina, así como las alteraciones vasculares, serían los responsables de la isquemia crónica ¹¹¹⁶, que podría aumentar la concentración de glutamato extracelular, lo que provocaría un daño oxidativo por un mecanismo citotóxico neuronal ^{1117,1118}.

Por otro lado, los depósitos de lípidos en una membrana de Bruch alterada crean una barrera hidrofóbica que obstruye el intercambio metabólico entre la coriocapilar y el EPR ^{1116,1119}. Esta situación puede contribuir a reducir el suministro de nutrientes y oxígeno a la retina, situación que puede desempeñar un papel patogénico en el desarrollo de la DMAE ⁹⁶⁵. Estudios anteriores también han demostrado que las células del EPR secretan ApoE en respuesta a diversas hormonas y que está relacionada con el HDL. Esto sugiere un posible papel de la ApoE en la patología de la DMAE relacionada con el tráfico de lípidos en la retina ¹¹²⁰. Aunque los sujetos con HCL fueron tratados farmacológicamente, sabemos por estudios anteriores que la normalización de los niveles de lípidos no va seguida de una recuperación completa de la histología retiniana normal ¹¹²¹ y que los cambios retinianos restantes se deben principalmente a la isquemia crónica sostenida causada por alteraciones en los vasos retinianos, la membrana de Bruch y el EPR ¹¹¹⁹. Estas situaciones isquémicas tienen un impacto perjudicial en las neuronas de la retina ¹¹¹⁹.

No encontramos diferencias estadísticamente significativas de la ZAF de la retina en estos grupos de estudio. Estos hallazgos apoyan los resultados en los que no se encontraron alteraciones en el flujo vascular retiniano en sujetos con alto riesgo genético de desarrollar EA ⁹⁹². En los pacientes con EA establecida, pero en fases tempranas de la misma, no se encontraron cambios en la ZAF ni en el porcentaje de oxihemoglobina medido en la cabeza del nervio óptico. Estos hallazgos demuestran que el plexo vascular coroideo se ve afectado de forma temprana,

incluso preclínica, en la EA y que el plexo retiniano se ve afectado en fases avanzadas de la enfermedad ⁷⁶³.

Sin embargo, cuando analizamos a los sujetos en relación con la tensión arterial, encontramos que los sujetos del grupo HF- ApoE ε4- HTA- tenían un mayor número de drusas que el grupo HF+ ApoE ε4+ HTA+. Este hallazgo vuelve a poner de manifiesto la importancia de la presencia de los alelos ε2 y ε3 con la presencia de drusas en la retina, y no parece haber una relación entre las drusas y el nivel de tensión arterial de los participantes. Una posible explicación es que los sujetos del estudio tenían sus niveles de presión arterial controlados mediante un tratamiento farmacológico y, por tanto, se encontraban en niveles normales.

No pudimos asociar la presencia de diabetes mellitus con la presencia de drusas debido al escaso número de sujetos con esta patología en nuestros grupos de estudio.

8.7 Análisis de la vascularización

Los cambios en la vascularización de la retina se han identificado como potenciales biomarcadores de la EA ^{757,1122,1123}

8.7.1 Análisis de la medida de la coroides

Una de las capas vasculares oculares más importantes es la coroides, cuyo flujo es suministrado por las arterias ciliares posteriores, que son ramas de la arteria oftálmica ¹¹²⁴. La coroides tiene uno de los flujos sanguíneos más altos de cualquier tejido del cuerpo, y su función principal es proporcionar nutrientes y oxígeno a la retina externa, incluyendo el EPR y los fotorreceptores ^{872,1125}. La circulación coroidea está controlada principalmente por la inervación autonómica y sensorial y no por un mecanismo de autorregulación ^{1124,1126}. Las fibras nerviosas que regulan la vascularización coroidea se localizan predominantemente en la región submacular, donde también se concentran la mayoría de las células ganglionares NPY+ y TH+ ¹¹²⁷. Esta distribución neuronal en la región submacular sugiere la posibilidad de que las condiciones vasculares de ciertas enfermedades oculares, como el edema macular diabético o la DMAE, puedan estar relacionadas con la disfunción de estas células ¹¹²⁸. Algunos autores han correlacionado la EA con la DMAE, por lo que no es de extrañar que los cambios vasculares coroideos aparezcan antes que los retinianos en la EA ⁹⁴⁹

Se ha descrito una disminución del grosor de la coroides en pacientes con EA en comparación con sujetos sanos de edad avanzada ^{709,871,873,874,878,1129–1131}. Estos cambios también se han

observado en fases tempranas de la enfermedad ⁷⁶³, incluso en pacientes con EA preclínica y prodrómica ¹¹³¹ y en aquellos con DCL ⁸⁷². El adelgazamiento coroideo puede indicar un suministro sanguíneo coroideo anormal asociado a la hipoperfusión o a cambios atróficos relacionados con diversos eventos patológicos, siendo la acumulación cerebral de A β el principal desencadenante ⁸⁷³. La oclusión capilar detectada en estudios de imagen proporciona una posible explicación de la hipoperfusión en los cerebros de la EA ^{1132,1133}.

En el presente estudio, no se observaron diferencias entre los grupos con un alto riesgo genético de desarrollar EA (sujetos con antecedentes familiares y portadores de ApoE ϵ 4) y los grupos de control (participantes sin antecedentes familiares y no portadores de ApoE ϵ 4). Una posible explicación es que nuestros participantes son personas cognitivamente sanas, y se desconoce si desarrollarán la enfermedad en el futuro. Aunque los factores genéticos desempeñan un papel importante a la hora de determinar el riesgo de que una persona desarrolle la enfermedad ¹¹³⁴, existen otros factores que contribuyen a ello, como la influencia del entorno o los factores de riesgo modificables, entre los que se encuentran la actividad física, la dieta y el consumo de alcohol, que pueden modificar el curso o incluso la aparición de la enfermedad ¹⁸⁶.

Las diferencias estadísticamente significativas encontradas en nuestro estudio se dan en los grupos que tienen drusas duras. Además, las coroides más delgadas corresponden a sujetos que no tienen antecedentes familiares de la enfermedad y que no son portadores de ApoE ϵ 4 (Grupo HF-, ϵ 4-, con drusas). Se sabe que la ApoE ϵ 4 es un factor protector de la DMAE, y que el riesgo de DMAE tardía (en fase terminal) en individuos de ascendencia caucásica es entre un 20 y un 50% menor que el de los portadores del alelo ϵ 3 ^{955,1135}, mientras que el alelo ϵ 2 se asocia a una mayor progresión de la enfermedad en las mujeres ⁹⁵⁹. Sin embargo, la asociación entre ApoE ϵ 4 y la protección es más fuerte que la que existe entre ϵ 2 y el riesgo ⁹⁵⁶. Aun así, la relación del ApoE con la DMAE es bastante controvertida por lo que aunque parece que las variantes alélicas del gen ApoE representan uno de los factores de riesgo genético más importantes para desarrollar DMAE ¹¹³⁵, otros estudios no encuentran asociación alguna ^{1108,1112}.

Aun así, la ApoE desempeña un papel en la remodelación de la membrana celular y es esencial para la función normal y el mantenimiento de la retina ⁹⁵⁵. El transporte de lípidos a través de la membrana de Bruch es más fácil en los portadores del alelo ϵ 4 en comparación con los portadores de los alelos ϵ 2 y ϵ 3. Las cargas positivas de las proteínas codificadas por los alelos ϵ 4 explican su mayor capacidad para eliminar los residuos porque interactúan con la barrera hidrofóbica generada por la acumulación de lípidos neutros ⁹⁵⁴.

La formación de drusas no es aleatoria, sino que está influida por la anatomía de la coroides, y se desconocen los mecanismos que conducen a la formación de estos depósitos en zonas intercapilares o desprovistas de luces capilares ¹¹³⁶. Las drusas se asocian a una disminución de la densidad coriocapilar y del flujo coroideo ¹¹³⁶⁻¹¹³⁸. Del mismo modo, la reducción del flujo sanguíneo a la coriocapilar puede conducir a la disfunción del EPR, promoviendo una mayor acumulación de residuos en forma de drusas o depósitos laminares basales ¹¹³⁷. En la DMAE temprana, el grosor de la coroides ya tiende a ser más fino que en los ojos normales. La causa exacta de este adelgazamiento es desconocida; puede ser una respuesta a la atrofia coroidea o a la hipoxia, o puede ser una respuesta secundaria a la acumulación de depósitos o al daño del EPR ¹¹³⁹.

Numerosos estudios con diferentes técnicas de imagen han mostrado cambios coroides en la DMAE, pero no se ha llegado a un consenso. Estudios anteriores con angiografía de fluoresceína han informado de anomalías en la perfusión coroidea, como la disminución del flujo sanguíneo, el aumento de la obstrucción de la fluoresceína ^{1140,1141} y áreas de perfusión coroidea retardada, que se asociaron con una disminución de la función visual ¹¹⁴². En otro estudio, se informó que el llenado coroideo lento en la angiografía con fluoresceína era un factor de riesgo significativo para desarrollar atrofia geográfica del EPR, lo que sugiere la importancia de la isquemia en esta etiología ¹¹⁴³. Además, en otro estudio en sujetos con DMAE seca, se encontró un aumento del tiempo de llenado arterial, lo que sugiere una disminución del flujo sanguíneo coroideo ¹¹⁴⁴.

En un estudio reciente en el que se utilizaron imágenes Doppler en color, los pacientes con DMAE mostraron una disminución de la velocidad de la sangre y un aumento de la pulsatilidad en la arteria central de la retina y en las arterias ciliares cortas posteriores ¹¹⁴⁵. En otras enfermedades neurodegenerativas, como la EA o estadios previos como el DCL, la acumulación de depósitos vasculares en la retina (A β 40 y A β 42) también se asocia a cambios vasculares ¹¹⁴⁶. Se ha demostrado que la acumulación de A β reduce la expresión de la proteína-1 relacionada con el receptor de LDL (LRPG), lo que conduce a una disminución de la expresión del receptor del factor de crecimiento vascular derivado de las plaquetas- β (PDGFR β) y a un aumento de la muerte de pericitos por apoptosis ¹¹⁴⁷. Los pericitos cerebrales y las células musculares lisas vasculares son fundamentales para regular el flujo sanguíneo y la integridad de la barrera hematoencefálica ¹¹⁴⁸. Debido a su similitud con la barrera hemato-retiniana, el daño a este nivel está implicado en patologías como la DMAE y la retinopatía diabética ¹¹⁴⁷. Aunque las drusas son uno de los primeros signos que aparecen en la DMAE, los sujetos de nuestro estudio no tienen DMAE, por lo que no podemos afirmar que los cambios en el grosor de la coroides sean

comparables a los encontrados en pacientes con DMAE. Los cambios vasculares en la coroides de nuestros pacientes pueden ser un signo muy temprano secundario a la alteración del flujo sanguíneo.

8.7.2 Análisis de la zona avascular foveal

La circulación retiniana se caracteriza por un bajo flujo sanguíneo, una alta presión de perfusión¹¹²⁴ y tres estructuras distintas: capilares peripapilares radiales, plexo vascular superficial y plexo vascular profundo⁸⁷⁸. En la zona foveal, tanto en el plexo profundo como en el superficial, existe una zona libre de capilares denominada ZAF¹¹⁴⁹. El aumento de la ZAF es un signo de isquemia y se detecta en casos de retinopatía diabética y de oclusión de la rama venosa macular¹¹⁵⁰. Este parámetro ha cobrado interés como biomarcador para la monitorización y seguimiento de patologías como la EA⁸⁷⁸. Por ello, la ZAF ha sido estudiada en diferentes estadios de la enfermedad mediante OCTA.

En nuestro estudio, entre los participantes sin drusas, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre aquellos con un alto riesgo genético de EA y aquellos sin riesgo genético de EA. Nuestros resultados son similares a los de un estudio anterior en EA preclínica, en el que no se encontraron diferencias en la ZAF entre los pacientes A β + y los controles (A β -), que tenían una menor densidad vascular¹¹⁵¹. Sin embargo, en un estudio anterior, la ZAF de los individuos cognitivamente sanos que tenían EA preclínica y biomarcadores positivos para la EA, como la PET para el compuesto B Pittsburgh o los niveles de 18F-AV-45 y A β 42+ en el LCR, estaba aumentada en comparación con los participantes sin estos biomarcadores. Sin embargo, no se recogió información sobre los antecedentes familiares de los participantes ni los resultados de las pruebas genéticas (estado de ApoE ϵ 4)⁸⁸⁷. En nuestro análisis de la ZAF, las únicas diferencias estadísticamente significativas se dieron en la ZAF superficial del HF+, ϵ 4-, con drusas en comparación con los HF+, ϵ 4-, sin drusas y el grupo HF+, ϵ 4+, sin drusas. Estos cambios son coherentes con los encontrados en estudios de pacientes con DCL, que mostraron una disminución de la densidad vascular y, por tanto, un aumento del área de la ZAF^{860,1123,1152}. En un estudio reciente en pacientes con DCL, se observó un aumento de la ZAF profunda en comparación con los controles. El mismo estudio analizó la influencia de la ApoE ϵ 4 en la vascularización en personas con y sin DCL y no encontró diferencias significativas¹¹⁵³

Los resultados obtenidos en los análisis de la ZAF en pacientes con EA son muy diversos. Algunos estudios no han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la ZAF de los

pacientes con EA y los controles sanos ^{763,1154}. Sin embargo, otros han encontrado diferencias tanto en la ZAF superficial ^{878,1155} como en la profunda ¹¹⁵⁶ en comparación con los controles. Un aumento de la ZAF se atribuye a la reducción de la angiogénesis, consecuencia de la disminución del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), que se une a las placas de proteína A β ⁸⁷⁸, así como a la unión competitiva de A β al receptor VEGF-2 ^{885,1157}[79,80].

Estas discrepancias en los resultados de los distintos estudios pueden explicarse por el grado de deterioro cognitivo de los participantes. Sin embargo, nuestros participantes eran cognitivamente sanos, por lo que el aumento del área de la ZAF superficial podría reflejar una perfusión sanguínea comprometida, que podría desencadenar el depósito de material drusoide.

8.7.3 Análisis de la vascularización retiniana con OCTA

Se ha observado que el estado cognitivo es un factor modificador vascular tanto en la retina como en el cerebro ⁸⁰, reportándose diferencias vasculares retinianas tanto en la dinámica vascular como en la densidad vascular y la densidad de perfusión en pacientes que tienen EA en comparación con sujetos con DCL y controles sanos ^{757,860,878,885,1123,1154}. Además, la tendencia a la pérdida de microvascularización retiniana desde el DCL hasta la EA puede indicar un deterioro vascular retiniano durante la progresión de la enfermedad, contribuyendo a la evolución desde el DCL hasta la EA establecida ⁷¹⁰. Los autores también han encontrado que la disminución de la velocidad y el flujo sanguíneo de las arteriolas y vénulas coexiste con el adelgazamiento del complejo CGR-CPI en sujetos con EA y DCL, lo que indica que la neurodegeneración y la alteración del sistema neurovascular hemodinámico se solapan en estos pacientes ¹¹²³.

Además, en la retina de los pacientes con DCL se ha descubierto que ya existe una pérdida temprana y progresiva de pericitos, una expresión comprometida del receptor beta del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGFR β) y una acumulación vascular de A β en la retina postmortem que compromete la integridad de la BHR ¹¹⁴⁷.

En un trabajo anterior con pacientes con DCL, Querques et al. ⁸⁷⁵ utilizaron el análisis del acoplamiento neurovascular y la presencia y amplitud de una respuesta típica y bifásica como cualidad de la autorregulación ¹¹⁵⁸. Así, demostraron que los cambios en la dinámica de los vasos en los pacientes con DCL podrían sugerir alteraciones funcionales tempranas que preceden a la pérdida de neuronas de la retina. En nuestra muestra de estudio, que eran participantes cognitivamente sanos, estos aumentos de la densidad vascular presentes en determinados sectores podrían ser la respuesta a pequeños cambios funcionales que se producen en el

acoplamiento neurovascular antes de que se produzca una alteración neuronal. Estos cambios pequeños y localizados pasan desapercibidos en un análisis general de la densidad vascular como el realizado con el programa de análisis AngioTool; sin embargo, se hacen evidentes cuando se analizan por sectores en anillos concéntricos como el realizado con el programa EA-Tool.

En los sujetos con fases preclínicas de la EA que presentan A β +, se ha demostrado que existe una densidad vascular mayor, estadísticamente significativa, en comparación con los sujetos A β -, tanto en la zona macular como en la zona peripapilar ¹¹⁵¹. Una posible explicación de este inesperado hallazgo podría deberse a un estado inflamatorio de la retina en las primeras fases de acumulación de amiloide, ya que muchos estudios han descubierto que los acontecimientos cerebrales que se producen durante el desarrollo de la EA y la acumulación de A β suelen ser de naturaleza inflamatoria. Asumiendo que estos eventos cerebrales ocurren al mismo tiempo dentro de la retina, puede ser que en las fases preclínicas esta reacción inflamatoria con hipoxia provoque un aumento del flujo sanguíneo retiniano. Los microvasos que normalmente no se detectan con la OCTA debido al bajo flujo sanguíneo, que está por debajo del nivel de detección, se harán visibles. Este aumento del número de microvasos detectados a partir de la OCTA dará lugar a un falso aumento de la densidad de los vasos ¹¹⁵⁹. Tras esta fase inicial, la inflamación continuada y la acumulación de A β pueden causar más daños, lo que da lugar a una pérdida de capilares que, a su vez, provoca una disminución de la densidad de los vasos, del grosor vascular y, por lo tanto, del flujo, lo que explica por qué las personas con EA establecida tienen una densidad vascular menor ¹¹⁶⁰. Esta disminución de la densidad vascular se asocia con una reducción de la angiogénesis resultante de la unión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) a A β y su confinamiento en la placa ^{1157,1161,1162}. Esto ha sido demostrado por estudios histopatológicos en cerebros de EA, donde se ha demostrado la acumulación de A β y colágeno dentro de los capilares cerebrales ^{1163,1164} que comparten características anatómicas y fisiológicas con los de la retina ^{1160,1165}. Otro estudio que analizó los cambios vasculares en los vasos sanguíneos de la retina con respecto a la carga de A β en el cerebro reveló cambios en los parámetros vasculares de la retina como el factor de asimetría venular y la relación longitud/diámetro arteriolar, siendo estos valores más altos en sujetos sanos con alta carga de placas de A β en comparación con sujetos sanos con baja carga de placas. Para los autores, estos resultados podrían indicar que los cambios en el grosor y la ramificación vascular podrían producirse en fases tempranas de la patología, cuando la acumulación de depósitos de A β se produce de forma asintomática, un hecho que precede al deterioro cognitivo de los pacientes ⁸⁰. Estos resultados respaldan nuestros hallazgos de que los sujetos HF+ ApoE ϵ 4+ mostraron

una mayor densidad vascular en la zona peripapilar en sectores seleccionados en comparación con el grupo HF- ApoE ϵ 4- y el HF+ ApoE ϵ 4-.

Las diferencias entre los hallazgos observados en la red vascular de la zona macular y en los capilares radiales peripapilares, donde apareció un mayor número de alteraciones en nuestro estudio cuando tenemos en cuenta la HF y la caracterización alélica del ApoE, pueden deberse a las diferencias en su morfología. Se sabe que los capilares radiales peripapilares tienen menos anastomosis que los capilares del plexo capilar superficial macular, por lo que son más susceptibles a la disfunción vascular ¹¹⁶⁶.

Sin embargo, en nuestro estudio, los sujetos con HF+ y ApoE ϵ 4+ tenían una menor densidad vascular macular en el sector superotemporal (H12) del anillo C3 del plexo vascular profundo que aquellos con HF+ y ApoE ϵ 4-. Esto podría deberse a que nuestros pacientes presentaban dos de los principales factores de riesgo genético para el desarrollo de patología neurodegenerativa y, por tanto, podrían haber presentado ya cambios en la dinámica vascular. Además, estos resultados están respaldados por un estudio reciente realizado en portadores de ApoE ϵ 4, en el que se encontró una reducción de la densidad de perfusión en el anillo macular ETDRS de 6 mm y del índice de flujo capilar en el sector temporal en comparación con los no portadores. A los dos años de seguimiento, los portadores seguían mostrando una reducción de la densidad de perfusión en el anillo ETDRS de 6 mm y en el anillo externo; sin embargo, estos autores no informaron de diferencias en los índices de cambio entre los grupos ⁸⁵⁶.

Dado que existe una estrecha relación entre las medidas de la función vascular, como: la presión de perfusión, la rigidez arterial, el grosor de la íntima-media carotídea y la respuesta de las células endoteliales al estrés) y la función cognitiva ^{1167,1168}; analizamos la densidad vascular teniendo en cuenta los factores de riesgo cardiovascular como la HTA y la HCOL, que tienen una fuerte relación con la reducción del flujo sanguíneo del parénquima cerebral y la aparición de la EA ^{375,1169}. Además, se ha demostrado una relación entre el óxido nítrico endotelial, que ha sido reconocido como un importante vasodilatador implicado en el control de la función vasomotora y el flujo sanguíneo local ¹¹⁷⁰, y la función cerebrovascular, la modulación del procesamiento del APP, el deterioro del estado funcional de la microglía y la función cognitiva ⁸⁴⁹.

La aterosclerosis se inicia por los lípidos depositados en la capa subendotelial de las paredes arteriales, que inducen la expresión de moléculas de adhesión y quimiotácticas. Estos fenómenos inducen la entrada de monocitos/macrófagos en la íntima, diferenciándose y formando las conocidas células espumosas. Estas células promueven la placa aterosclerótica,

induciendo respuestas inflamatorias locales y acelerando la migración de las células musculares lisas de la íntima a la media ¹¹⁷¹, sintetizando proteínas de la matriz extracelular como el colágeno, la elastina y los proteoglicanos, que conducen a la remodelación vascular y a la disminución del flujo ¹¹²¹. Estos fenómenos, que se producen con la inflamación y la hipoxia producida por el depósito de A β en fases muy tempranas, podrían provocar un aumento del flujo a través de estos vasos haciéndolos visibles mediante OCTA, lo que explicaría el pequeño aumento de la densidad vascular macular observado en nuestros pacientes con HCOL ¹¹⁵⁹.

La HTA, que provoca un estrechamiento arteriolar y un ensanchamiento venular en la circulación retiniana, es un conocido factor de riesgo para el desarrollo de la EA ¹¹⁷². Algunos estudios han demostrado que estos cambios vasculares pueden preceder a la instauración de la hipertensión clínica ¹¹⁷³. En nuestro estudio se observó que los sujetos con dos factores de riesgo genéticos para el desarrollo de la EA y con HTA tenían una densidad vascular mayor que los que no tenían HTA. Este aumento observado en la OCTA puede deberse al aumento del flujo causado por el estrechamiento vascular, que hace visibles vasos antes imperceptibles. Otra posible explicación es que el ensanchamiento venular hace que la OCTA detecte vasos de mayor calibre, lo que da lugar a una mayor densidad vascular.

Este estudio también reveló una implicación diferente entre el plexo vascular macular profundo y el superficial. El plexo vascular superficial se encuentra en la capa de fibras nerviosas de la retina y en la capa de células ganglionares, mientras que el plexo vascular profundo irriga las capas plexiforme interna, nuclear interna y parte de la plexiforme externa. Estudios anteriores han encontrado que el plexo vascular profundo se ve afectado antes y de forma más grave que el plexo vascular superficial, siendo una posible explicación el tipo de vasos que los componen: el plexo profundo está formado por capilares, mientras que el plexo superficial está compuesto por vasos de mayor tamaño, como arteriolas precapilares, capilares y vénulas postcapilares ⁷¹⁰. En este estudio, la mayoría de los cambios se observaron en el plexo vascular profundo, lo que apoya la teoría de que en los sujetos con riesgo genético de desarrollar EA, los cambios más tempranos en el grosor de la retina se producen en la capa plexiforme interna ⁸⁵⁰. También se ha considerado que la afectación de este plexo puede estar relacionada con la progresión de la enfermedad ¹⁰⁸⁹. Sin embargo, otros estudios no han encontrado afectación del plexo vascular profundo y es el plexo superficial el que sufre más cambios vasculares, y estas hipótesis se apoyan en la afectación de las capas internas de la retina (capa de fibras retinianas y capa de células ganglionares) durante la enfermedad ⁸⁶⁰.

Este es el primer estudio que analiza la densidad vascular en sujetos clínicamente sanos y cognitivamente sanos con alto riesgo genético de desarrollar EA. Además, el análisis de las imágenes OCTA se realizó mediante dos herramientas de software que analizan parámetros diferentes y complementarios (AngioTool y EA-Tool).

Uno de los aspectos a destacar en relación con este análisis fue la diferencia en el número de participantes en los análisis maculares y peripapilares. Esta diferencia se debió a la estricta selección de las imágenes. En nuestro estudio, se descartaron las imágenes con cualquier tipo de artefacto. Aunque los artefactos son comunes en las imágenes de OCTA ¹¹⁷⁴, se ha demostrado que éstos podrían tener implicaciones en los resultados cuantitativos, desafiando la interpretabilidad y reproducibilidad de los parámetros propuestos para los ensayos clínicos ¹¹⁷⁵.

Otro punto de discusión en nuestro estudio es el rango de edad de los participantes (de 45 a 75 años), pero no hay consenso sobre si esto interfiere en la densidad vascular ocular. Aunque Shahlaee et al. encontraron una correlación negativa entre la densidad vascular y la edad ¹¹⁷⁶, otros autores han demostrado que la densidad vascular del plexo superficial y profundo no se ve afectada por la edad ¹¹⁷⁷.

8.8 Estudio longitudinal de 27 meses de seguimiento

El estudio longitudinal de estos participantes se realizó a los 27 meses de seguimiento para conocer si los cambios encontrados se mantienen estables o evolucionaban a lo largo del tiempo. Hay que tener en cuenta que estos sujetos son sanos y que no sabemos si desarrollarán o no la enfermedad en un futuro, por lo que 27 meses resulta un tiempo corto de seguimiento, pero al menos nos da una aproximación de qué ocurre tanto funcional como estructuralmente.

También hay que tener en cuenta que el número de participantes que acudieron a la segunda visita se redujo considerablemente. Esto es debido fundamentalmente a la situación sanitaria ocasionada por el COVID-19. En la segunda visita se analizaron las pruebas estructurales de 15 sujetos con HF- ApoE ϵ 4- y de 21 sujetos con HF+ ApoE ϵ 4+ y las pruebas funcionales se analizaron en 15 sujetos con HF- ApoE ϵ 4- y 23 HF+ ϵ 4+. Esto implica que en el grupo de estudio de HF- ApoE ϵ 4- se perdió un 48,27 % de participantes y en el grupo HF+ ApoE ϵ 4+ un 40,00%. Se han realizado pocos estudios longitudinales en este tipo de sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad, y muchos de ellos consideran fases preclínicas de la

enfermedad cuando ya existen quejas de memoria, DCL o incluso existen biomarcadores positivos como A β + o pTau+ en el LCR y en el PET. Además, en algunos casos los participantes se van incluyendo a lo largo del tiempo, por lo que no se puede decir que sean longitudinales puros.

8.8.1 Estudio longitudinal de la tomografía de coherencia óptica.

En el estudio longitudinal comparamos los valores del grosor macular de cada una de las capas y sectores entre la primera y segunda visita en el grupo de HF- ApoE ϵ 4-, en el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ y en la segunda visita entre los dos grupos de estudio

Cuando comparamos entre la primera visita y la segunda, la mayor parte de los cambios con significación estadística se observaron el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ en comparación con los del grupo HF- ApoE ϵ 4-.

En los participantes que no tenían factores de riesgo genético para el desarrollo de la enfermedad los cambios que se encontraron fueron incrementos y descensos de grosor en todas las capas de la retina, tanto en el área macular como en la CFNRp. Estos cambios pueden ser debidos a un proceso normal de envejecimiento de la retina ^{1178,1179}. Hay que recordar que la retina es un tejido vivo que se encuentra en constante cambio, existiendo tanto adelgazamientos como engrosamientos ¹¹⁸⁰.

En el grupo de HF+ ApoE ϵ 4+ tenían más sectores en las diferentes capas de la retina con cambios estadísticamente significativos. Estos cambios eran mayoritariamente de descensos de grosor, aunque también aparecían aumentos produciéndose posibles fenómenos compensatorios.

Cuando comparamos entre los grupos de HF- ApoE ϵ 4- y el grupo HF+ ApoE ϵ 4+ en la segunda visita, los cambios con significación estadística aparecen en la CNI. Estos adelgazamientos significativos se dan en el sector foveal y en el sector temporal del anillo macular interno. En la primera visita los cambios se dieron mayoritariamente en la CPI, la cual contiene las conexiones sinápticas entre amacrinas, bipolares y ganglionares. Esto es debido a que existen procesos neuroinflamatorios en los cuales la microglía realiza fenómenos de *stripping* (desconexión de las sinapsis anómalas) produciendo adelgazamientos en esta capa. En la segunda visita, los adelgazamientos significativos se encontraron en la CNI, posiblemente por la muerte de alguna de estas células que comenzaron a desconectarse hace 27 meses ¹¹⁸¹⁻¹¹⁸⁴. Además, hay que tener en cuenta que estos cambios, aunque significativos, no alcanzan a ser patológicos ya que estos

participantes son sanos cognitivamente y no sabemos si en última instancia desarrollarán la enfermedad.

En otros estudios longitudinales que se llevaron a cabo en sujetos con marcadores de A β + como el de van de Kreeke y colaboradores, que realizaron un seguimiento de 22 meses, observaron un descenso de todas las capas de la retina excepto en la CFNRm, pero no se observaron cambios en el grosor de la retina entre los participantes A β + y A β -¹¹⁸⁵. Una posible explicación es el corto periodo seguimiento, y dado que las etapas preclínicas pueden extenderse hasta los 20 años, es posible que aunque exista un aumento en la neurodegeneración este sea tan sutil que sea complejo de detectar¹⁸². Otro estudio en el que se realizó un seguimiento de 27 meses, los sujetos A β + si mostraban una disminución del volumen de la CFNRm, la CPI y la CNE y un incremento de volumen en la CPE. Sin embargo, los participantes de estudio además de tener un antecedente familiar de la enfermedad presentaban ya quejas subjetivas de memoria, encontrándose estos sujetos en fases más avanzadas de la enfermedad que en nuestro estudio⁸⁵². Otro estudio también encontró cambios estructurales en la retina de sujetos con un declive cognitivo subjetivo y A β + y que este engrosamiento macular de la región nasal se mantenía a los 24 meses. También se encontraron un adelgazamiento de la CFNR en los A β +, pero que no alcanzaba significación estadística cuando se comparaba con los A β -¹¹⁸⁶, siendo estos hallazgos compatibles con los encontrados en nuestro estudio.

En otro estudio longitudinal de 27 meses de seguimiento donde se incluyeron adultos con antecedentes familiares de primer grado de EA, portadores de algún alelo ϵ 4 para el ApoE y deterioro cognitivo subjetivo, se encontró una correlación entre peores puntuaciones del deterioro cognitivo subjetivo y una reducción del volumen de la CFNR¹¹⁸⁷. Además, un reciente estudio mostró que los portadores de ApoE ϵ 4+ tenían un mayor adelgazamiento en el grosor del subcampo central macular, pero esta tasa de cambio no se observaba a los 24 meses cuando se comparaba entre el grupo de portadores y no portadores⁸⁵⁶.

En el área peripapilar también se producen cambios a lo largo de los 27 meses, pero cuando comparamos en la segunda visita entre los grupos de estudio (HF- ApoE ϵ 4- y HF+ ApoE ϵ 4+) no encontramos diferencias estadísticamente significativas. Esto vuelve a poner de manifiesto que durante la EA los cambios ocurren tempranamente en el área macular y que los cambios en el área peripapilar son un signo de progresión de la enfermedad a etapas más avanzadas^{729,730}.

También se han llevado a cabo estudios longitudinales para conocer la evolución de los cambios cerebrales en sujeto con alto riesgo para el desarrollo de la enfermedad. Shi colaboradores en

sujetos sanos muestran una correlación entre la medida la CFNR en los sectores superior e inferior y la disminución del volumen del cortex cingulado y del hipocampo, así como el declive de la memoria episódica a los 12 meses ¹⁰⁶⁶.

8.8.2 Estudio longitudinal de las pruebas funcionales

En el estudio longitudinal de las pruebas funcionales comparamos los valores de la primera y segunda visita en el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60, HF- ApoE $\epsilon 4$ - >60 , en el grupo de HF+ ApoE $\epsilon 4$ + 40-60, HF+ ApoE $\epsilon 4$ + >60 y en la segunda visita entre el grupo de mayor y menor riesgo teniendo en cuenta los subgrupos de edad.

La función visual sufre cambios con la edad como ya se ha reportado con anterioridad, por lo que nosotros subdividimos a la muestra de estudio en grupos con edades entre 40-60 años y con edades superiores a 60 años.

Cuando analizamos el grupo de HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60 no observamos diferencias estadísticamente significativas entre la primera y la segunda visita ($p > 0,05$), tampoco encontramos diferencias significativas cuando comparamos entre la primera y segunda del grupo HF+ ApoE $\epsilon 4$ + 40-60. Sin embargo, cuando comparamos los valores de la segunda visita entre el grupo de mayor y menor riesgo, si encontramos que el grupo de HF+ ApoE $\epsilon 4$ + 40-60 presentaba una AV y una SC en la frecuencia espacial de 12 cpg estadísticamente superior ($p < 0,05$) a la del grupo HF- ApoE $\epsilon 4$ - 40-60. Estos hallazgos ya se observaron durante la primera vez que fueron evaluados, por lo que los cambios funcionales se mantienen estables a los 27 meses. Estos resultados podrían apuntar a una hiperactivación temprana del sistema visual, que puede estar asociada a un mecanismo compensatorio, o a un mal funcionamiento del mismo. Por tanto, los pequeños cambios estructurales detectados a los 27 meses aún no son suficientes como para que modifique el componente funcional.

El resto de las pruebas funcionales como son la percepción del color, en el TDP y el análisis del CV no muestran cambios en ninguno de los grupos de estudios a los 27 meses de seguimiento.

8.9 Fortalezas y debilidades

Una de las primeras fortalezas de la presente tesis doctoral es que es uno de los primeros trabajos que analizan tanto la estructura como la función de la vía visual en sujetos que tienen dos factores de riesgo genético para el desarrollo de la EA: tener un antecedente de primer

grado afecto de la enfermedad y ser portador de al menos un alelo $\epsilon 4$ para el gen del ApoE. Además, este es hasta dónde llega nuestro conocimiento, uno de los primeros estudios que correlaciona los hallazgos oculares con hallazgos cerebrales, tanto de forma estructural empleando la RMN como de forma funcional empleando los registros de MEG.

Una de las primeras limitaciones de nuestro estudio, es que al ser este uno de los primeros trabajos exploratorios que investiga a esta población con alto riesgo para el desarrollo de la enfermedad, decidimos ser más flexibles con el problema de las comparaciones múltiples. Nuestra idea era que estos resultados puedan servir de primer paso o guía para nuevas hipótesis y estudios (de nuestro laboratorio o de cualquier otro laboratorio de la comunidad científica) que validaran nuestros resultados y pudieran revelar nuevos biomarcadores para la EA

Otra de las limitaciones de nuestro estudio es que nuestra muestra es pequeña. Esto es debido a la estricta selección de los participantes: todos los sujetos con alto riesgo genético tenían una historia parental de EA, eran portadores de al menos un alelo $\epsilon 4$ para la ApoE, eran cognitivamente sanos y tenían una puntuación superior a 26 en el MMSE. Además, en los diferentes análisis los participantes se han clasificado estrictamente teniendo en cuenta la historia familiar, la caracterización alélica, edad e incluso los factores de riesgo cardiovascular, haciendo que los grupos estén muy caracterizados pero haciendo en algunos casos que la n de los mismo sea muy pequeña. Por tanto, deben realizarse estudios longitudinales con muestras más amplias de participantes, incluyendo incluso pacientes con DCL y estadios más avanzados de la enfermedad para confirmar los mecanismos etiopatogénicos implicados en los cambios que se producen entre la retina y el cerebro. Dichos estudios son necesarios para comprender la evolución de los biomarcadores de la EA, así como para predecir mejor el posible establecimiento de la enfermedad en los participantes con alto riesgo genético para el desarrollo de la EA.

9.CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

9.1 CONCLUSIONES EN ESPAÑOL

En este trabajo en el que se ha analizado una población sana de sujetos que tiene un alto riesgo genético de padecer EA, debido a su historia familiar y la presencia del alelo $\epsilon 4$ en el gen de la ApoE, podemos concluir que:

1. La OCT es capaz de detectar cambios de grosor muy tempranos en la región macular, en sujetos cognitivamente sanos, asintomáticos, pero con alto riesgo genético de desarrollar una demencia tipo Alzheimer.
2. Las disminuciones de grosor en la OCT estadísticamente significativas se localizaron en (i) el área foveal de la CFNRm; (ii) los sectores inferior y nasal en el anillo macular externo e interno en la CPI; (iii) el área foveal y el sector inferior en el anillo macular externo en la CNI; y (iv) el sector inferior del anillo macular externo en la CPE.
3. La OCT puede ser una herramienta útil para el seguimiento y cribado de pacientes con alto riesgo genético de desarrollar EA, y es una prueba prometedora, rentable, no invasiva, útil para los estadios iniciales de la enfermedad, antes de la aparición de los síntomas clínicos de la misma.
4. Los sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de la EA muestran una posible hiperactivación temprana del sistema visual, que podría actuar como un mecanismo compensatorio, o ser una manifestación de un mal funcionamiento biológico.
5. La hiperactivación del sistema visual detectada por la MEG y la mejoría en las pruebas psicofísicas (AV y SC) constituyen la primera evidencia de las consecuencias del deterioro temprano de la retina en el procesamiento visual a nivel funcional y fisiológico.
6. Existe una correlación entre los cambios estructurales encontrados en la retina y las estructuras cerebrales implicadas en la EA, como son la corteza entorrinal, el giro lingual y el hipocampo en participantes con alto riesgo genético de desarrollar formas seniles esporádicas de EA.
7. Las mediciones del volumen de la OCT y sus correlaciones con los volúmenes de las áreas cerebrales podrían ser un biomarcador de la EA, incluso en las etapas preclínicas de la EA, y se necesitan estudios longitudinales para saber realmente cuántos de estos participantes acaban desarrollando la enfermedad.
8. Al analizar el grosor coroideo y la ZAF en sujetos sanos con alto riesgo genético para el desarrollo de la EA, los cambios vasculares no son aún evidentes.

9. En sujetos sin riesgo de desarrollo de la EA se observa una disminución del grosor coroideo.
10. Cuando aparecen drusas duras en la retina de los sujetos sin riesgo de desarrollo de la EA, estas causan alteraciones en la red vascular coroidea y de la ZAF, haciendo necesario que estos participantes necesiten seguimientos oftalmológicos periódicos para conocer la evolución de las mismas.
11. La OCTA es capaz de detectar un aparente aumento de la densidad vascular en algunos sectores de la retina en sujetos con dos factores de riesgo genético para el desarrollo de la EA.
12. La utilización del EA-Tool para el análisis de imágenes de la OCTA detecta alteraciones de la dinámica vascular provocadas por la HCOL y la HTA
13. Las mediciones realizadas con OCTA pueden constituir un biomarcador prometedor para el seguimiento de la progresión de la degeneración neuronal patológica asociada a la EA y a las enfermedades cardiovasculares.
14. En sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de la EA, a los 27 meses de seguimiento, persisten los cambios estructurales en la CNI de la retina y se mantienen los cambios funcionales encontrados en la primera visita.

9.2 CONCLUSIONES EN INGLÉS

In this study, which has analysed a healthy population of subjects with a high genetic risk of AD, due to their family history and the presence of the $\epsilon 4$ allele in the ApoE gene, we can conclude that:

1. OCT is able to detect very early thickness changes in the macular region in cognitively healthy, asymptomatic subjects, but with a high genetic risk of developing Alzheimer's type dementia.
2. Statistically significant decreases in OCT thickness were located in (i) the foveal area of the mRNFL; (ii) the inferior and nasal sectors in the outer and inner macular ring in the IPL; (iii) the foveal area and the inferior sector in the outer macular ring in the INL; and (iv) the inferior sector of the outer macular ring in the OPL.
3. OCT may be a useful tool for the follow-up and screening of patients at high genetic risk of developing AD, and is a promising, cost-effective, non-invasive test useful for the early stages of the disease, before the onset of clinical symptoms of the disease.
4. Subjects at high genetic risk for the development of AD show a possible early hyperactivation of the visual system, which could act as a compensatory mechanism, or be a manifestation of a biological malfunction.
5. The hyperactivation of the visual system detected by MEG and the improvement in psychophysical tests (VA and CS) constitute the first evidence of the consequences of early retinal impairment on visual processing at the functional and physiological level.
6. There is a correlation between the structural changes found in the retina and brain structures implicated in AD, such as the entorhinal cortex, the lingual gyrus and the hippocampus in participants at high genetic risk of developing sporadic senile forms of AD.
7. OCT volume measurements and their correlations with brain area volumes could be a biomarker of AD, even in the preclinical stages of AD, and longitudinal studies are needed to really know how many of these participants eventually develop the disease.
8. When analysing choroidal thickness and FAZ in healthy subjects at high genetic risk for the development of AD, vascular changes are not yet evident.
9. A decrease in choroidal thickness is observed in subjects who are not at risk of developing AD.

10. When hard drusen appear in the retina of subjects without risk of developing AD, these cause alterations in the choroidal vascular network and the FAZ, making it necessary for these participants to need periodic ophthalmological follow-ups to know the evolution of these alterations.
11. OCTA is able to detect an apparent increase in vascular density in some sectors of the retina in subjects with two genetic risk factors for the development of AD.
12. The use of the EA-Tool for OCTA image analysis detects alterations in vascular dynamics caused by HCL and HBP.
13. OCTA measurements may be a promising biomarker for monitoring the progression of pathological neuronal degeneration associated with AD and cardiovascular disease.
14. In subjects at high genetic risk for the development of AD, at 27 months follow-up, structural changes in retinal INL persist and functional changes found at the first visit are maintained.

10. BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organisation. Global action plan on the public health response to dementia 2017 - 2025. *Geneva World Heal. Organ.* 52 (2017).
2. Barnes, D. E. & Yaffe, K. The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol.* **10**, 819–828 (2011).
3. Patterson, C. *World Alzheimer Report 2018. The state of the art of dementia research: New frontiers. World Alzheimer Report* <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018> (2018).
4. Jack, C. R. *et al.* NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **14**, 535–562 (2018).
5. Dubois, B. *et al.* Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's Dement.* **12**, 292–323 (2016).
6. Huang, W., Qiu, C., von Strauss, E., Winblad, B. & Fratiglioni, L. APOE Genotype, Family History of Dementia, and Alzheimer Disease Risk. *Arch Neurol.* **61**, 1930–4 (2004).
7. Burnham, S. C. *et al.* Impact of APOE-ε4 carriage on the onset and rates of neocortical Aβ-amyloid deposition. *Neurobiol. Aging* **95**, 46–55 (2020).
8. Sano, M., Chen, J., Tatemichi, T., Stern, Y. & Mayeux, R. Risk of Dementia in First-Degree Relatives of Patients with Alzheimer's Disease and Related Disorders. *Arch. Neurol.* **48**, 269–273 (1991).
9. Nakamura, A. *et al.* Early functional network alterations in asymptomatic elders at risk for Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **7**, 1–12 (2017).
10. Ausó, E., Gómez-Vicente, V. & Esquiva, G. Biomarkers for alzheimer's disease early diagnosis. *J. Pers. Med.* **10**, 1–27 (2020).
11. Alzheimer, A. A Characteristic Disease of the Cerebral Cortex: Meeting of South-West Germany Psychiatrists Held in Tubingen on November 3rd and 4th, 1906. (1907).
12. Maurer, K., Volk, S. & Gerbaldo, H. Auguste D and Alzheimer's disease. *Lancet* **349**, 1546–1549 (1997).
13. Kraepelin & E. Das senile und prasenilar Irrsein. *Psychiatr. Ein Lehrb. fur Stud. und Alzte* **533**, 593–632 (1910).
14. Assal, F. History of Dementia. *Front. Neurol. Neurosci.* **44**, 118–126 (2019).
15. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.* (1952).
16. Dávila, C., Viteri, C. & de Castro, P. Tacrina. *Rev. Med. Univ. Navarra* **41**, 58–64 (1997).
17. López Pousa, S., Garre Olmo, J., Vilalta Franch, J., Turon Estrada, A. & Pericot Nierga, I. Mortalidad y Memantina en la Enfermedad de Alzheimer. *Alzheimer Realidades e Investig. en Demenc.* **37**, 25–32 (2007).
18. Dubois, B. *et al.* Research criteria for the diagnosis of Alzheimer's disease: revising the NINCDS-ADRDA criteria. *Lancet Neurology* vol. 6 734–746 (2007).
19. McKhann, G. M. *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.* **7**, 263–269 (2011).
20. Straussner, S. L. A. The DSM-5 Diagnostic Criteria: What's New? *J. Soc. Work Pract. Addict.* **13**, 448–453 (2013).
21. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5.* (2013).
22. Custodio, N., Montesinos, R. & Alarcón, J. O. Evolución histórica del concepto y criterios actuales para el diagnóstico de demencia. *Rev. Neuropsiquiatr.* **81**, 235 (2019).
23. Alexander, G. C., Emerson, S. & Kesselheim, A. S. Evaluation of Aducanumab for Alzheimer Disease: Scientific Evidence and Regulatory Review Involving Efficacy, Safety, and Futility. *JAMA - Journal of the American Medical Association* vol. 325 1717–1718 (2021).
24. World Health Organization. The ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders Clinical descriptions and diagnostic guidelines World Health Organization. in *ICD-10 Classification of Mental and Behavioural Disorders* 69–70 (1992).
25. Denning, T. & Sandilyan, M. B. Dementia: definitions and types. *Nurs. Stand.* **29**, 37–42 (2015).
26. Chertkow, H., Feldman, H. H., Jacova, C. & Massoud, F. Definitions of dementia and predementia states in Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment: consensus from the Canadian conference on diagnosis of dementia. *Alzheimers. Res. Ther.* **5**, S2 (2013).
27. World Health Organisation. *Dementia* <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia> (2021).

28. Rabins, P. V., Mace, N. L. & Lucas, M. J. The Impact of Dementia on the Family. *JAMA* **248**, 333–335 (1982).
29. Ministerio de Sanidad, C. y B. S. *Plan integral de Alzheimer y otras Demencias 2019-2023. Ministerio de Sanidad, consumo y bienestar social* (2019).
30. Wimo, A. *et al. World Alzheimer Report 2015: The global impact of dementia: An analysis of prevalence, incidence, cost and trends.* <https://www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2015/> (2015).
31. El-Hayek, Y. H. *et al. Tip of the Iceberg: Assessing the Global Socioeconomic Costs of Alzheimer's Disease and Related Dementias and Strategic Implications for Stakeholders.* *J. Alzheimer's Dis.* **70**, 323 (2019).
32. Alonso Vilaterla, E., Sosa Ortiz, A. L. & Trujillo de los Santos, Z. *Visión actual de las demencias.* vol. 21 (2016).
33. Draper, B. & Withall, A. Young onset dementia. *Intern. Med. J.* **46**, 779–786 (2016).
34. Frost, S., Martins, R. N. & Kanagasingam, Y. Ocular biomarkers for early detection of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease* vol. 22 1–16 (2010).
35. Hendriks, S., Peetoom, K., Verhey, F. R., Vugt, M. de & Koehler, S. The prevalence of young onset dementia: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's Dement.* **16**, e042738 (2020).
36. Masellis, M. *et al. Early-onset dementias: diagnostic and etiological considerations.* *Alzheimers. Res. Ther.* **5**, S7 (2013).
37. Vieira, R. T. *et al. Epidemiology of early-onset dementia: a review of the literature.* *Clin. Pract. Epidemiol. Ment. Health* **9**, 88 (2013).
38. Rossor, M. N., Fox, N. C., Mummery, C. J., Schott, J. M. & Warren, J. D. The diagnosis of young-onset dementia. *Lancet Neurol.* **9**, 793–806 (2010).
39. Withall, A., Draper, B., Seeher, K. & Brodaty, H. The prevalence and causes of younger onset dementia in Eastern Sydney, Australia. *Int. Psychogeriatrics* **26**, 1955–1965 (2014).
40. Rosness, T. A., Barca, M. L. & Engedal, K. Occurrence of depression and its correlates in early onset dementia patients. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **25**, 704–711 (2010).
41. Van Vliet, D. *et al. Time to diagnosis in young-onset dementia as compared with late-onset dementia.* *Psychol. Med.* **43**, 423–432 (2013).
42. Alzheimer's Association. 2014 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers. Dement.* **10**, (2014).
43. Xie, J., Brayne, C. & Matthews, F. E. Survival times in people with dementia: Analysis from population based cohort study with 14 year follow-up. *BMJ* **336**, 258–262 (2008).
44. Marín-carmona, J. M. & Formiga, F. Demencia de inicio en edades avanzadas : aspectos clínicos y fisiopatológicos diferenciales. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* **50**, 261–263 (2015).
45. Balasopoulou, A. *et al. Symposium Recent advances and challenges in the management of retinoblastoma Globe - saving Treatments.* *BMC Ophthalmol.* **17**, 1 (2017).
46. Schneider, J. A., Arvanitakis, Z., Bang, W. & Bennett, D. A. Mixed brain pathologies account for most dementia cases in community-dwelling older persons. *Neurology* **69**, 2197–2204 (2007).
47. Poblador-Plou, B. *et al. Comorbidity of dementia: a cross-sectional study of primary care older patients.* *BMC Psychiatry* **2014** **141** **14**, 1–8 (2014).
48. Callahan, C. M. & Schubert, C. C. The complexities of comorbidity in dementia. *Nat. Rev. Neurol.* **2014** **104** **10**, 184–186 (2014).
49. Marín Carmona, J. M. Dolor y síntomas no expresados: la otra demencia. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* **44**, 9–14 (2009).
50. Ngandu, T. *et al. A 2 year multidomain intervention of diet, exercise, cognitive training, and vascular risk monitoring versus control to prevent cognitive decline in at-risk elderly people (FINGER): a randomised controlled trial.* *Lancet* **385**, 2255–2263 (2015).
51. Hyman, B. T. *et al. National Institute on Aging-Alzheimer's Association guidelines for the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease.* *Alzheimer's Dement.* **8**, 1–13 (2012).
52. Sperling, R. A. *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.* **7**, 280–292 (2011).
53. Jessen, N. A., Munk, A. S. F., Lundgaard, I. & Nedergaard, M. The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochem. Res.* **40**, 2583–2599 (2015).
54. Rasmussen, M. K., Mestre, H. & Nedergaard, M. The glymphatic pathway in neurological disorders. *Lancet Neurol.* **17**, 1016–1024 (2018).
55. Reddy, O. C. & van der Werf, Y. D. The

- Sleeping Brain: Harnessing the Power of the Glymphatic System through Lifestyle Choices. *Brain Sci.* **10**, 1–16 (2020).
56. Iliff, J. J. *et al.* Brain-wide pathway for waste clearance captured by contrast-enhanced MRI. *J. Clin. Invest.* **123**, 1299–1309 (2013).
57. Iliff, J. J. *et al.* Cerebral Arterial Pulsation Drives Paravascular CSF–Interstitial Fluid Exchange in the Murine Brain. *J. Neurosci.* **33**, 18190–18199 (2013).
58. Yamada, S. *et al.* Influence of respiration on cerebrospinal fluid movement using magnetic resonance spin labeling. *Fluids Barriers CNS* **10**, 1–7 (2013).
59. Xie, L. *et al.* Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science (80-. J.)* **342**, 373–377 (2013).
60. Lee, H. *et al.* The Effect of Body Posture on Brain Glymphatic Transport. *J. Neurosci.* **35**, 11034–11044 (2015).
61. Boespflug, E. L. & Iliff, J. J. The Emerging Relationship Between Interstitial Fluid–Cerebrospinal Fluid Exchange, Amyloid- β , and Sleep. *Biol. Psychiatry* **83**, 328–336 (2018).
62. Silva, I., Silva, J., Ferreira, R. & Trigo, D. Glymphatic system, AQP4, and their implications in Alzheimer’s disease. *Neurol. Res. Pract.* **2021 31 3**, 1–9 (2021).
63. Zeppenfeld, D. M. *et al.* Association of Perivascular Localization of Aquaporin-4 With Cognition and Alzheimer Disease in Aging Brains. *JAMA Neurol.* **74**, 91–99 (2017).
64. Iliff, J. J. *et al.* A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci. Transl. Med.* **4**, (2012).
65. Yang, J. *et al.* Loss of Astrocyte Polarization in the Tg-ArcSwe Mouse Model of Alzheimer’s Disease. *J. Alzheimer’s Dis.* **27**, 711–722 (2011).
66. Smith, A. J., Duan, T. & Verkman, A. S. Aquaporin-4 reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer’s disease by remodeling peri-plaque astrocyte structure. *Acta Neuropathol. Commun.* **7**, 74 (2019).
67. Hoshi, A. *et al.* Characteristics of Aquaporin Expression Surrounding Senile Plaques and Cerebral Amyloid Angiopathy in Alzheimer Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **71**, 750–759 (2012).
68. Wostyn, P. *et al.* Glaucoma Considered as an Imbalance Between Production and Clearance of Neurotoxins. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **55**, 5351–5352 (2014).
69. Mathieu, E. *et al.* Evidence for Cerebrospinal Fluid Entry Into the Optic Nerve via a Glymphatic Pathway. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **58**, 4784–4791 (2017).
70. Romero Delgado, F., Domínguez Rubio, R., Barahona-Hernando, R. & Rodríguez Gómez, O. Dementia. *Med.* **11**, 4297–4305 (2015).
71. Alberca Serrano, R. & López Pousa, S. Patogenia y fisiopatología de la enfermedad de Alzheimer. *Enferm. Alzheimer y otras Demencias, 2010, ISBN 978-8-49-835534-5, págs. 151-164* 151–164 (2012).
72. Whitehouse, P. J. The concept of subcortical and cortical dementia: Another look. *Ann. Neurol.* **19**, 1–6 (1986).
73. Turner, M. A., Moran, N. F. & Kopelman, M. D. Subcortical dementia. *Br. J. Psychiatry* **180**, 148–151 (2002).
74. Aarsland, D. *et al.* Range of neuropsychiatric disturbances in patients with Parkinson’s disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **67**, 492–496 (1999).
75. Alberca Serrano, R. & López Pousa, S. *Enfermedad de Alzheimer y otras demencias.* (Editorial Médica Panamericana, 2010).
76. Molinuevo, J. L. & Peña-Casanova, J. Guía oficial de practica clinica en demencias: conceptos, criterios y recomendaciones. (2009).
77. Hickey, C., Chisholm, T., Passmore, M., O’Brien, J. & Johnston, J. Differentiating the Dementias. Revisiting Synucleinopathies and Tauopathies. *Curr. Alzheimer Res.* **5**, 52–60 (2008).
78. Ince, P. G. Pathological correlates of late-onset dementia in a multicentre, community-based population in England and Wales. *Lancet* **357**, 169–175 (2001).
79. Gold, G., Giannakopoulos, P., Herrmann, F. R., Bouras, C. & Kövari, E. Identification of Alzheimer and vascular lesion thresholds for mixed dementia. *Brain* **130**, 2830–2836 (2007).
80. Frost, S. *et al.* Retinal vascular biomarkers for early detection and monitoring of Alzheimer’s disease. *Transl. Psychiatry* **3**, e233 (2013).
81. Jellinger, K. A. Neuropathology of the Alzheimer’s continuum: an update. *Free Neuropathol.* **32**, 1–34 (2020).
82. McEvoy, L. K. & Brewer, J. B. Quantitative structural MRI for early detection of Alzheimers disease. *Expert Rev. Neurother.* **10**, 1675–1688 (2010).
83. Walker, L. C. A β Plaques. *Free Neuropathol.* **1**, (2020).

84. Pimplikar, S. W. Reassessing the amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **41**, 1261–1268 (2009).
85. Calabrò, M., Rinaldi, C., Santoro, G. & Crisafulli, C. The biological pathways of Alzheimer disease: a review. *AIMS Neurosci.* **8**, 86 (2021).
86. Hardy, J. & Selkoe, D. J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science* vol. 297 353–356 (2002).
87. O'Brien, R. J. & Wong, P. C. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease. *Annu. Rev. Neurosci.* **34**, 185–204 (2011).
88. Wilkins, H. M. & Swerdlow, R. H. Amyloid precursor protein processing and bioenergetics. *Brain Research Bulletin* vol. 133 71–79 (2017).
89. Vassar, R., Kovacs, D. M., Yan, R. & Wong, P. C. The β -Secretase Enzyme BACE in Health and Alzheimer's Disease: Regulation, Cell Biology, Function, and Therapeutic Potential. *J. Neurosci.* **29**, 12787–12794 (2009).
90. Strooper, B. De, Vassar, R. & Golde, T. The secretases: enzymes with therapeutic potential in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* **6**, 99 (2010).
91. Oddo, S. *et al.* Temporal profile of amyloid- β ($A\beta$) oligomerization in an in vivo model of Alzheimer disease: A link between $A\beta$ and tau pathology. *J. Biol. Chem.* **281**, 1599–1604 (2006).
92. Villemagne, V. L. *et al.* Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study. *Lancet Neurol.* **12**, 357–367 (2013).
93. Herrera-Rivero, M., Hernández-Aguilar, M. E., Manzo, J. & Aranda-Abreu, G. E. Enfermedad de Alzheimer: inmunidad y diagnóstico. *Rev. Neurol.* (2016).
94. Kumar, A., Sidhu, J., Goyal, A., Tsao, J. W. & Svercauski, J. *Alzheimer Disease. StatPearls* (2021).
95. Alonso, A. D. C., Zaidi, T., Grundke-Iqbal, I. & Iqbal, K. Role of abnormally phosphorylated tau in the breakdown of microtubules in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 5562–5566 (1994).
96. Del C. Alonso, A., Grundke-Iqbal, I. & Iqbal, K. Alzheimer's disease hyperphosphorylated tau sequesters normal tau into tangles of filaments and disassembles microtubules. *Nat. Med.* **2**, 783–787 (1996).
97. La Joie, R. *et al.* Hippocampal subfield volumetry in mild cognitive impairment, Alzheimer's disease and semantic dementia. *NeuroImage Clin.* **3**, 155–162 (2013).
98. Brion, J. P. The role of neurofibrillary tangles in Alzheimer disease. *Acta Neurol. Belg.* **98**, 165–174 (1998).
99. Thal, D. R., Walter, J., Saido, T. C. & Fändrich, M. Neuropathology and biochemistry of $A\beta$ and its aggregates in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathologica* vol. 129 167–182 (2015).
100. Thal, D. R., Rüb, U., Orantes, M. & Braak, H. Phases of $A\beta$ -deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* **58**, 1791–1800 (2002).
101. Thal, D. R., Capetillo-Zarate, E., Del Tredici, K. & Braak, H. The development of amyloid beta protein deposits in the aged brain. *Sci. Aging Knowledge Environ.* **2006**, (2006).
102. Braak, H., Thal, D. R., Ghebremedhin, E. & Del Tredici, K. Stages of the pathologic process in Alzheimer disease: Age categories from 1 to 100 years. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **70**, 960–969 (2011).
103. Braak, H. & Braak, E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol. Aging* **18**, 351–357 (1997).
104. Serrano-Pozo, A., Frosch, M., Masliah, E. & Hyman, B. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **1**, (2011).
105. Masters, C. L. *et al.* Alzheimer's disease. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2015 11 1**, 1–18 (2015).
106. Arnold, S. E., Hyman, B. T., Flory, J., Damasio, A. R. & Van Hoesen, G. W. The topographical and neuroanatomical distribution of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in the cerebral cortex of patients with Alzheimer's disease. *Cereb. Cortex* **1**, 103–116 (1991).
107. Braak, H., Alafuzoff, I., Arzberger, T., Kretschmar, H. & Tredici, K. Staging of Alzheimer disease-associated neurofibrillary pathology using paraffin sections and immunocytochemistry. *Acta Neuropathol.* **112**, 389–404 (2006).
108. Moons, L. & De Groef, L. Multimodal retinal imaging to detect and understand Alzheimer's and Parkinson's disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* **72**, 1–7 (2022).
109. Selkoe, D. J. Alzheimer's disease is a synaptic failure. *Science* vol. 298 789–791 (2002).
110. Valls-Pedret, C., Molinuevo, J. L. & Rami, L. *Diagnóstico precoz de la enfermedad de*

- Alzheimer: fase prodrómica y preclínica. Rev Neurol* vol. 51 www.neurologia.com (2010).
111. Molinuevo, J. L. *et al.* Ethical challenges in preclinical Alzheimer's disease observational studies and trials: Results of the Barcelona summit. *Alzheimer's Dement.* **12**, 614–622 (2016).
112. Garcia-Marin, V. Diminished perisomatic GABAergic terminals on cortical neurons adjacent to amyloid plaques. *Front. Neuroanat.* **3**, 28 (2009).
113. Busche, M. A. & Konnerth, A. Impairments of neural circuit function in Alzheimer's disease. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **371**, 1700 (2016).
114. Zott, B., Busche, M. A., Sperling, R. A. & Konnerth, A. What Happens with the Circuit in Alzheimer's Disease in Mice and Humans? *Annu. Rev. Neurosci.* **41**, 277–297 (2018).
115. Bajo, R. *et al.* Functional connectivity in mild cognitive impairment during a memory task: Implications for the disconnection hypothesis. *J. Alzheimer's Dis.* **22**, 183–193 (2010).
116. Sepulcre, J., Sabuncu, M. R., Becker, A., Sperling, R. & Johnson, K. A. In vivo characterization of the early states of the amyloid-beta network. *Brain* **136**, 2239–2252 (2013).
117. Palop, J. J., Chin, J. & Mucke, L. A network dysfunction perspective on neurodegenerative diseases. *Nature* **443**, 768–773 (2006).
118. Mackenzie, I. R. A. & Miller, L. A. Senile plaques in temporal lobe epilepsy. *Acta Neuropathol.* **87**, 504–510 (1994).
119. Palop, J. J. & Mucke, L. Amyloid-B-induced neuronal dysfunction in Alzheimer's disease: From synapses toward neural networks. *Nature Neuroscience* vol. 13 812–818 (2010).
120. Li, S. *et al.* Soluble Oligomers of Amyloid β Protein Facilitate Hippocampal Long-Term Depression by Disrupting Neuronal Glutamate Uptake. *Neuron* **62**, 788–801 (2009).
121. Bero, A. W. *et al.* Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β 2 deposition. *Nat. Neurosci.* **14**, 750–756 (2011).
122. Brody, D. L. *et al.* Amyloid- β dynamics correlate with neurological status in the injured human brain. *Science (80-.)*. **321**, 1221–1224 (2008).
123. Selkoe, D. J. The ups and downs of A β . *Nature Medicine* vol. 12 758–759 (2006).
124. Bush, A. I. & Tanzi, R. E. Therapeutics for Alzheimer's Disease Based on the Metal Hypothesis. *Neurotherapeutics* **5**, 421–432 (2008).
125. Ramírez, J. M. El ojo una ventana al cerebro. *An. Real. Acad. Doct.* **2**, 357–381 (2017).
126. Takizawa, C., Thompson, P. L., Van Walssem, A., Faure, C. & Maier, W. C. Epidemiological and economic burden of Alzheimer's disease: A systematic literature review of data across Europe and the United States of America. *J. Alzheimer's Dis.* **43**, 1271–1284 (2014).
127. Alzheimer's association. 2020 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's Dement.* **16**, 391–460 (2020).
128. He, W., Goodkind, D. & Kowal, P. *An Aging World: 2015*. <https://www.census.gov/library/publications/2016/demo/P95-16-1.html> (2016).
129. Alzheimer's Association. 2021 Alzheimer's disease facts and figures special report Race, Ethnicity and Alzheimer's in America. *Alzheimer's Dement.* **17**, 327–406 (2021).
130. Rajan, K. B. *et al.* Population estimate of people with clinical Alzheimer's disease and mild cognitive impairment in the United States (2020–2060). *Alzheimer's Dement.* **17**, 1966–1975 (2021).
131. Chêne, G. *et al.* Gender and incidence of dementia in the Framingham Heart Study from mid-adult life. *Alzheimer's Dement.* **11**, 310–320 (2015).
132. Seshadri, S. *et al.* Lifetime risk of dementia and Alzheimer's disease: The impact of mortality on risk estimates in the Framingham Study. *Neurology* **49**, 1498–1504 (1997).
133. Hebert, L. E., Scherr, P. A., McCann, J. J., Beckett, L. A. & Evans, D. A. Is the Risk of Developing Alzheimer's Disease Greater for Women than for Men? *Am. J. Epidemiol.* **153**, 132–136 (2001).
134. Mielke, M. M., Ferretti, M. T., Iulita, M. F., Hayden, K. & Khachaturian, A. S. Sex and gender in Alzheimer's disease – Does it matter? *Alzheimer's and Dementia* vol. 14 1101–1103 (2018).
135. Mielke, M. M., Vemuri, P. & Rocca, W. A. Clinical epidemiology of Alzheimer's disease: assessing sex and gender differences. *Clin. Epidemiol.* **6**, 37 (2014).
136. Rajan, K. B., Weuve, J., Barnes, L. L., Wilson, R. S. & Evans, D. A. Prevalence and incidence of clinically diagnosed Alzheimer's disease dementia from 1994 to 2012 in a population study. *Alzheimer's Dement.* **15**, 1–7 (2019).

137. Potter, G. G. *et al.* Cognitive performance and informant reports in the diagnosis of cognitive impairment and dementia in African Americans and whites. *Alzheimer's Dement.* **5**, 445–453 (2009).
138. Berkman, C. S. & Gurland, B. J. The relationship between ethnorracial group and functional level in older persons. *Ethn. Heal.* **3**, 175–188 (1998).
139. Samper-Ternent, R. *et al.* Prevalence of Health Conditions and Predictors of Mortality in Oldest Old Mexican Americans and Non-Hispanic Whites. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* **13**, 254–259 (2012).
140. Perkins, P. *et al.* Incidence and prevalence of dementia in a multiethnic cohort of municipal retirees. *Neurology* **49**, 44–50 (1997).
141. Yaffe, K. *et al.* Effect of socioeconomic disparities on incidence of dementia among biracial older adults: prospective study. *BMJ* **347**, (2013).
142. Chin, A. L., Negash, S. & Hamilton, R. Diversity and disparity in dementia: The impact of ethnorracial differences in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **25**, 187–195 (2011).
143. Kochanek, K. D., Xu, J. & Arias, E. *Mortality in the United States, 2019*. <https://www.cdc.gov/nchs/products/index.htm>. (2020).
144. Tom, S. E. *et al.* Characterization of dementia and Alzheimer's disease in an older population: Updated incidence and life expectancy with and without dementia. *Am. J. Public Health* **105**, 408–413 (2015).
145. Waring, S. C., Doody, R. S., Pavlik, V. N., Massman, P. J. & Chan, W. Survival among patients with dementia from a large multi-ethnic population. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **19**, 178–183 (2005).
146. Ganguli, M., Dodge, H. H., Shen, C., Pandav, R. S. & DeKosky, S. T. Alzheimer disease and mortality: A 15-year epidemiological study. *Arch. Neurol.* **62**, 779–784 (2005).
147. Helzner, E. P. *et al.* Survival in Alzheimer disease: A multiethnic, population-based study of incident cases. *Neurology* **71**, 1489–1495 (2008).
148. Taylor, C. A. Deaths from Alzheimer's Disease — United States, 1999–2014. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **66**, 521–526 (2019).
149. López-Pousa, S., Vilalta-Franch, J., Llinàs-Regla, J., Garre-Olmo, J. & Román, G. C. Incidence of dementia in a rural community in Spain: The Girona cohort study. *Neuroepidemiology* **23**, 170–177 (2004).
150. Bermejo-Pareja, F., Benito-León, J., Vega, S., Medrano, M. J. & Román, G. C. Incidence and subtypes of dementia in three elderly populations of central Spain. *J. Neurol. Sci.* **264**, 63–72 (2008).
151. Lobo, A. *et al.* Incidence and lifetime risk of dementia and Alzheimer's disease in a Southern European population. *Acta Psychiatr. Scand.* **124**, 372–383 (2011).
152. Ruitenberg, A., Ott, A., Van Swieten, J. C., Hofman, A. & Breteler, M. M. B. Incidence of dementia: does gender make a difference? *Neurobiol. Aging* **22**, 575–580 (2001).
153. Matsui, Y. *et al.* Incidence and survival of dementia in a general population of Japanese elderly: the Hisayama study. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **80**, 366–370 (2009).
154. Coria, F., De Caso, J. A. G., Minguéz, L., Rodríguez-Artalejo, F. & Claveria, L. E. Prevalence of age-associated memory impairment and dementia in a rural community. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **56**, 973–976 (1993).
155. Manubens, J. M. *et al.* Prevalence of Alzheimer's disease and other dementing disorders in Pamplona, Spain. *Neuroepidemiology* **14**, 155–164 (1995).
156. Pi, J., Olivé, J. M., Roca, J. & Masana, L. Prevalence of Dementia in a Semi-Rural Population of Catalunya, Spain. *Neuroepidemiology* **15**, 33–41 (1996).
157. Vilalta-Franch, J., López-Pousa, S. & Llinàs-Reglà, J. The prevalence of dementias in a rural area. A study in Girona. *Rev. Neurol.* **30**, 1026–1032 (2000).
158. García García, F. *et al.* Prevalencia de demencia y de sus subtipos principales en sujetos mayores de 65 años: efecto de la educación y ocupación: estudio Toledo. *Med. Clin. (Barc.)* **116**, 401–407 (2001).
159. Sicras, A. *et al.* Prevalence, resource utilization and costs of vascular dementia compared to Alzheimer's dementia in a population setting. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **19**, 305–315 (2005).
160. Lobo, A. *et al.* Prevalence of dementia in a southern European population in two different time periods: The ZARADEMP Project. *Acta Psychiatr. Scand.* **116**, 299–307 (2007).
161. Tola-Arribas, M. A. *et al.* Prevalence of dementia and subtypes in Valladolid, northwestern Spain: the DEMINVALL study. *PLoS One* **8**, (2013).
162. Gascón-Bayarri, J. *et al.* Prevalence of dementia subtypes in El Prat de Llobregat,

- Catalonia, Spain: The PRATICON study. *Neuroepidemiology* **28**, 224–234 (2007).
163. Papassotiropoulos, A., Fountoulakis, M., Dunckley, T., Stephan, D. A. & Reiman, E. M. Genetics, transcriptomics and proteomics of Alzheimer's disease. *J. Clin. Psychiatry* **67**, 652 (2006).
164. Kuo, C. Y., Stachiv, I. & Nikolai, T. Association of late life depression, (Non-) modifiable risk and protective factors with dementia and alzheimer's disease: Literature review on current evidences, preventive interventions and possible future trends in prevention and treatment of dementia. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **17**, 1–24 (2020).
165. Chen, J. H., Lin, K. P. & Chen, Y. C. Risk Factors for Dementia. *J. Formos. Med. Assoc.* **108**, 754–764 (2009).
166. Kukull, W. A. *et al.* Dementia and Alzheimer disease incidence: A prospective cohort study. *Arch. Neurol.* **59**, 1737–1746 (2002).
167. Kirkpatrick, R. M., McGue, M., Iacono, W. G., Miller, M. B. & Basu, S. Results of a "GWAS Plus:" General Cognitive Ability Is Substantially Heritable and Massively Polygenic. *PLoS One* **9**, e112390 (2014).
168. Gatz, M. *et al.* Heritability for Alzheimer's disease: The study of dementia in Swedish twins. *Journals Gerontol. - Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* **52**, (1997).
169. Lim, Y. Y. *et al.* A β -related memory decline in APOE ϵ 4 noncarriers: Implications for Alzheimer disease. *Neurology* **86**, 1635–1642 (2016).
170. Corder, E. H. *et al.* Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science (80-.)*. **8**, 41–43 (1993).
171. Morris, J. C. *et al.* APOE predicts amyloid-beta but not tau Alzheimer pathology in cognitively normal aging. *Ann. Neurol.* **67**, 122–131 (2010).
172. Small, B. J., Rosnick, C. B., Fratiglioni, L. & Bäckman, L. Apolipoprotein E and cognitive performance: A meta-analysis. *Psychol. Aging* **19**, 592–600 (2004).
173. Wisdom, N. M., Callahan, J. L. & Hawkins, K. A. The effects of apolipoprotein E on non-impaired cognitive functioning: A meta-analysis. *Neurobiol. Aging* **32**, 63–74 (2011).
174. Liu, Y. *et al.* APOE genotype and neuroimaging markers of Alzheimer's disease: Systematic review and meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **86**, 127–134 (2015).
175. Klunk, W. E. *et al.* Imaging Brain Amyloid in Alzheimer's Disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann. Neurol.* **55**, 306–319 (2004).
176. Wildsmith, K. R., Holley, M., Savage, J. C., Skerrett, R. & Landreth, G. E. Evidence for impaired amyloid β clearance in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Research and Therapy* vol. 5 33 (2013).
177. Castellano, J. M. *et al.* Human apoE isoforms differentially regulate brain amyloid- β peptide clearance. *Sci. Transl. Med.* **3**, 89ra57 (2011).
178. Holtzman, D. M. Role of apoE/A β interactions in the pathogenesis of Alzheimer's disease and cerebral amyloid angiopathy. *J. Mol. Neurosci.* **17**, 147–155 (2001).
179. Bertram, L., McQueen, M. B., Mullin, K., Blacker, D. & Tanzi, R. E. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: The AlzGene database. *Nat. Genet.* **39**, 17–23 (2007).
180. Porter, T. *et al.* A Polygenic Risk Score Derived From Episodic Memory Weighted Genetic Variants Is Associated With Cognitive Decline in Preclinical Alzheimer's Disease. *Front. Aging Neurosci.* **10**, 423 (2018).
181. Beam, C. R. *et al.* Differences Between Women and Men in Incidence Rates of Dementia and Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* **64**, 1077–1083 (2018).
182. Jansen, W. J. *et al.* Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: A meta-analysis. *JAMA* **313**, 1924–1938 (2015).
183. Winblad, B. *et al.* Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol.* **15**, 455–532 (2016).
184. Fratiglioni, L. *et al.* Very old women at highest risk of dementia and Alzheimer's disease: Incidence data from the Kungsholmen Project, Stockholm. *Neurology* **48**, 132–138 (1997).
185. Luo, J. *et al.* Dementia risk in women higher in same-sex than opposite-sex twins. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **12**, e12049 (2020).
186. Edwards, G. A., Gamez, N., Escobedo, G., Calderon, O. & Moreno-Gonzalez, I. Modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* **11**, 146 (2019).
187. Waring, S. C. *et al.* Postmenopausal estrogen replacement therapy and risk of AD. *Neurology* **52**, 965–965 (1999).

188. Imtiaz, B. *et al.* Postmenopausal hormone therapy and Alzheimer disease. *Neurology* **88**, 1062–1068 (2017).
189. Savolainen-Peltonen, H. *et al.* Use of postmenopausal hormone therapy and risk of Alzheimer's disease in Finland: nationwide case-control study. *BMJ* **364**, 665 (2019).
190. Lv, W. *et al.* Low Testosterone Level and Risk of Alzheimer's Disease in the Elderly Men: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Mol. Neurobiol.* **2015** *534* **53**, 2679–2684 (2015).
191. Ford, A. H. *et al.* Sex hormones and incident dementia in older men: The health in men study. *Psychoneuroendocrinology* **98**, 139–147 (2018).
192. Bonham, V. L., Warshauer-Baker, E. & Collins, F. S. Race and ethnicity in the genome era: The complexity of the constructs. *Am. Psychol.* **60**, 9–15 (2005).
193. Bird, T. D. *et al.* Familial Alzheimer's disease in American descendants of the Volga Germans: Probable genetic founder effect. *Ann. Neurol.* **23**, 25–31 (1988).
194. Maestre, G. *et al.* Apolipoprotein E and Alzheimer's disease: Ethnic variation in genotypic risks. *Ann. Neurol.* **37**, 254–259 (1995).
195. Hallman, D. M. *et al.* The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am. J. Hum. Genet.* **49**, 338 (1991).
196. Shadlen, M. F., McCormick, W. C. & Larson, E. B. Research agenda for understanding Alzheimer disease in diverse populations: Work group on cultural diversity, Alzheimer's association. *Alzheimer Disease and Associated Disorders* vol. 16 (2002).
197. Osborne, L. C. & Mason, J. M. HLA-A/B haplotype frequencies among U.S. Hispanic and African-American populations. *Hum. Genet.* **91**, 326–332 (1993).
198. Ganguli, M. *et al.* Apolipoprotein E Polymorphism and Alzheimer Disease: The Indo-US Cross-National Dementia Study. *Arch. Neurol.* **57**, 824–830 (2000).
199. Weiner, M. F. Perspective on Race and Ethnicity in Alzheimer's Disease Research. *Alzheimers. Dement.* **4**, 233 (2008).
200. Donix, M., Small, G. W. & Bookheimer, S. Y. Family history and APOE-4 genetic risk in Alzheimer's disease. *Neuropsychol. Rev.* **22**, 298–309 (2012).
201. Jayadev, S. *et al.* Conjugal Alzheimer Disease. *Arch. Neurol.* **65**, 373–378 (2008).
202. JM, S. *et al.* Patterns of risk in first-degree relatives of patients with Alzheimer's disease. *Arch. Gen. Psychiatry* **51**, 577–586 (1994).
203. Cupples, L. A. *et al.* Estimating risk curves for first-degree relatives of patients with Alzheimer's disease: The REVEAL study. *Genet. Med.* **6**, 192–196 (2004).
204. Silverman, J. M., Ciresi, G., Smith, C. J., Marin, D. B. & Schnaider-Beerl, M. Variability of familial risk of Alzheimer disease across the late life span. *Arch. Gen. Psychiatry* **62**, 565–573 (2005).
205. Edland, S. D. *et al.* Increased risk of dementia in mothers of Alzheimer's disease cases: Evidence for maternal inheritance. *Neurology* **47**, 254–256 (1996).
206. Ehrenkrantz, D. *et al.* Genetic epidemiological study of maternal and paternal transmission of Alzheimer's disease. *Am. J. Med. Genet. - Neuropsychiatr. Genet.* **88**, 378–382 (1999).
207. Debette, S. *et al.* Association of parental dementia with cognitive and brain MRI measures in middle-aged adults. *Neurology* **73**, 2071–2078 (2009).
208. Gómez-Tortosa, E. *et al.* Variability of age at onset in siblings with familial Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **64**, 1743–1748 (2007).
209. Mosconi, L. *et al.* Increased fibrillar amyloid- β burden in normal individuals with a family history of late-onset Alzheimer's. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 5949–5954 (2010).
210. Mosconi, L. *et al.* Maternal family history of Alzheimer's disease predisposes to reduced brain glucose metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **104**, 19067–19072 (2007).
211. Mosconi, L. *et al.* Declining brain glucose metabolism in normal individuals with a maternal history of Alzheimer disease. *Neurology* **72**, 513–520 (2009).
212. Lin, M. T. & Beal, M. F. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* vol. 443 787–795 (2006).
213. Swerdlow, R. H. & Khan, S. M. A 'mitochondrial cascade hypothesis' for sporadic Alzheimer's disease. *Med. Hypotheses* **63**, 8–20 (2004).
214. Norton, S., Matthews, F. E., Barnes, D. E., Yaffe, K. & Brayne, C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: An analysis of population-based data. *Lancet Neurol.* **13**, 788–794 (2014).
215. Livingston, G. *et al.* Dementia prevention, intervention, and care: 2020 report of the Lancet Commission. *Lancet (London, England)* **396**, 413–446 (2020).

216. Jayaraman, A. & Pike, C. J. Alzheimer's disease and type 2 diabetes: Multiple mechanisms contribute to interactions. *Current Diabetes Reports* vol. 14 476 (2014).
217. Emrani, S. *et al.* Alzheimer's/Vascular Spectrum Dementia: Classification in Addition to Diagnosis. *J. Alzheimer's Dis.* **73**, 63–71 (2020).
218. Yu, J. T. *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 and Psychiatry* vol. 91 1201–1209 (2020).
219. Iturria-Medina, Y., Sotero, R. C., Toussaint, P. J., Mateos-Pérez, J. M. & Evans, A. C. Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nat. Commun.* **2016** *7*, 1–14 (2016).
220. Iadecola, C. & Gottesman, R. F. Cerebrovascular Alterations in Alzheimer Disease. *Circ. Res.* **123**, 406–408 (2018).
221. Kehoe, P. G. The coming of age of the angiotensin hypothesis in Alzheimer's disease: Progress toward disease prevention and treatment? *Journal of Alzheimer's Disease* vol. 62 1443–1466 (2018).
222. Evans, C. E. *et al.* ACE2 activation protects against cognitive decline and reduces amyloid pathology in the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* **139**, 485–502 (2020).
223. Peters, R. *et al.* Investigation of antihypertensive class, dementia, and cognitive decline. *Neurology* **94**, e267–e281 (2020).
224. Ding, J. *et al.* Antihypertensive medications and risk for incident dementia and Alzheimer's disease: a meta-analysis of individual participant data from prospective cohort studies. *Lancet Neurol.* **19**, 61–70 (2020).
225. Gupta, A. *et al.* Treatment of hypertension reduces cognitive decline in older adults: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open* **10**, e038971 (2020).
226. Kehoe, P. G. *et al.* Safety and efficacy of losartan for the reduction of brain atrophy in clinically diagnosed Alzheimer's disease (the RADAR trial): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol.* **20**, 895–906 (2021).
227. Reed, B. *et al.* Low HDL and High LDL Serum Cholesterol Are Associated With Cerebral Amyloidosis. *JAMA Neurol.* **71**, 195 (2014).
228. Holtzman, D. M., Herz, J. & Bu, G. Apolipoprotein E and apolipoprotein E receptors: normal biology and roles in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, a006312 (2012).
229. Kivipelto, M. *et al.* Apolipoprotein E ϵ 4 allele, elevated midlife total cholesterol level, and high midlife systolic blood pressure are independent risk factors for late-life Alzheimer disease. *Ann. Intern. Med.* **137**, 149–155 (2002).
230. Whitmer, R. A., Sidney, S., Selby, J., Claiborne Johnston, S. & Yaffe, K. Midlife cardiovascular risk factors and risk of dementia in late life. *Neurology* **64**, 277–281 (2005).
231. Reitz, C. *et al.* Association of higher levels of high-density lipoprotein cholesterol in elderly individuals and lower risk of late-onset Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **67**, 1491–1497 (2010).
232. Tan, Z. S. *et al.* Plasma total cholesterol level as a risk factor for Alzheimer disease the framingham study. *Arch. Intern. Med.* **163**, 1053–1057 (2003).
233. Zissimopoulos, J. M., Barthold, D., Brinton, R. D. & Joyce, G. Sex and race differences in the association between statin use and the incidence of Alzheimer disease. *JAMA Neurol.* **74**, 225–232 (2017).
234. Köbe, T. *et al.* Association of Vascular Risk Factors with β -Amyloid Peptide and Tau Burdens in Cognitively Unimpaired Individuals and Its Interaction with Vascular Medication Use. *JAMA Netw. Open* **3**, 1–16 (2020).
235. Luchsinger, J. A., Tang, M. X., Shea, S. & Mayeux, R. Hyperinsulinemia and risk of Alzheimer disease. *Neurology* **63**, 1187–1192 (2004).
236. Cheng, G., Huang, C., Deng, H. & Wang, H. Diabetes as a risk factor for dementia and mild cognitive impairment: A meta-analysis of longitudinal studies. *Internal Medicine Journal* vol. 42 484–491 (2012).
237. Hassing, L. B. *et al.* Diabetes mellitus is a risk factor for vascular dementia, but not for Alzheimer's disease: A population-based study of the oldest old. *Int. Psychogeriatrics* **14**, 239–248 (2002).
238. Watson, G. S. *et al.* Preserved cognition in patients with early Alzheimer disease and amnesic mild cognitive impairment during treatment with rosiglitazone: a preliminary study. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **13**, 950–958 (2005).
239. Chen, Y. *et al.* Antidiabetic drug metformin

- (GlucophageR) increases biogenesis of Alzheimer's amyloid peptides via up-regulating BACE1 transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**, 3907–3912 (2009).
240. Stephen, R., Hongisto, K., Solomon, A. & Lönnroos, E. Physical Activity and Alzheimer's Disease: A Systematic Review. *Journals Gerontol. Ser. A* **72**, 733–739 (2017).
241. Cabeza, R. *et al.* Maintenance, reserve and compensation: the cognitive neuroscience of healthy ageing. *Nat. Rev. Neurosci.* **2018** *1911* **19**, 701–710 (2018).
242. Johnson, J. M. & Ballin, S. D. Surgeon general's report on physical activity and health is hailed as a historic step toward a healthier nation. *Circulation* **94**, 2045 (1996).
243. Roig, M., Nordbrandt, S., Geertsen, S. S. & Nielsen, J. B. The effects of cardiovascular exercise on human memory: A review with meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* vol. 37 1645–1666 (2013).
244. Ahlskog, J. E., Geda, Y. E., Graff-Radford, N. R. & Petersen, R. C. Physical exercise as a preventive or disease-modifying treatment of dementia and brain aging. *Mayo Clinic Proceedings* vol. 86 876–884 (2011).
245. Black, J. E., Isaacs, K. R., Anderson, B. J., Alcantara, A. A. & Greenough, W. T. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **87**, 5568–5572 (1990).
246. Fratiglioni, L. & Wang, H.-X. Brain Reserve Hypothesis in Dementia. *J. Alzheimer's Dis.* **12**, 11–22 (2007).
247. Rovio, S. *et al.* Leisure-time physical activity at midlife and the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol.* **4**, 705–711 (2005).
248. Akbaraly, T. N. *et al.* Leisure activities and the risk of dementia in the elderly: Results from the three-city study. *Neurology* **73**, 854–861 (2009).
249. Picone, P., Carlo, M. Di & Nuzzo, D. Obesity and Alzheimer's disease: Molecular bases. *Eur. J. Neurosci.* **52**, 3944–3950 (2020).
250. Whitmer, R. A. *et al.* Central obesity and increased risk of dementia more than three decades later. *Neurology* **71**, 1057–1064 (2008).
251. Gudala, K., Bansal, D., Schifano, F. & Bhansali, A. Diabetes mellitus and risk of dementia: A meta-analysis of prospective observational studies. *J. Diabetes Investig.* **4**, 640–650 (2013).
252. Puig, K. L., Floden, A. M., Adhikari, R., Golovko, M. Y. & Combs, C. K. Amyloid precursor protein and proinflammatory changes are regulated in brain and adipose tissue in a murine model of high fat diet-induced obesity. *PLoS One* **7**, (2012).
253. Lee, Y. H., Martin, J. M., Maple, R. L., Tharp, W. G. & Pratley, R. E. Plasma amyloid- β peptide levels correlate with adipocyte amyloid precursor protein gene expression in obese individuals. *Neuroendocrinology* **90**, 383–390 (2009).
254. Orth, M. & Bellosta, S. Cholesterol: Its regulation and role in central nervous system disorders. *Cholesterol* **2012**, (2012).
255. Grimm, M. O. W., Grimm, H. S. & Hartmann, T. Amyloid beta as a regulator of lipid homeostasis. *Trends in Molecular Medicine* vol. 13 337–344 (2007).
256. Pereira, C. F. *et al.* Is Alzheimer's disease an inflammasomopathy? *Ageing Res. Rev.* **56**, 100966 (2019).
257. Nuzzo, D. *et al.* Effects of the aphanizomenon flos-aquae extract (Klamin®) on a neurodegeneration cellular model. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2018**, (2018).
258. Varatharaj, A. & Galea, I. The blood-brain barrier in systemic inflammation. *Brain. Behav. Immun.* **60**, 1–12 (2017).
259. Meyer, J. S., Rauch, G., Rauch, R. A. & Haque, A. Risk factors for cerebral hypoperfusion, mild cognitive impairment, and dementia. *Neurobiol. Aging* **21**, 161–169 (2000).
260. Murray, K. N. & Abeles, N. Nicotine's effect on neural and cognitive functioning in an aging population. *Aging Ment. Heal.* **6**, 129–138 (2002).
261. Evert, D. L. & Oscar-Berman, M. Alcohol-Related Cognitive Impairments: An Overview of How Alcoholism May Affect the Workings of the Brain. *Alcohol Health Res. World* **19**, 89 (1995).
262. Tyas, S. L. Alcohol Use and the Risk of Developing Alzheimer's Disease. *Alcohol Res. Heal.* **25**, 299 (2001).
263. Tyas, S. L. Are tobacco and alcohol use related to Alzheimer's disease? A critical assessment of the evidence and its implications. *Addiction Biology* vol. 1 237–254 (1996).
264. Badsberg Jensen, G. & Pakkenberg, B. Do alcoholics drink their neurons away? *Lancet* **342**, 1201–1204 (1993).
265. Kril, J. J. & Halliday, G. M. Brain shrinkage in alcoholics: A decade on and what have we learned? *Progress in Neurobiology* vol. 58

- 381–387 (1999).
266. Arendt, T. Impairment in memory function and neurodegenerative changes in the cholinergic basal forebrain system induced by chronic intake of ethanol. in *Journal of Neural Transmission, Supplement* 173–187 (Springer, Vienna, 1994). doi:10.1007/978-3-7091-9350-1_13.
267. Oscar-Berman, M. & Marinković, K. Alcohol: Effects on Neurobehavioral Functions and the Brain. *Neuropsychol. Rev.* **17**, 239 (2007).
268. Peters, R., Peters, J., Warner, J., Beckett, N. & Bulpitt, C. Alcohol, dementia and cognitive decline in the elderly: a systematic review. *Age Ageing* **37**, 505–512 (2008).
269. Anstey, K. J., Mack, H. A. & Cherbuin, N. Alcohol Consumption as a Risk Factor for Dementia and Cognitive Decline: Meta-Analysis of Prospective Studies. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **17**, 542–555 (2009).
270. Mukamal, K. J. *et al.* Prospective Study of Alcohol Consumption and Risk of Dementia in Older Adults. *JAMA* **289**, 1405–1413 (2003).
271. Luchsinger, J. A., Tang, M. X., Siddiqui, M., Shea, S. & Mayeux, R. Alcohol Intake and Risk of Dementia. *J. Am. Geriatr. Soc.* **52**, 540–546 (2004).
272. Cervilla, J. A., Prince, M. & Mann, A. Smoking, drinking, and incident cognitive impairment: A cohort community based study included in the Gospel Oak project. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **68**, 622–626 (2000).
273. Commenges, D. *et al.* Intake of flavonoids and risk of dementia. *Eur. J. Epidemiol.* **2000** *164* **16**, 357–363 (2000).
274. Ho, L. *et al.* Heterogeneity in red wine polyphenolic contents differentially influences Alzheimer's disease-type neuropathology and cognitive deterioration. *J. Alzheimer's Dis.* **16**, 59–72 (2009).
275. Berger, K. *et al.* Light-to-Moderate Alcohol Consumption and the Risk of Stroke among U.S. Male Physicians. *J. Nutr. Biochem.* **1**, 569–570 (2008).
276. Bourre, J. M. Effects of nutrients (in food) on the structure and function of the nervous system: Update on dietary requirements for brain. Part 1: Micronutrients. *J. Nutr. Heal. Aging* **10**, 377–385 (2006).
277. Parletta, N., Milte, C. M. & Meyer, B. J. Nutritional modulation of cognitive function and mental health. *J. Nutr. Biochem.* **24**, 725–743 (2013).
278. Nuzzo, D. *et al.* Insulin Resistance as Common Molecular Denominator Linking Obesity to Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **12**, 723–735 (2015).
279. Nuzzo, D. *et al.* Regular Intake of Pistachio Mitigates the Deleterious Effects of a High Fat-Diet in the Brain of Obese Mice. *Antioxidants* **2020**, Vol. 9, Page 317 **9**, 317 (2020).
280. Guillemot-Legris, O. & Muccioli, G. G. Obesity-Induced Neuroinflammation: Beyond the Hypothalamus. *Trends Neurosci.* **40**, 237–253 (2017).
281. Solfrizzi, V. *et al.* Diet and Alzheimer's disease risk factors or prevention: The current evidence. *Expert Review of Neurotherapeutics* vol. 11 677–708 (2011).
282. Karstens, A. J. *et al.* Associations of the Mediterranean diet with cognitive and neuroimaging phenotypes of dementia in healthy older adults. *Am. J. Clin. Nutr.* **109**, 361–368 (2019).
283. Matthews, D. C. *et al.* Physical Activity, Mediterranean Diet and Biomarkers-Assessed Risk of Alzheimer's: A Multi-Modality Brain Imaging Study. *Adv. Mol. imaging* **4**, 43 (2014).
284. Van Den Brink, A. C., Brouwer-Brolsma, E. M., Berendsen, A. A. M. & Van De Rest, O. The Mediterranean, Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH), and Mediterranean-DASH Intervention for Neurodegenerative Delay (MIND) Diets Are Associated with Less Cognitive Decline and a Lower Risk of Alzheimer's Disease-A Review. *Advances in Nutrition* vol. 10 1040–1065 (2019).
285. Panza, F. *et al.* Late-Life depression, mild cognitive impairment, and dementia: Possible continuum? *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **18**, 98–116 (2010).
286. Balsis, S., Carpenter, B. D. & Storandt, M. Personality change precedes clinical diagnosis of dementia of the Alzheimer type. *Journals Gerontol. - Ser. B Psychol. Sci. Soc. Sci.* **60**, 98–101 (2005).
287. Van Wanrooij, L. L., Borsboom, D., Moll Van Charante, E. P., Richard, E. & Van Gool, W. A. A network approach on the relation between apathy and depression symptoms with dementia and functional disability. *Int. Psychogeriatrics* **31**, 1655–1663 (2019).
288. DK, J., AS, W., BA, C., R, A. & JM, B. Neuropsychiatric profiles in dementia. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **25**, 326–332 (2011).
289. JM, L. *et al.* Latent classes of course in Alzheimer's disease and predictors: the Cache County Dementia Progression Study. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **30**, 824–832 (2015).

290. DE, B., GS, A., OL, L., JD, W. & K, Y. Depressive symptoms, vascular disease, and mild cognitive impairment: findings from the Cardiovascular Health Study. *Arch. Gen. Psychiatry* **63**, 273–280 (2006).
291. Brommelhoff, J. A. *et al.* Depression as a Risk Factor or Prodromal Feature for Dementia? Findings in a Population-Based Sample of Swedish Twins. *Psychol. Aging* **24**, 373 (2009).
292. Rasgon, N. & Jarvik, L. Insulin Resistance, Affective Disorders, and Alzheimer's Disease: Review and Hypothesis. *Journals Gerontol. Ser. A* **59**, M178–M183 (2004).
293. Iadecola, C. & Gorelick, P. B. Converging pathogenic mechanisms in vascular and neurodegenerative dementia. *Stroke* **34**, 335–337 (2003).
294. Baldwin, R. C. Is vascular depression a distinct sub-type of depressive disorder? A review of causal evidence. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **20**, 1–11 (2005).
295. Parissis, J. T. *et al.* Comparison of circulating proinflammatory cytokines and soluble apoptosis mediators in patients with chronic heart failure with versus without symptoms of depression. *Am. J. Cardiol.* **94**, 1326–1328 (2004).
296. Suarez, E. C., Lewis, J. G., Krishnan, R. R. & Young, K. H. Enhanced expression of cytokines and chemokines by blood monocytes to in vitro lipopolysaccharide stimulation are associated with hostility and severity of depressive symptoms in healthy women. *Psychoneuroendocrinology* **29**, 1119–1128 (2004).
297. Dantzer, R., Wollman, E., Vitkovic, L. & Yirmiya, R. Cytokines and depression: fortuitous or causative association? *Mol. Psychiatry* **4**, 328–332 (1999).
298. Reichenberg, A. *et al.* Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans. *Arch. Gen. Psychiatry* **58**, 445–452 (2001).
299. St George-Hyslop, P. H. & Petit, A. Molecular biology and genetics of Alzheimer's disease. *Comptes Rendus - Biologies* vol. 328 119–130 (2005).
300. Lavretsky, H. *et al.* Apolipoprotein 4 Allele Status, Depressive Symptoms, and Cognitive Decline in Middle-Aged and Elderly Persons Without Dementia. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **11**, 667–673 (2003).
301. Butters, M. A. *et al.* APOE is associated with age-of-onset, but not cognitive functioning, in late-life depression. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **18**, 1075–1081 (2003).
302. Steffens, D. C. *et al.* A twin study of late-onset depression and apolipoprotein E ϵ 4 as risk factors for Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* **41**, 851–856 (1997).
303. Heininger, K. A unifying hypothesis of Alzheimer's disease. III. Risk factors. *Hum. Psychopharmacol.* **15**, 1–70 (2000).
304. Lee, H. B. & Lyketsos, C. G. Depression in Alzheimer's disease: Heterogeneity and related issues. *Biological Psychiatry* vol. 54 353–362 (2003).
305. Sommerlad, A., Ruegger, J., Singh-Manoux, A., Lewis, G. & Livingston, G. Marriage and risk of dementia: systematic review and meta-analysis of observational studies. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **89**, 231–238 (2018).
306. Evans, I. E. M., Martyr, A., Collins, R., Brayne, C. & Clare, L. Social Isolation and Cognitive Function in Later Life: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Alzheimers. Dis.* **70**, S119–S144 (2019).
307. Sommerlad, A., Sabia, S., Singh-Manoux, A., Lewis, G. & Livingston, G. Association of social contact with dementia and cognition: 28-year follow-up of the Whitehall II cohort study. *PLoS Med.* **16**, (2019).
308. Stern, Y. Cognitive reserve and Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **20**, 112–117 (2006).
309. Sattler, C., Toro, P., Schönknecht, P. & Schröder, J. Cognitive activity, education and socioeconomic status as preventive factors for mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Psychiatry Res.* **196**, 90–95 (2012).
310. Crowe, M., Andel, R., Pedersen, N. L., Johansson, B. & Gatz, M. Does participation in leisure activities lead to reduced risk of Alzheimer's disease? A prospective study of Swedish twins. *Journals Gerontol. - Ser. B Psychol. Sci. Soc. Sci.* **58**, (2003).
311. Wilson, R. S., Scherr, P. A., Schneider, J. A., Tang, Y. & Bennett, D. A. Relation of cognitive activity to risk of developing Alzheimer disease. *Neurology* **69**, 1911–1920 (2007).
312. Wang, H. X., Karp, A., Winblad, B. & Fratiglioni, L. Late-life engagement in social and leisure activities is associated with a decreased risk of dementia: A longitudinal study from the Kungsholmen Project. *Am. J. Epidemiol.* **155**, 1081–1087 (2002).
313. Bosma, H. *et al.* Engaged lifestyle and cognitive function in middle and old-aged, non-demented persons: A reciprocal association? *Z. Gerontol. Geriatr.* **35**, 575–581 (2002).

314. Wilson, R. S. *et al.* Participation in cognitively stimulating activities and risk of incident Alzheimer disease. *J. Am. Med. Assoc.* **287**, 742–748 (2002).
315. Kremen, W. S. *et al.* Influence of young adult cognitive ability and additional education on later-life cognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **116**, 2021–2026 (2019).
316. Bialystok, E. Bilingualism: Pathway to Cognitive Reserve. *Trends Cogn. Sci.* **25**, 355–364 (2021).
317. Perani, D. & Abutalebi, J. Bilingualism, dementia, cognitive and neural reserve. *Curr. Opin. Neurol.* **28**, 618–625 (2015).
318. Alladi, S. *et al.* Impact of Bilingualism on Cognitive Outcome After Stroke. *Stroke* **47**, 258–261 (2016).
319. Alladi, S. *et al.* Bilingualism delays age at onset of dementia, independent of education and immigration status. *Neurology* **81**, 1938–1944 (2013).
320. Voits, T., Pliatsikas, C., Robson, H. & Rothman, J. Beyond Alzheimer’s disease: Can bilingualism be a more generalized protective factor in neurodegeneration? *Neuropsychologia* **147**, 107593 (2020).
321. Bialystok, E., Craik, F. I. M. & Luk, G. Bilingualism: Consequences for Mind and Brain. *Trends Cogn. Sci.* **16**, 240 (2012).
322. Valian, V. Bilingualism and cognition: A focus on mechanisms*. *Biling. Lang. Cogn.* **18**, 47–50 (2015).
323. Livingston, G. *et al.* Dementia prevention, intervention, and care. *The Lancet* vol. 390 2673–2734 (2017).
324. Loughrey, D. G., Kelly, M. E., Kelley, G. A., Brennan, S. & Lawlor, B. A. Association of Age-Related Hearing Loss With Cognitive Function, Cognitive Impairment, and Dementia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* **144**, 115–126 (2018).
325. Golub, J. S., Brickman, A. M., Ciarleglio, A. J., Schupf, N. & Luchsinger, J. A. Association of Subclinical Hearing Loss With Cognitive Performance. *JAMA Otolaryngol. Neck Surg.* **146**, 57–67 (2020).
326. Armstrong, N. M. *et al.* Association of Midlife Hearing Impairment With Late-Life Temporal Lobe Volume Loss. *JAMA Otolaryngol. Neck Surg.* **145**, 794–802 (2019).
327. Maharani, A. *et al.* Longitudinal Relationship Between Hearing Aid Use and Cognitive Function in Older Americans. *J. Am. Geriatr. Soc.* **66**, 1130–1136 (2018).
328. Amieva, H., Ouvrard, C., Meillon, C., Rullier, L. & Dartigues, J. F. Death, Depression, Disability, and Dementia Associated With Self-reported Hearing Problems: A 25-Year Study. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* **73**, 1383–1389 (2018).
329. Ray, J., Popli, G. & Fell, G. Association of Cognition and Age-Related Hearing Impairment in the English Longitudinal Study of Ageing. *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* **144**, 876–882 (2018).
330. Power, M. C., Adar, S. D., Yanosky, J. D. & Weuve, J. Exposure to air pollution as a potential contributor to cognitive function, cognitive decline, brain imaging, and dementia: A systematic review of epidemiologic research. *Neurotoxicology* **56**, 235–253 (2016).
331. Chen, H. *et al.* Living near major roads and the incidence of dementia, Parkinson’s disease, and multiple sclerosis: a population-based cohort study. *Lancet (London, England)* **389**, 718–726 (2017).
332. Oudin, A., Segersson, D., Adolfsson, R. & Forsberg, B. Association between air pollution from residential wood burning and dementia incidence in a longitudinal study in Northern Sweden. *PLoS One* **13**, (2018).
333. Oudin, A. *et al.* Traffic-Related Air Pollution and Dementia Incidence in Northern Sweden: A Longitudinal Study. *Environ. Health Perspect.* **124**, 306–312 (2016).
334. Carey, I. M. *et al.* Are noise and air pollution related to the incidence of dementia? A cohort study in London, England. *BMJ Open* **8**, (2018).
335. Zanier, E. R. *et al.* Induction of a transmissible tau pathology by traumatic brain injury. *Brain* **141**, 2685–2699 (2018).
336. Cao, J. *et al.* ApoE4-associated phospholipid dysregulation contributes to development of Tau hyper-phosphorylation after traumatic brain injury. *Sci. Rep.* **7**, (2017).
337. Bruns, J. & Hauser, W. A. The epidemiology of traumatic brain injury: a review. *Epilepsia* **44**, 2–10 (2003).
338. Fann, J. R. *et al.* Long-term risk of dementia among people with traumatic brain injury in Denmark: a population-based observational cohort study. *The lancet. Psychiatry* **5**, 424–431 (2018).
339. Nordström, A. & Nordström, P. Traumatic brain injury and the risk of dementia diagnosis: A nationwide cohort study. *PLoS Med.* **15**, (2018).
340. Tolppanen, A. M., Taipale, H. & Hartikainen, S. Head or brain injuries and Alzheimer’s disease: A nested case-control register study.

- Alzheimers. Dement.* **13**, 1371–1379 (2017).
341. Mackay, D. F. *et al.* Neurodegenerative Disease Mortality among Former Professional Soccer Players. *N. Engl. J. Med.* **381**, 1801–1808 (2019).
342. Barnes, D. E. *et al.* Association of Mild Traumatic Brain Injury With and Without Loss of Consciousness With Dementia in US Military Veterans. *JAMA Neurol.* **75**, 1055–1061 (2018).
343. Albert, M. S. *et al.* The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **7**, 270–279 (2011).
344. Vermunt, L. *et al.* Duration of preclinical, prodromal, and dementia stages of Alzheimer's disease in relation to age, sex, and APOE genotype. *Alzheimer's Dement.* **15**, 888–898 (2019).
345. Bateman, R. J. *et al.* Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **367**, 795–804 (2012).
346. Price, J. L. *et al.* Neuropathology of nondemented aging: Presumptive evidence for preclinical Alzheimer disease. *Neurobiol. Aging* **30**, 1026–1036 (2009).
347. Aschenbrenner, A. J., Balota, D. A., Gordon, B. A., Ratcliff, R. & Morris, J. C. A diffusion model analysis of episodic recognition in preclinical individuals with a family history for Alzheimer's disease: The adult children study. *Neuropsychology* **30**, 225–238 (2016).
348. Kulic, L. & Unschuld, P. G. Recent advances in cerebrospinal fluid biomarkers for the detection of preclinical Alzheimer's disease. *Curr. Opin. Neurol.* **29**, 749–755 (2016).
349. Habib, M. *et al.* Functional neuroimaging findings in healthy middle-aged adults at risk of Alzheimer's disease. *Ageing Res. Rev.* **36**, 88–104 (2017).
350. Barker, W. W. *et al.* Relative frequencies of Alzheimer disease, Lewy body, vascular and frontotemporal dementia, and hippocampal sclerosis in the State of Florida Brain Bank. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **16**, 203–212 (2002).
351. Viswanathan, A., Rocca, W. A. & Tzourio, C. Vascular risk factors and dementia: How to move forward? *Neurology* vol. 72 368–374 (2009).
352. Dubois, B. *et al.* Revising the definition of Alzheimer's disease: A new lexicon. *The Lancet Neurology* vol. 9 1118–1127 (2010).
353. Dubois, B. *et al.* Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer's disease: The IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* **13**, 614–629 (2014).
354. Jack, C. R. *et al.* Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *The Lancet Neurology* vol. 9 119–128 (2010).
355. Jack, C. R. & Holtzman, D. M. Biomarker Modeling of Alzheimer's Disease. *Neuron* **80**, 1347–1358 (2013).
356. Jack, C. R. *et al.* Amyloid-first and neurodegeneration-first profiles characterize incident amyloid PET positivity. *Neurology* **81**, 1732–1740 (2013).
357. Brettschneider, J., Tredici, K. Del, Lee, V. M.-Y. & Trojanowski, J. Q. Spreading of pathology in neurodegenerative diseases: a focus on human studies. *Nat. Rev. Neurosci.* **2015 162** **16**, 109–120 (2015).
358. Heilbronner, G. *et al.* Seeded strain-like transmission of β -amyloid morphotypes in APP transgenic mice. *EMBO Rep.* **14**, 1017–1022 (2013).
359. Nelson, P. T. *et al.* Alzheimer's disease is not "brain aging": neuropathological, genetic, and epidemiological human studies. *Acta Neuropathol.* **2011 1215** **121**, 571–587 (2011).
360. Jones, L. *et al.* Genetic Evidence Implicates the Immune System and Cholesterol Metabolism in the Aetiology of Alzheimer's Disease. *PLoS One* **5**, e13950 (2010).
361. Bertram, L. & Tanzi, R. E. The Genetics of Alzheimer's Disease. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* **107**, 79–100 (2012).
362. Vos, S. J. B. *et al.* Preclinical Alzheimer's disease and its outcome: a longitudinal cohort study. *Lancet Neurol.* **12**, 957–965 (2013).
363. Johnson, K. A. *et al.* Tau positron emission tomographic imaging in aging and early Alzheimer disease. *Ann. Neurol.* **79**, 110–119 (2016).
364. Petersen, R. C. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *J. Intern. Med.* **256**, 183–194 (2004).
365. Petersen, R. C. *et al.* Mild cognitive impairment: Clinical characterization and outcome. *Arch. Neurol.* **56**, 303–308 (1999).
366. Petersen, R. C. *et al.* Practice guideline update summary: Mild cognitive impairment. *Neurology* **90**, 126–135 (2018).
367. Ward, A., Tardiff, S., Dye, C. & Arrighi, H. M. Rate of Conversion from Prodromal Alzheimer's Disease to Alzheimer's

- Dementia: A Systematic Review of the Literature. *Dement. Geriatr. Cogn. Dis. Extra* **3**, 320–332 (2013).
368. Mitchell, A. J. & Shiri-Feshki, M. Rate of progression of mild cognitive impairment to dementia - Meta-analysis of 41 robust inception cohort studies. *Acta Psychiatr. Scand.* **119**, 252–265 (2009).
369. Jessen, F. *et al.* A conceptual framework for research on subjective cognitive decline in preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **10**, 844–852 (2014).
370. Wolters, A. E., Slioter, A. J. C., Van Der Kooij, A. W. & Van Dijk, D. Cognitive impairment after intensive care unit admission: A systematic review. *Intensive Care Medicine* vol. 39 376–386 (2013).
371. Jessen, F. *et al.* The characterisation of subjective cognitive decline. *The Lancet Neurology* vol. 19 271–278 (2020).
372. Reisberg, B., Shulman, M. B., Torossian, C., Leng, L. & Zhu, W. Outcome over seven years of healthy adults with and without subjective cognitive impairment. *Alzheimer's Dement.* **6**, 11–24 (2010).
373. Donovan, N. J. *et al.* Subjective cognitive concerns and neuropsychiatric predictors of progression to the early clinical stages of Alzheimer disease. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **22**, 1642–1651 (2014).
374. Mitchell, A. J., Beaumont, H., Ferguson, D., Yadegarfar, M. & Stubbs, B. Risk of dementia and mild cognitive impairment in older people with subjective memory complaints: Meta-analysis. *Acta Psychiatr. Scand.* **130**, 439–451 (2014).
375. Vos, S. J. B. *et al.* Prevalence and prognosis of Alzheimer's disease at the mild cognitive impairment stage. *Brain* **138**, 1327 (2015).
376. Van Rossum, I. A. *et al.* Injury markers predict time to dementia in subjects with MCI and amyloid pathology. *Neurology* **79**, 1809–1816 (2012).
377. Buchhave, P. *et al.* Cerebrospinal fluid levels of β -amyloid 1-42, but not of tau, are fully changed already 5 to 10 years before the onset of Alzheimer dementia. *Arch. Gen. Psychiatry* **69**, 98–106 (2012).
378. Brodaty, H., Seeher, K. & Gibson, L. Dementia time to death: A systematic literature review on survival time and years of life lost in people with dementia. *International Psychogeriatrics* vol. 24 1034–1045 (2012).
379. Wattmo, C., Londos, E. & Minthon, L. Risk factors that affect life expectancy in Alzheimer's disease: A 15-year follow-up. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **38**, 286–299 (2014).
380. Rhodius-Meester, H. F. M. *et al.* Disease-related determinants are associated with mortality in dementia due to Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res. Ther.* **2018** *101* **10**, 1–10 (2018).
381. Degerman Gunnarsson, M. *et al.* High tau levels in cerebrospinal fluid predict nursing home placement and rapid progression in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Res. Ther.* **8**, (2016).
382. Alzheimer's Association. 2010 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers. Dement.* **6**, 158–194 (2010).
383. St. George-Hyslop, P. H. *et al.* The genetic defect causing familial Alzheimer's disease maps on chromosome 21. *Science (80-)*. **235**, 885–890 (1987).
384. Tanzi, R. E. *et al.* Amyloid β protein gene: CDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. *Science (80-)*. **235**, 880–884 (1987).
385. Levy, E. *et al.* Mutation of the Alzheimer's disease amyloid gene in hereditary cerebral hemorrhage, Dutch type. *Science (80-)*. **248**, 1124–1126 (1990).
386. Goate, A. *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* **349**, 704–706 (1991).
387. Hardy, J. A. & Higgins, G. A. Alzheimer's disease: The amyloid cascade hypothesis. *Science* vol. 256 184–185 (1992).
388. Selkoe, D. J. Amyloid β -protein precursor: new clues to the genesis of Alzheimer's disease. *Curr. Opin. Neurobiol.* **4**, 708–716 (1994).
389. Sinha, S. & Lieberburg, I. Cellular mechanisms of β -amyloid production and secretion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 11049–11053 (1999).
390. J, N. & DH, S. Regulation of APP cleavage by alpha-, beta- and gamma-secretases. *FEBS Lett.* **483**, 6–10 (2000).
391. Zhang, H., Ma, Q., Zhang, Y. & Xu, H. Proteolytic processing of Alzheimer's β -amyloid precursor protein. *J. Neurochem.* **120**, 9 (2012).
392. Young-Pearse, T. L. *et al.* A critical function for β -amyloid precursor protein in neuronal migration revealed by in utero RNA interference. *J. Neurosci.* **27**, 14459–14469 (2007).
393. Joo, Y. *et al.* Amyloid precursor protein binding protein-1 modulates cell cycle progression in fetal neural stem cells. *PLoS*

- One* **5**, e14203 (2010).
394. Rama, N. *et al.* Amyloid Precursor Protein Regulates Netrin-1-mediated Commissural Axon Outgrowth. *J. Biol. Chem.* **287**, 30014 (2012).
395. Hoe, H.-S. *et al.* Interaction of Reelin with Amyloid Precursor Protein Promotes Neurite Outgrowth. *J. Neurosci.* **29**, 7459 (2009).
396. Weyer, S. W. *et al.* APP and APLP2 are essential at PNS and CNS synapses for transmission, spatial learning and LTP. *EMBO J.* **30**, 2266–2280 (2011).
397. Jedlicka, P. *et al.* Functional consequences of the lack of amyloid precursor protein in the mouse dentate gyrus in vivo. *Exp. Brain Res.* **217**, 441–447 (2012).
398. Weingarten, J., Weingarten, M., Wegner, M. & Volkandt, W. APP—A Novel Player within the Presynaptic Active Zone Proteome. *Front. Mol. Neurosci.* **0**, 43 (2017).
399. Schanzenbächer, C. T., Sambandan, S., Langer, J. D. & Schuman, E. M. Nascent Proteome Remodeling following Homeostatic Scaling at Hippocampal Synapses. *Neuron* **92**, 358–371 (2016).
400. Laßek, M. *et al.* APP Is a Context-Sensitive Regulator of the Hippocampal Presynaptic Active Zone. *PLoS Comput. Biol.* **12**, e1004832–e1004832 (2016).
401. Cruts, M., Theuns, J. & Van Broeckhoven, C. Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases. *Hum. Mutat.* **33**, 1340–1344 (2012).
402. De Jonghe, C. *et al.* Pathogenic APP mutations near the γ -secretase cleavage site differentially affect A β secretion and APP C-terminal fragment stability. *Hum. Mol. Genet.* **10**, 1665–1671 (2001).
403. Ringman, J. M. *et al.* Genetic Heterogeneity in Alzheimer Disease and Implications for Treatment Strategies. *Curr. Neurol. Neurosci. Reports* **2014 1411** **14**, 1–9 (2014).
404. Zhang, G., Xie, Y., Wang, W., Feng, X. & Jia, J. Clinical characterization of an APP mutation (V717I) in five Han Chinese families with early-onset Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* **372**, 379–386 (2017).
405. Jiao, B. *et al.* Mutational analysis in early-onset familial Alzheimer's disease in Mainland China. *Neurobiol. Aging* **35**, 1957.e1-1957.e6 (2014).
406. Schellenberg, G. D. *et al.* Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science (80-.)*. **258**, 668–671 (1992).
407. Sherrington, R. *et al.* Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* **375**, 754–760 (1995).
408. Schroeter, E. H. *et al.* A presenilin dimer at the core of the γ -secretase enzyme: Insights from parallel analysis of Notch 1 and APP proteolysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 13075–13080 (2003).
409. De Strooper, B. *et al.* Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* **391**, 387–390 (1998).
410. Xia, D., Kelleher, R. J., III & Shen, J. Loss of A β 43 production caused by Presenilin-1 mutations in the knockin mouse brain. *Neuron* **90**, 417 (2016).
411. Wang, Y., Greig, N. H., Yu, Q. sheng & Mattson, M. P. Presenilin-1 mutation impairs cholinergic modulation of synaptic plasticity and suppresses NMDA currents in hippocampus slices. *Neurobiol. Aging* **30**, 1061–1068 (2009).
412. Xia, D. *et al.* Presenilin-1 knockin mice reveal loss-of-function mechanism for familial alzheimer's disease. *Neuron* **85**, 967–981 (2015).
413. Saura, C. A. *et al.* Loss of presenilin function causes impairments of memory and synaptic plasticity followed by age-dependent neurodegeneration. *Neuron* **42**, 23–36 (2004).
414. Feng, R. *et al.* Forebrain Degeneration and Ventricle Enlargement Caused by Double Knockout of Alzheimer's Presenilin-1 and Presenilin-2. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **101**, 8162–8167 (2004).
415. Feng, R. *et al.* Deficient neurogenesis in forebrain-specific presenilin-1 knockout mice is associated with reduced clearance of hippocampal memory traces. *Neuron* **32**, 911–926 (2001).
416. Lee, S. H., Sharma, M., Südhof, T. C. & Shen, J. Synaptic function of nicastrin in hippocampal neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 8973–8978 (2014).
417. Tabuchi, K., Chen, G., Südhof, T. C. & Shen, J. Conditional Forebrain Inactivation of Nicastrin Causes Progressive Memory Impairment and Age-Related Neurodegeneration. *J. Neurosci.* **29**, 7290 (2009).
418. Scheuner, D. *et al.* Secreted amyloid β -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat. Med.* **1996 28 2**, 864–870 (1996).

419. Campion, D. *et al.* A large pedigree with early-onset Alzheimer's disease. *Neurology* **45**, 80–85 (1995).
420. Kennedy, A. M. *et al.* Chromosome 14 linked familial Alzheimer's disease: A clinico-pathological study of a single pedigree. *Brain* **118**, 185–205 (1995).
421. Reznik-Wolf, H. *et al.* A novel mutation of presenilin 1 in familial Alzheimer's disease in Israel detected by denaturing gradient gel electrophoresis. *Hum. Genet.* **1996** *986* **98**, 700–702 (1996).
422. Thordardottir, S. *et al.* Reduced penetrance of the PSEN1 H163Y autosomal dominant Alzheimer mutation: a 22-year follow-up study. *Alzheimer's Res. Ther.* **2018** *101* **10**, 1–13 (2018).
423. Rogaev, E. I. *et al.* Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nat.* **1995** *376* **376**, 775–778 (1995).
424. Levy-Lahad, E. *et al.* A Familial Alzheimer's Disease Locus on Chromosome 1. *Science* (80-.). **269**, 970–973 (1995).
425. Jayadev, S. *et al.* Presenilin 2 is the predominant γ -Secretase in microglia and modulates cytokine release. *PLoS One* **5**, (2010).
426. Sannerud, R. *et al.* Restricted Location of PSEN2/ γ -Secretase Determines Substrate Specificity and Generates an Intracellular A β Pool. *Cell* **166**, 193–208 (2016).
427. Pensalfini, A. *et al.* Intracellular amyloid and the neuronal origin of Alzheimer neuritic plaques. *Neurobiol. Dis.* **71**, 53–61 (2014).
428. Qin, J. *et al.* Presenilin 2 deficiency facilitates A β -induced neuroinflammation and injury by upregulating P2X7 expression. *Sci. China Life Sci.* **2017** *602* **60**, 189–201 (2017).
429. Dai, M. H., Zheng, H., Zeng, L. D. & Zhang, Y. The genes associated with early-onset Alzheimer's disease. *Oncotarget* vol. **9** 15132–15143 (2018).
430. Jayadev, S. *et al.* Alzheimer's disease phenotypes and genotypes associated with mutations in presenilin 2. *Brain* **133**, 1143–1154 (2010).
431. Cai, Y., An, S. S. A. & Kim, S. Mutations in presenilin 2 and its implications in Alzheimer's disease and other dementia-associated disorders. *Clin. Interv. Aging* **10**, 1163–1172 (2015).
432. Youn, Y. C. *et al.* Probable novel PSEN2 Val214Leu mutation in Alzheimer's disease supported by structural prediction. *BMC Neurol.* **2014** *141* **14**, 1–5 (2014).
433. Ryan, N. S. & Rossor, M. N. Correlating familial Alzheimer's disease gene mutations with clinical phenotype. *Biomarkers in Medicine* vol. **4** 99–112 (2010).
434. López-Riquelme, N., Alom-Poveda, J., Viciano-Morote, N., Llinares-Ibor, I. & Tormo-Díaz, C. Apolipoprotein E ϵ 4 allele and malondialdehyde level are independent risk factors for Alzheimer's disease. *SAGE Open Med.* **4**, 205031211562673 (2016).
435. Pottier, C. *et al.* TYROBP genetic variants in early-onset Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **48**, 222.e9–222.e15 (2016).
436. Nicolas, G. *et al.* SORL1 rare variants: a major risk factor for familial early-onset Alzheimer's disease. *Mol. Psychiatry* **2016** *216* **21**, 831–836 (2015).
437. Guerreiro, R. J. *et al.* Exome sequencing reveals an unexpected genetic cause of disease: NOTCH3 mutation in a Turkish family with Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **33**, 1008.e17–1008.e23 (2012).
438. Pottier, C. *et al.* High frequency of potentially pathogenic SORL1 mutations in autosomal dominant early-onset Alzheimer disease. *Mol. Psychiatry* **17**, 875–879 (2012).
439. Hebert, L. E. *et al.* Change in risk of Alzheimer disease over time. *Neurology* **75**, 786–791 (2010).
440. Hebert, L. E., Weuve, J., Scherr, P. A. & Evans, D. A. Alzheimer disease in the United States (2010–2050) estimated using the 2010 census. *Neurology* **80**, 1778–1783 (2013).
441. Saunders, A. M. *et al.* Association of apolipoprotein E allele ϵ 4 with late-onset familial and sporadic Alzheimer's disease. *Neurology* **43**, 1467–1472 (1993).
442. Farrer, L. A. Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease. *JAMA* **278**, 1349 (1997).
443. Green, R. C. *et al.* Risk of dementia among white and African American relatives of patients with Alzheimer disease. *J. Am. Med. Assoc.* **287**, 329–336 (2002).
444. Fratiglioni, L., Ahlbom, A., Viitanen, M. & Winblad, B. Risk factors for late-onset Alzheimer's disease: A population-based, case-control study. *Ann. Neurol.* **33**, 258–266 (1993).
445. Lautenschlager, N. T. *et al.* Risk of dementia among relatives of Alzheimer's disease patients in the MIRAGE study: What is in store for the oldest old? *Neurology* **46**, 641–650 (1996).

446. Breslow, J. L. *et al.* Studies of familial type III hyperlipoproteinemia using as a genetic marker the apoE phenotype E2/2. *J. Lipid Res.* **23**, 1224–1235 (1982).
447. Giau, V. Van, Bagyinszky, E., An, S. S. A. & Kim, S. Y. Role of apolipoprotein E in neurodegenerative diseases. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **11**, 1723 (2015).
448. Piaceri, I., Nacmias, B. & Sorbi, S. Genetics of familial and sporadic Alzheimer's disease. *Front. Biosci. - Elit.* **5 E**, 167–177 (2013).
449. Verghese, P. B., Castellano, J. M. & Holtzman, D. M. Apolipoprotein E in Alzheimer's disease and other neurological disorders. *The Lancet Neurology* vol. 10 241–252 (2011).
450. Corbo, R. M. & Scacchi, R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE * 4 a 'thrifty' allele? *Ann. Hum. Genet.* **63**, 301–310 (1999).
451. Kivipelto, M. *et al.* Apolipoprotein E ϵ 4 magnifies lifestyle risks for dementia: a population-based study. *J. Cell. Mol. Med.* **12**, 2762–2771 (2008).
452. Neu, S. C. *et al.* Apolipoprotein E genotype and sex risk factors for Alzheimer disease: A meta-analysis. *JAMA Neurol.* **74**, 1178–1189 (2017).
453. Tang, M. X. *et al.* Relative risk of Alzheimer disease and age-at-onset distributions, based on APOE genotypes among elderly African Americans, Caucasians, and Hispanics in New York City. *Am. J. Hum. Genet.* **58**, 574 (1996).
454. Castano, E. M. *et al.* Fibrillogenesis in Alzheimer's disease of amyloid β peptides and apolipoprotein E. *Biochem. J.* **306**, 599–604 (1995).
455. Martins, I. J. *et al.* Apolipoprotein E, cholesterol metabolism, diabetes, and the convergence of risk factors for Alzheimer's disease and cardiovascular disease. *Mol. Psychiatry* **11**, 721–736 (2006).
456. Lim, Y. Y., Mormino, E. C. & Initiative, F. the A. D. N. APOE genotype and early β -amyloid accumulation in older adults without dementia. *Neurology* **89**, 1028 (2017).
457. Jack, C. R. *et al.* Age, Sex, and APOE ϵ 4 Effects on Memory, Brain Structure, and β -Amyloid Across the Adult Life Span. *JAMA Neurol.* **72**, 511–519 (2015).
458. Papassotiropoulos, A. *et al.* Increased Brain β -Amyloid Load, Phosphorylated Tau, and Risk of Alzheimer Disease Associated With an Intronic CYP46 Polymorphism. *Arch. Neurol.* **60**, 29–35 (2003).
459. Crawford, F. C. *et al.* A polymorphism in the cystatin C gene is a novel risk factor for late-onset Alzheimer's disease. *Neurology* **55**, 763–768 (2000).
460. Grimaldi, L. M. E. *et al.* Association of early-onset Alzheimer's disease with an interleukin-1 α gene polymorphism. *Ann. Neurol.* **47**, 361–365 (2000).
461. Nicoll, J. A. R. *et al.* Association of Interleukin-1 Gene Polymorphisms with Alzheimer's Disease. *Ann. Neurol.* **47**, 365 (2000).
462. Licastro, F. *et al.* Interleukin-6 gene alleles affect the risk of Alzheimer's disease and levels of the cytokine in blood and brain. *Neurobiol. Aging* **24**, 921–926 (2003).
463. Papassotiropoulos, A. *et al.* A genetic variation of the inflammatory cytokine interleukin-6 delays the initial onset and reduces the risk for sporadic Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **45**, 666–668 (1999).
464. Vollbach, H. *et al.* APOA1 polymorphism influences risk for early-onset nonfamilial AD. *Ann. Neurol.* **58**, 436–441 (2005).
465. Bertram, L. *et al.* Family-Based Association between Alzheimer's Disease and Variants in UBQLN1. *N. Engl. J. Med.* **352**, 884–894 (2005).
466. Barrera López, F. J. *et al.* Diagnóstico actual de la Enfermedad de Alzheimer. *Rev. Med. Clínica* **2**, 57–73 (2018).
467. Knopman, D. S. *et al.* Brain injury biomarkers are not dependent on β -amyloid in normal elderly. *Ann. Neurol.* **73**, 472–480 (2013).
468. Prestia, A. *et al.* Prediction of dementia in MCI patients based on core diagnostic markers for Alzheimer disease. *Neurology* **80**, 1048–1056 (2013).
469. Salloway, S. *et al.* Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **370**, 322–333 (2014).
470. Petersen, R. C. *et al.* Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). *Neurology* **74**, 201–209 (2010).
471. Lopez, O. L. *et al.* Amyloid, neurodegeneration, and small vessel disease as predictors of dementia in the oldest-old. *Neurology* **83**, 1804–1811 (2014).
472. Allegri, R. F. *et al.* Enfermedad de Alzheimer. Guía de práctica clínica. *Neurol. Argentina* **3**, 120–137 (2011).
473. Lopera Restrepo, F. Anamnesis en el estudio del paciente con demencia. *Rev. Neurol.* **32**, 1187 (2001).
474. Cancino, M., Rehbein, L., Gómez-Pérez, D. &

- Ortiz, M. S. Evaluación de funcionamiento cognitivo en adultos: Análisis y contrastación de tres de los instrumentos de mayor divulgación en Chile. *Rev. Med. Chil.* **148**, 452–458 (2020).
475. Villarejo, A. & Puertas-Martín, V. Utilidad de los test breves en el cribado de demencia. *Neurología* **26**, 425–433 (2011).
476. Delgado, C. & Salinas, P. Evaluación de las alteraciones cognitivas en adultos mayores. *Rev Hosp Clín Univ Chile* **20**, 244–51 (2009).
477. Nasreddine, Z. S. *et al.* The Montreal Cognitive Assessment, MoCA: A Brief Screening Tool For Mild Cognitive Impairment. *J. Am. Geriatr. Soc.* **53**, 695–699 (2005).
478. Wind, A. W. *et al.* Limitations of the minimal state examination in diagnosing dementia in general practice. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **12**, 101–108 (1997).
479. Carnero-Pardo, C. ¿Es hora de jubilar al Mini-Mental? *Neurología* **29**, 473–481 (2014).
480. Jiménez, D. *et al.* Evaluación del minimal abreviado de la evaluación funcional del adulto mayor (EFAM) como screening para la detección de demencia en la atención primaria. *Rev. Med. Chil.* **145**, 862–868 (2017).
481. Zhou, Y. *et al.* Use of the MoCA in Detecting Early Alzheimer's Disease in a Spanish-Speaking Population with Varied Levels of Education. *Dement. Geriatr. Cogn. Dis. Extra* **5**, 85–95 (2015).
482. Memória, C. M., Yassuda, M. S., Nakano, E. Y. & Forlenza, O. V. Brief screening for mild cognitive impairment: validation of the Brazilian version of the Montreal cognitive assessment. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **28**, 34–40 (2013).
483. Larner, A. J. Screening utility of the Montreal Cognitive Assessment (MoCA): in place of – or as well as – the MMSE? *Int. Psychogeriatrics* **24**, 391–396 (2012).
484. Lloret, A. *et al.* When Does Alzheimer's Disease Really Start? The Role of Biomarkers. *Int. J. Mol. Sci.* **20**, 1–15 (2019).
485. Martín, M. Biomarcadores en la enfermedad de Alzheimer: definición, significación diagnóstica y utilidad clínica. *Psicogeriatría* **1**, 101–114 (2009).
486. Scheltens, P. *et al.* Alzheimer's disease. *The Lancet* vol. 388 505–517 (2016).
487. Jack, C. R. *et al.* A/T/N: An unbiased descriptive classification scheme for Alzheimer disease biomarkers. *Neurology* **87**, 539–547 (2016).
488. Villain, N. *et al.* Regional dynamics of amyloid- β deposition in healthy elderly, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a voxelwise PiB-PET longitudinal study. *Brain* **135**, 2126–2139 (2012).
489. Fagan, A. M. *et al.* Cerebrospinal fluid tau/ β -amyloid42 ratio as a prediction of cognitive decline in nondemented older adults. *Arch. Neurol.* **64**, 343–349 (2007).
490. Mattsson, N. *et al.* CSF Biomarkers and Incipient Alzheimer Disease in Patients With Mild Cognitive Impairment. *JAMA* **302**, 385–393 (2009).
491. Visser, P. J. *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.* **8**, 619–627 (2009).
492. Buerger, K. *et al.* CSF phosphorylated tau protein correlates with neocortical neurofibrillary pathology in Alzheimer's disease. *Brain* **129**, 3035–3041 (2006).
493. Brier, M. R. *et al.* Tau and Ab imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Sci. Transl. Med.* **8**, (2016).
494. Chhatwal, J. P. *et al.* Temporal T807 binding correlates with CSF tau and phospho-tau in normal elderly. *Neurology* **87**, 920–926 (2016).
495. Seab, J. P. *et al.* Quantitative NMR measurements of hippocampal atrophy in Alzheimer's disease. *Magn. Reson. Med.* **8**, 200–208 (1988).
496. Fox, N. C. *et al.* Imaging of onset and progression of Alzheimer's disease with voxel-compression mapping of serial magnetic resonance images. *Lancet* **358**, 201–205 (2001).
497. Minoshima, S. *et al.* Metabolic reduction in the posterior cingulate cortex in very early Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **42**, 85–94 (1997).
498. Besson, F. L. *et al.* Cognitive and brain profiles associated with current neuroimaging biomarkers of preclinical alzheimer's disease. *J. Neurosci.* **35**, 10402–10411 (2015).
499. Dickerson, B. C. *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. *Cereb. Cortex* **19**, 497–510 (2009).
500. Landau, S. M. *et al.* Associations between

- cognitive, functional, and FDG-PET measures of decline in AD and MCI. *Neurobiol. Aging* **32**, 1207–1218 (2011).
501. Knopman, D. S. *et al.* Selective Worsening of Brain Injury Biomarker Abnormalities in Cognitively Normal Elderly Persons With β -Amyloidosis. *JAMA Neurol.* **70**, 1030–1038 (2013).
502. Sprawls, P. *Magnetic Resonance Imaging Principles and Techniques. Medical Physics Publishing Corporation* (2000). doi:10.1002/9781118692202.ch17.
503. Vinogradov, E. *et al.* High-resolution anatomic, diffusion tensor, and magnetization transfer magnetic resonance imaging of the optic chiasm at 3T. *J. Magn. Reson. Imaging* **22**, 302–306 (2005).
504. Scheltens, P. *et al.* Atrophy of medial temporal lobes on MRI in 'probable' Alzheimer's disease and normal ageing: diagnostic value and neuropsychological correlates. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **55**, 967–972 (1992).
505. Teipel, S. *et al.* Multimodal imaging in Alzheimer's disease: validity and usefulness for early detection. *Lancet. Neurol.* **14**, 1037–1053 (2015).
506. Braak, H. & Braak, E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* **82**, 239–259 (1991).
507. Du, A. T. *et al.* Higher atrophy rate of entorhinal cortex than hippocampus in AD. *Neurology* **62**, 422–427 (2004).
508. Pennanen, C. *et al.* Hippocampus and entorhinal cortex in mild cognitive impairment and early AD. *Neurobiol. Aging* **25**, 303–310 (2004).
509. Nesteruk, M. *et al.* Predicting the conversion of mild cognitive impairment to Alzheimer's disease based on the volumetric measurements of the selected brain structures in magnetic resonance imaging. *Neurol. Neurochir. Pol.* **49**, 349–353 (2015).
510. Oosterman, J. M., Oosterveld, S., Rikkert, M. G. O., Claassen, J. A. & Kessels, R. P. C. Medial temporal lobe atrophy relates to executive dysfunction in Alzheimer's disease. *Int. Psychogeriatrics* **24**, 1474–1482 (2012).
511. Li, X., Coyle, D., Maguire, L., Watson, D. R. & McGinnity, T. M. Gray matter concentration and effective connectivity changes in Alzheimer's disease: A longitudinal structural MRI study. *Neuroradiology* **53**, 733–748 (2011).
512. Chandra, A., Dervenoulas, G. & Politis, M. Magnetic resonance imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J. Neurol.* **266**, 1293–1302 (2019).
513. Cavado, E. *et al.* Local amygdala structural differences with 3T MRI in patients with Alzheimer disease. *Neurology* **76**, 727–733 (2011).
514. Tam, C. W. C., Burton, E. J., McKeith, I. G., Burn, D. J. & O'Brien, J. T. Temporal lobe atrophy on MRI in Parkinson disease with dementia. *Neurology* **64**, 861–865 (2005).
515. Thomann, P. A. *et al.* Reduced olfactory bulb and tract volume in early Alzheimer's disease-A MRI study. *Neurobiol. Aging* **30**, 838–841 (2009).
516. Guo, X. *et al.* Voxel-based assessment of gray and white matter volumes in Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* **468**, 146 (2010).
517. De Jong, L. W. *et al.* Strongly reduced volumes of putamen and thalamus in Alzheimer's disease: an MRI study. *Brain* **131**, 3277–3285 (2008).
518. Poulin, S. P., Dautoff, R., Morris, J. C., Barrett, L. F. & Dickerson, B. C. Amygdala atrophy is prominent in early Alzheimer's disease and relates to symptom severity. *Psychiatry Res. Neuroimaging* **194**, 7–13 (2011).
519. Tagawa, R. *et al.* Correlation between right medial temporal lobe atrophy and persecutory delusions in patients with dementia of the Alzheimer's type demonstrated on VSRAD advance. *Osaka City Med. J.* **60**, 73–80 (2014).
520. Zhang, C. *et al.* The effect of ApoE ϵ 4 on clinical and structural MRI markers in prodromal Alzheimer's disease. *Quant. Imaging Med. Surg.* **10**, 464–474 (2020).
521. Duarte, A. *et al.* Volumetric correlates of memory and executive function in normal elderly, mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* **406**, 60–65 (2006).
522. Kilimann, I. *et al.* Subregional Basal Forebrain Atrophy in Alzheimer's Disease: A Multicenter Study. *J. Alzheimer's Dis.* **40**, 687–700 (2014).
523. Vasavada, M. M. *et al.* Olfactory Cortex Degeneration in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *J. Alzheimer's Dis.* **45**, 947–958 (2015).
524. Tabatabaei-Jafari, H., Walsh, E., Shaw, M. E. & Cherbuin, N. The cerebellum shrinks faster than normal ageing in Alzheimer's disease but not in mild cognitive impairment. *Hum. Brain Mapp.* **38**, 3141 (2017).
525. Lee, J. H., Ryan, J., Andreescu, C., Aizenstein, H. & Lim, H. K. Brainstem morphological changes in Alzheimer's disease. *Neuroreport*

- 26, 411 (2015).
526. Reiman, E. M. *et al.* Hippocampal volumes in cognitively normal persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **44**, 288–291 (1998).
527. Chen, K. *et al.* Correlations between apolipoprotein E ϵ 4 gene dose and whole brain atrophy rates. *Am. J. Psychiatry* **164**, 916–921 (2007).
528. Juottonen, K., Lehtovirta, M., Helisalmi, S., Riekkinen, P. J. & Soininen, H. Major decrease in the volume of the entorhinal cortex in patients with Alzheimer's disease carrying the apolipoprotein E epsilon4 allele. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **65**, 322–327 (1998).
529. Fleisher, A. *et al.* Sex, apolipoprotein E epsilon 4 status, and hippocampal volume in mild cognitive impairment. *Arch. Neurol.* **62**, 953–957 (2005).
530. Berti, V. *et al.* Structural brain changes in normal individuals with a maternal history of Alzheimer's. *Neurobiol. Aging* **32**, 2325.e17–2325.e26 (2011).
531. Honea, R. A., Swerdlow, R. H., Vidoni, E. D. & Burns, J. M. Progressive regional atrophy in normal adults with a maternal history of Alzheimer disease. *Neurology* **76**, 822–829 (2011).
532. Honea, R. A., Swerdlow, R. H., Vidoni, E. D., Goodwin, J. & Burns, J. M. Reduced gray matter volume in normal adults with a maternal family history of Alzheimer disease. *Neurology* **74**, 113–120 (2010).
533. Fazekas, F. *et al.* Pathologic correlates of incidental MRI white matter signal hyperintensities. *Neurology* **43**, 1683–1689 (1993).
534. Smith, E. E. *et al.* Magnetic Resonance Imaging White Matter Hyperintensities and Brain Volume in the Prediction of Mild Cognitive Impairment and Dementia. *Arch. Neurol.* **65**, 94–100 (2008).
535. Capizzano, A. A. *et al.* White matter hyperintensities are significantly associated with cortical atrophy in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **75**, 822–827 (2004).
536. Debette, S. *et al.* Subcortical hyperintensities are associated with cognitive decline in patients with mild cognitive impairment. *Stroke* **38**, 2924–2930 (2007).
537. Berlow, Y. A. *et al.* Neuropsychiatric correlates of white matter hyperintensities in Alzheimer's disease. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **25**, 780–788 (2010).
538. Brickman, A. M. *et al.* Measuring Cerebral Atrophy and White Matter Hyperintensity Burden to Predict the Rate of Cognitive Decline in Alzheimer Disease. *Arch. Neurol.* **65**, 1202–1208 (2008).
539. Ou, Y. N. *et al.* Blood Pressure and Risks of Cognitive Impairment and Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis of 209 Prospective Studies. *Hypertension* **76**, 217–225 (2020).
540. Miao, R., Chen, H.-Y., Robert, P., Smith, E. E. & Ismail, Z. White matter hyperintensities and mild behavioral impairment: Findings from the MEMENTO cohort study. *Cereb. Circ. - Cogn. Behav.* **2**, 100028 (2021).
541. Kandel, B. M. *et al.* White matter hyperintensities are more highly associated with preclinical Alzheimer's disease than imaging and cognitive markers of neurodegeneration. *Alzheimer's Dement. (Amsterdam, Netherlands)* **4**, 18–27 (2016).
542. Fiford, C. M. *et al.* White matter hyperintensities are associated with disproportionate progressive hippocampal atrophy. *Hippocampus* **27**, 249–262 (2017).
543. Lo, R. Y. & Jagust, W. J. Vascular burden and Alzheimer disease pathologic progression. *Neurology* **79**, 1349–1355 (2012).
544. Gattringer, T. *et al.* Vascular risk factors, white matter hyperintensities and hippocampal volume in normal elderly individuals. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **33**, 29–34 (2012).
545. Nosheny, R. L. *et al.* Variables associated with hippocampal atrophy rate in normal aging and mild cognitive impairment. *Neurobiol. Aging* **36**, 273–282 (2015).
546. Alloza, C. *et al.* Information processing speed mediates the relationship between white matter and general intelligence in schizophrenia. *Psychiatry Res. Neuroimaging* **254**, 26–33 (2016).
547. Brickman, A. M. *et al.* APOE ϵ 4 and risk for Alzheimer's disease: Do regionally distributed white matter hyperintensities play a role? *Alzheimer's Dement.* **10**, 619–629 (2014).
548. Bobinski, M. *et al.* The histological validation of post mortem magnetic resonance imaging-determined hippocampal volume in Alzheimer's disease. *Neuroscience* **95**, 721–725 (1999).
549. Blennow, K. & Zetterberg, H. Biomarkers for Alzheimer's disease: current status and prospects for the future. *J. Intern. Med.* **284**, 643–663 (2018).
550. Hampel, H. *et al.* Core candidate

- neurochemical and imaging biomarkers of Alzheimer's disease. *Alzheimers. Dement.* **4**, 38–48 (2008).
551. Blennow, K., Hampel, H., Weiner, M. & Zetterberg, H. Cerebrospinal fluid and plasma biomarkers in Alzheimer disease. *Nat. Rev. Neurol.* **6**, 131–144 (2010).
552. Seubert, P. *et al.* Isolation and quantification of soluble Alzheimer's β -peptide from biological fluids. *Nat.* 1992 3596393 **359**, 325–327 (1992).
553. Jarrett, J. T., Berger, E. P. & Lansbury, P. T. The carboxy terminus of the beta amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry* **32**, 4693–4697 (1993).
554. Motter, R. *et al.* Reduction of beta-amyloid peptide42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **38**, 643–648 (1995).
555. Tabaton, M. & Piccini, A. Role of water-soluble amyloid- β in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Int. J. Exp. Pathol.* **86**, 139 (2005).
556. Blennow, K. Cerebrospinal fluid protein biomarkers for Alzheimer's disease. *NeuroRx* **1**, 213–225 (2004).
557. Wiltfang, J. *et al.* Amyloid beta peptide ratio 42/40 but not A beta 42 correlates with phospho-Tau in patients with low- and high-CSF A beta 40 load. *J. Neurochem.* **101**, 1053–1059 (2007).
558. Hanon, O. *et al.* Plasma amyloid levels within the Alzheimer's process and correlations with central biomarkers. *Alzheimers. Dement.* **14**, 858–868 (2018).
559. Fukuyama, R. *et al.* Age-dependent change in the levels of Abeta40 and Abeta42 in cerebrospinal fluid from control subjects, and a decrease in the ratio of Abeta42 to Abeta40 level in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease patients. *Eur. Neurol.* **43**, 155–160 (2000).
560. Tamaoka, A. *et al.* Amyloid beta protein 42(43) in cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* **148**, 41–45 (1997).
561. Mehta, P. D. *et al.* Plasma and cerebrospinal fluid levels of amyloid beta proteins 1-40 and 1-42 in Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **57**, 100–105 (2000).
562. Kanai, M. *et al.* Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A beta1-40, and A beta1-42(43) in Alzheimer's disease: a study in Japan. *Ann. Neurol.* **44**, 17–26 (1998).
563. Shoji, M. *et al.* Combination assay of CSF tau, A beta 1-40 and A beta 1-42(43) as a biochemical marker of Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* **158**, 134–140 (1998).
564. Buée, L., Bussièrè, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A. & Hof, P. R. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res. Brain Res. Rev.* **33**, 95–130 (2000).
565. Goedert, M., Spillantini, M. G. & Crowther, R. A. Cloning of a big tau microtubule-associated protein characteristic of the peripheral nervous system. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **89**, 1983–1987 (1992).
566. Grundke-Iqbal, I. *et al.* Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **83**, 4913–4917 (1986).
567. Iqbal, K. *et al.* Mechanism of neurofibrillary degeneration and pharmacologic therapeutic approach. *J. Neural Transm. Suppl.* **59**, 213–222 (2000).
568. Hesse, C. *et al.* Transient increase in total tau but not phospho-tau in human cerebrospinal fluid after acute stroke. *Neurosci. Lett.* **297**, 187–190 (2001).
569. Öst, M. *et al.* Initial CSF total tau correlates with 1-year outcome in patients with traumatic brain injury. *Neurology* **67**, 1600–1604 (2006).
570. Blennow, K. *et al.* Tau protein in cerebrospinal fluid: a biochemical marker for axonal degeneration in Alzheimer disease? *Mol. Chem. Neuropathol.* **26**, 231–245 (1995).
571. Blennow, K., Vanmechelen, E. & Hampel, H. CSF total tau, Abeta42 and phosphorylated tau protein as biomarkers for Alzheimer's disease. *Mol. Neurobiol.* **24**, 87–97 (2001).
572. Vandermeeren, M. *et al.* Detection of tau proteins in normal and Alzheimer's disease cerebrospinal fluid with a sensitive sandwich enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Neurochem.* **61**, 1828–1834 (1993).
573. Blom, E. S. *et al.* Rapid Progression from Mild Cognitive Impairment to Alzheimer's Disease in Subjects with Elevated Levels of Tau in Cerebrospinal Fluid and the APOE ϵ 4/ ϵ 4 Genotype. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **27**, 458–464 (2009).
574. Sämgård, K. *et al.* Cerebrospinal fluid total tau as a marker of Alzheimer's disease intensity. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **25**, 403–410 (2010).
575. Wallin, Å. K., Hansson, O., Blennow, K., Londos, E. & Minthon, L. Can CSF biomarkers

- or pre-treatment progression rate predict response to cholinesterase inhibitor treatment in Alzheimer's disease? *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **24**, 638–647 (2009).
576. Tapiola, T. *et al.* Cerebrospinal Fluid β -Amyloid 42 and Tau Proteins as Biomarkers of Alzheimer-Type Pathologic Changes in the Brain. *Arch. Neurol.* **66**, 382–389 (2009).
577. Hampel, H. *et al.* Correlation of cerebrospinal fluid levels of tau protein phosphorylated at threonine 231 with rates of hippocampal atrophy in Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **62**, 770–773 (2005).
578. Jia, L. *et al.* Concordance between the assessment of A β 42, T-tau, and P-T181-tau in peripheral blood neuronal-derived exosomes and cerebrospinal fluid. *Alzheimers. Dement.* **15**, 1071–1080 (2019).
579. Lim, C. Z. J. *et al.* Subtyping of circulating exosome-bound amyloid β reflects brain plaque deposition. *Nat. Commun.* **10**, (2019).
580. Mattsson, N. *et al.* Plasma tau in Alzheimer disease. *Neurology* **87**, 1827–1835 (2016).
581. Tatebe, H. *et al.* Quantification of plasma phosphorylated tau to use as a biomarker for brain Alzheimer pathology: pilot case-control studies including patients with Alzheimer's disease and down syndrome. *Mol. Neurodegener.* **12**, (2017).
582. Sancesario, G. & Bernardini, S. AD biomarker discovery in CSF and in alternative matrices. *Clin. Biochem.* **72**, 52–57 (2019).
583. Ship, J. A., DeCarli, C., Friedland, R. P. & Baum, B. J. Diminished submandibular salivary flow in dementia of the Alzheimer Type. *Journals Gerontol.* **45**, (1990).
584. Ship, J. A. & Puckett, S. A. Longitudinal Study on Oral Health in Subjects with Alzheimer's Disease. *J. Am. Geriatr. Soc.* **42**, 57–63 (1994).
585. Reuster, T., Rilke, O. & Oehler, J. High correlation between salivary MHPG and CSF MHPG. *Psychopharmacol.* **2002** *1624* **162**, 415–418 (2002).
586. Formichi, P., Battisti, C., Radi, E. & Federico, A. Cerebrospinal fluid tau, A beta, and phosphorylated tau protein for the diagnosis of Alzheimer's disease. *J. Cell. Physiol.* **208**, 39–46 (2006).
587. Bermejo-Pareja, F., Antequera, D., Vargas, T., Molina, J. A. & Carro, E. Saliva levels of Abeta1-42 as potential biomarker of Alzheimer's disease: a pilot study. *BMC Neurol.* **10**, 108 (2010).
588. Kim, C.-B., Choi, Y. Y., Song, W. K. & Song, K.-B. Antibody-based magnetic nanoparticle immunoassay for quantification of Alzheimer's disease pathogenic factor. *J. Biomed. Opt.* **19**, 051205 (2014).
589. Sabbagh, M. N. *et al.* Salivary beta amyloid protein levels are detectable and differentiate patients with Alzheimer's disease dementia from normal controls: preliminary findings. *BMC Neurol.* **18**, 155 (2018).
590. Örnek, N., Dağ, E. & Örnek, K. Corneal sensitivity and tear function in neurodegenerative diseases. *Curr. Eye Res.* **40**, 423–428 (2015).
591. Kalló, G. *et al.* Changes in the chemical barrier composition of tears in Alzheimer's disease reveal potential tear diagnostic biomarkers. *PLoS One* **11**, 1–14 (2016).
592. Kenny, A. *et al.* Proteins and microRNAs are differentially expressed in tear fluid from patients with Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **9**, (2019).
593. Hee Lee, S., Kim, I. & Chul Chung, B. Increased urinary level of oxidized nucleosides in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Clin. Biochem.* **40**, 936–938 (2007).
594. García-Blanco, A. *et al.* Reliable determination of new lipid peroxidation compounds as potential early Alzheimer Disease biomarkers. *Talanta* **184**, 193–201 (2018).
595. Praticò, D., Clark, C. M., Liun, F., Lee, V. Y. M. & Trojanowski, J. Q. Increase of brain oxidative stress in mild cognitive impairment: a possible predictor of Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **59**, 972–976 (2002).
596. Zhang, J. *et al.* Accuracy of urinary AD7c-NTP for diagnosing Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *J. Alzheimers. Dis.* **40**, 153–159 (2014).
597. Zhang, N. *et al.* Urine AD7c-NTP Predicts Amyloid Deposition and Symptom of Agitation in Patients with Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *J. Alzheimers. Dis.* **60**, 87–95 (2017).
598. Agbemenyah, H. Y., Agis-Balboa, R. C., Burkhardt, S., Delalle, I. & Fischer, A. Insulin growth factor binding protein 7 is a novel target to treat dementia. *Neurobiol. Dis.* **62**, 135–143 (2014).
599. Rentsendorj, A. *et al.* A novel role for osteopontin in macrophage-mediated amyloid- β clearance in Alzheimer's models. *Brain. Behav. Immun.* **67**, 163–180 (2018).
600. Yang, W. *et al.* Trichostatin A increases the levels of plasma gelsolin and amyloid beta-

- protein in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Life Sci.* **99**, 31–36 (2014).
601. Takae, K. *et al.* Albuminuria Increases the Risks for Both Alzheimer Disease and Vascular Dementia in Community-Dwelling Japanese Elderly: The Hisayama Study. *J. Am. Heart Assoc.* **7**, (2018).
602. London, A., Benhar, I. & Schwartz, M. The retina as a window to the brain - From eye research to CNS disorders. *Nat. Rev. Neurol.* **9**, 44–53 (2013).
603. De Groef, L. & Cordeiro, M. F. Is the eye an extension of the brain in central nervous system disease? *J. Ocul. Pharmacol. Ther.* **34**, 129–133 (2018).
604. Lenaers, G. *et al.* OPA1 functions in mitochondria and dysfunctions in optic nerve. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **41**, 1866–1874 (2009).
605. Cuenca, N. *et al.* Cellular responses following retinal injuries and therapeutic approaches for neurodegenerative diseases. *Prog. Retin. Eye Res.* **43**, 17–75 (2014).
606. J. Salazar, J. *et al.* Anatomy of the Human Optic Nerve: Structure and Function. in *Optic Nerve* (IntechOpen, 2019). doi:10.5772/intechopen.79827.
607. Levkovitch-Verbin, H. *et al.* A Model to Study Differences between Primary and Secondary Degeneration of Retinal Ganglion Cells in Rats by Partial Optic Nerve Transection. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **44**, 3388–3393 (2003).
608. Chidlow, G., Ebnetter, A., Wood, J. P. M. & Casson, R. J. The optic nerve head is the site of axonal transport disruption, axonal cytoskeleton damage and putative axonal regeneration failure in a rat model of glaucoma. *Acta Neuropathol.* **121**, 737–751 (2011).
609. Wang, J. T., Medress, Z. A. & Barres, B. A. Axon degeneration: Molecular mechanisms of a self-destruction pathway. *J. Cell Biol.* **196**, 7–18 (2012).
610. Yoles, E. & Schwartz, M. Degeneration of Spared Axons Following Partial White Matter Lesion: Implications for Optic Nerve Neuropathies. *Exp. Neurol.* **153**, 1–7 (1998).
611. Lingor, P. *et al.* Inhibition of Rho kinase (ROCK) increases neurite outgrowth on chondroitin sulphate proteoglycan in vitro and axonal regeneration in the adult optic nerve in vivo. *J. Neurochem.* **103**, 181–189 (2007).
612. Schwab, M. E. Nogo and axon regeneration. *Curr. Opin. Neurobiol.* **14**, 118–124 (2004).
613. Fischer, D., He, Z. & Benowitz, L. I. Counteracting the Nogo Receptor Enhances Optic Nerve Regeneration If Retinal Ganglion Cells Are in an Active Growth State. *J. Neurosci.* **24**, 1646–1651 (2004).
614. Rolls, A. *et al.* Two Faces of Chondroitin Sulfate Proteoglycan in Spinal Cord Repair: A Role in Microglia/Macrophage Activation. *PLOS Med.* **5**, e171 (2008).
615. Marchesi, N., Fahmideh, F., Boschi, F., Pascale, A. & Barbieri, A. Ocular Neurodegenerative Diseases: Interconnection between Retina and Cortical Areas. *Cells* **2021**, Vol. 10, Page 2394 **10**, 2394 (2021).
616. Niederkorn, J. Y. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege. *Nat. Immunol.* **2006** **7**, 354–359 (2006).
617. Streilein, J. W. Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nat. Rev. Immunol.* **3**, 879–889 (2003).
618. Ohta, K., Wiggert, B., Taylor, A. & Streilein, J. . Effects of experimental ocular inflammation on ocular immune privilege. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **40**, 2010–2018 (1999).
619. Ramírez, J. M. *Patogénesis de la neurodegeneración glaucomatosa comocausa de la ceguera. Una visión integral.* (Real Academia de Doctores de España, 2021).
620. Ramírez, J. M. *et al.* Glia and blood retinal barrier: effects of ocular hypertension. in *Cardiovascular Disease II* 123–162 (iConcept Press Ltd, 2014).
621. Jindal, V. Interconnection Between Brain and Retinal Neurodegenerations. *Mol. Neurobiol.* **51**, 885–892 (2015).
622. Díaz-Coránguez, M., Ramos, C. & Antonetti, D. A. The inner blood-retinal barrier: Cellular basis and development. *Vision Res.* **139**, 123–137 (2017).
623. Abbott, N. J., Patabendige, A. A. K., Dolman, D. E. M., Yusof, S. R. & Begley, D. J. Structure and function of the blood–brain barrier. *Neurobiol. Dis.* **37**, 13–25 (2010).
624. Tso, M. O. M., Shih, C. Y. & McLean, I. W. Is There a Blood-Brain Barrier at the Optic Nerve Head? *Arch. Ophthalmol.* **93**, 815–825 (1975).
625. Hofman, P., Hoyng, P., Vanderwerf, F., Vrensen, G. F. J. M. & Schlingemann, R. O. Lack of blood-brain barrier properties in microvessels of the prelaminar optic nerve head. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **42**, 895–901 (2001).

626. Czako, C. *et al.* Retinal biomarkers for Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment and dementia (VCID): implication for early diagnosis and prognosis. *GeroScience* vol. 42 1499–1525 (2020).
627. Gupta, V. *et al.* One protein, multiple pathologies: multifaceted involvement of amyloid β in neurodegenerative disorders of the brain and retina. *Cell. Mol. Life Sci.* 2016 7322 **73**, 4279–4297 (2016).
628. Sergeeva, E. G., Rosenberg, P. A. & Benowitz, L. I. Non-Cell-Autonomous Regulation of Optic Nerve Regeneration by Amacrine Cells. *Front. Cell. Neurosci.* **0**, 117 (2021).
629. Prasad, S. & Galetta, S. L. Anatomy and physiology of the afferent visual system. in *Handbook of Clinical Neurology* vol. 102 3–19 (Elsevier, 2011).
630. Joukal, M. Anatomy of the human visual pathway. in *Homonymous Visual Field Defects* 1–16 (Springer, Cham, 2017). doi:10.1007/978-3-319-52284-5_1.
631. Gray, H., Williams, P. L. (Peter L. & Bannister, L. H. *Gray's anatomy: the anatomical basis of medicine and surgery.* (1995).
632. Flores-Herr, N., Protti, D. A. & Wässle, H. Synaptic Currents Generating the Inhibitory Surround of Ganglion Cells in the Mammalian Retina. *J. Neurosci.* **21**, 4852–4863 (2001).
633. Ayoub, G. S. & Matthews, G. Substance P modulates calcium current in retinal bipolar neurons. *Vis. Neurosci.* **8**, 539–544 (1992).
634. Kolb, H., Linberg, K. A. & Fisher, S. K. Neurons of the human retina: A Golgi study. *J. Comp. Neurol.* **318**, 147–187 (1992).
635. Remington, L. A. Retina. in *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System* 61–92 (Butterworth-Heinemann, 2012). doi:10.1016/B978-1-4377-1926-0.10004-9.
636. Masland, R. H. The tasks of amacrine cells. *Vis. Neurosci.* **29**, 3–9 (2012).
637. Salazar, J. *et al.* Anatomofisiología del nervio óptico: glioarquitectura y vascularización. in *Diagnóstico y tratamiento del glaucoma del ángulo abierto* (eds. García Sánchez, J., Honrubia López, F., García Feijóo, J. & Pablo Júlvez, L.) 69–88 (Sociedad Española de Oftalmología, 2013).
638. Kuffler, S. W. Discharge patterns and functional organization of mammalian retina. *J. Neurophysiol.* **16**, 37–68 (1953).
639. Hendry, S. H. C. & Yoshioka, T. A Neurochemically Distinct Third Channel in the Macaque Dorsal Lateral Geniculate Nucleus. *Science (80-)*. **264**, 575–577 (1994).
640. Livingstone, M. & Hubel, D. Segregation of Form, Color, Movement, and Depth: Anatomy, Physiology, and Perception. *Science (80-)*. **240**, 740–749 (1988).
641. Croner, L. J. & Kaplan, E. Receptive fields of P and M ganglion cells across the primate retina. *Vision Res.* **35**, 7–24 (1995).
642. Field, G. D. *et al.* Spatial Properties and Functional Organization of Small Bistratified Ganglion Cells in Primate Retina. *J. Neurosci.* **27**, 13261–13272 (2007).
643. Lax, P., Ortuño-Lizarán, I., Maneu, V., Vidal-Sanz, M. & Cuenca, N. Photosensitive Melanopsin-Containing Retinal Ganglion Cells in Health and Disease: Implications for Circadian Rhythms. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, Vol. 20, Page 3164 **20**, 3164 (2019).
644. Esquiva, G., Lax, P., Pérez-Santonja, J. J., García-Fernández, J. M. & Cuenca, N. Loss of melanopsin-expressing ganglion cell subtypes and dendritic degeneration in the aging human retina. *Front. Aging Neurosci.* **9**, 79 (2017).
645. Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M. & Yau, K. W. Melanopsin-containing retinal ganglion cells: Architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science (80-)*. **295**, 1065–1070 (2002).
646. Hannibal, J., Hindersson, P., Knudsen, S. M., Georg, B. & Fahrenkrug, J. The Photopigment Melanopsin Is Exclusively Present in Pituitary Adenylate Cyclase-Activating Polypeptide-Containing Retinal Ganglion Cells of the Retinohypothalamic Tract. *J. Neurosci.* **22**, RC191–RC191 (2002).
647. Vugler, A. *et al.* A role for the outer retina in development of the intrinsic pupillary light reflex in mice. *Neuroscience* **286**, 60–78 (2015).
648. Kupfer, C., Chumbley, L., De, J. & Downer, C. Quantitative histology of optic nerve, optic tract and lateral geniculate nucleus of man. *J. Anat.* **101**, 393 (1967).
649. Kennard, C. & Leigh, R. J. *Neuro-ophthalmology.* (Elsevier, 2011).
650. Kelts, E. A. The basic anatomy of the optic nerve and visual system (or, why Thoreau was wrong). *NeuroRehabilitation* **27**, 217–222 (2010).
651. Chacko, L. W. The laminar pattern of the lateral geniculate body in the primates. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **11**, 211–224 (1948).
652. Leventhal, A. G., Rodieck, R. W. & Dreher, B. Retinal ganglion cell classes in the Old World

- monkey: morphology and central projections. *Science* **213**, 1142–1144 (1981).
653. Kaas, J. H., Huerta, M. F., Weber, J. T. & Harting, J. K. Patterns of retinal terminations and laminar organization of the lateral geniculate nucleus of primates. *J. Comp. Neurol.* **182**, 517–553 (1978).
654. Hendry, S. H. C. & Clay Reid, R. The koniocellular pathway in primate vision. *Annual Review of Neuroscience* vol. 23 127–153 (2000).
655. Guillery, R. W. & Sherman, S. M. Thalamic relay functions and their role in corticocortical communication: generalizations from the visual system. *Neuron* **33**, 163–175 (2002).
656. Van Horn, S. C., Erişir, A. & Sherman, S. M. Relative distribution of synapses in the A-laminae of the lateral geniculate nucleus of the cat. *J. Comp. Neurol.* **416**, 509 (2000).
657. Wichmann, W. & Müller-Forell, W. Anatomy of the visual system. *Eur. J. Radiol.* **49**, 8–30 (2004).
658. Swienton, D. J. & Thomas, A. G. The visual pathway--functional anatomy and pathology. *Semin. Ultrasound. CT. MR* **35**, 487–503 (2014).
659. Fujita, N. *et al.* Lateral Geniculate Nucleus: Anatomic and Functional Identification by Use of MR Imaging. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* **22**, 1719 (2001).
660. Van Buren, J. M. & Baldwin, M. The architecture of the optic radiation in the temporal lobe of man. *Brain* **81**, 15–40 (1958).
661. Hubel, D. H. & Wiesel, T. N. Ferrier lecture - Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc. R. Soc. London. Ser. B. Biol. Sci.* **190**, 1–59 (1977).
662. Grill-Spector, K. & Malach, R. The human visual cortex. *Annu. Rev. Neurosci.* **27**, 649–677 (2004).
663. Kupersmith, M. J. *Neurovascular Neurophthalmology. Neurovascular Neurophthalmology* (Springer Berlin Heidelberg, 1993). doi:10.1007/978-3-642-77620-5.
664. Sincich, L. C. & Horton, J. C. Divided by cytochrome oxidase: a map of the projections from V1 to V2 in macaques. *Science* **295**, 1734–1737 (2002).
665. Shipp, S. & Zeki, S. Segregation of pathways leading from area V2 to areas V4 and V5 of macaque monkey visual cortex. *Nat.* **315**, 322–324 (1985).
666. Zeki, S. The representation of colours in the cerebral cortex. *Nature* **284**, 412–418 (1980).
667. Tootell, R. B. H. *et al.* Functional analysis of human MT and related visual cortical areas using magnetic resonance imaging. *J. Neurosci.* **15**, 3215–3230 (1995).
668. Boussaoud, D., Ungerleider, L. G. & Desimone, R. Pathways for motion analysis: Cortical connections of the medial superior temporal and fundus of the superior temporal visual areas in the macaque. *J. Comp. Neurol.* **296**, 462–495 (1990).
669. Kafaligonul, H. Vision: A Systems Neuroscience Perspective. *J. Neurobehav. Sci.* **1**, 21 (2014).
670. Treue, S. & Maunsell, J. H. R. Attentional modulation of visual motion processing in cortical areas MT and MST. *Nature* **382**, 539–541 (1996).
671. Moore, T. & Zirnsak, M. Neural Mechanisms of Selective Visual Attention. *Annu. Rev. Psychol.* **68**, 47–72 (2017).
672. Reynolds, J. H., Pasternak, T. & Desimone, R. Attention increases sensitivity of V4 neurons. *Neuron* **26**, 703–714 (2000).
673. Salimi, S. *et al.* Can visuospatial measures improve the diagnosis of Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement. (Amsterdam, Netherlands)* **10**, 66–74 (2017).
674. Mandal, P. K., Joshi, J. & Saharan, S. Visuospatial perception: an emerging biomarker for Alzheimer's disease. *undefined* **31**, (2012).
675. Schmid, N. S., Taylor, K. I., Foldi, N. S., Berres, M. & Monsch, A. U. Neuropsychological signs of Alzheimer's disease 8 years prior to diagnosis. *J. Alzheimer's Dis.* **34**, 537–546 (2013).
676. Quental, N. B. M., Brucki, S. M. D. & Bueno, O. F. A. Visuospatial function in early Alzheimer's disease--the use of the Visual Object and Space Perception (VOSP) battery. *PLoS One* **8**, (2013).
677. Alegret, M. *et al.* Detection of visuo-perceptual deficits in preclinical and mild Alzheimer's disease. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* **31**, 860–867 (2009).
678. Westheimer, G. Visual acuity and hyperacuity. *Invest. Ophthalmol.* **14**, 570–572 (1975).
679. Crossland, M. D. Acuity. *Encycl. Eye* **1**, 27–32 (2010).
680. Owsley, C. Contrast sensitivity. *Ophthalmol. Clin.* **16**, 171–177 (2003).
681. Campbell, F. W. Why do we measure contrast sensitivity? *Behav. Brain Res.* **10**, 87–97 (1983).

682. Plainis, S. & Murray, I. J. Magnocellular channel subserves the human contrast-sensitivity function. *Perception* **34**, 933–940 (2005).
683. Laycock, R., Crewther, S. G. & Crewther, D. P. A role for the ‘magnocellular advantage’ in visual impairments in neurodevelopmental and psychiatric disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **31**, 363–376 (2007).
684. Stamper, R. L., Hsu-Winges, C. & Sopher, M. Arden contrast sensitivity testing in glaucoma. *Arch. Ophthalmol. (Chicago, Ill. 1960)* **100**, 947–950 (1982).
685. Ginsburg, A. P. Contrast sensitivity and functional vision. *Int. Ophthalmol. Clin.* **43**, 5–15 (2003).
686. Ginsburg, A. ., Cheetham, J., DeGryse, R. . & Abelson, M. Effects of flurbiprofen and indomethacin on acute cystoid macular edema after cataract surgery: Functional vision and contrast sensitivity. *J. Cataract Refract. Surg.* **21**, 82–92 (1995).
687. Kolb, H., Ralph, N. & Eduardo, F. Webvision: The Organization of the Retina and Visual System [Internet]. 1995 (1995).
688. Salobarra-García, E. *et al.* Ocular Exploration in the Diagnosis and Follow-Up of the Alzheimer’s Dementia. in (ed. Wisniewsk, T.) (Codon Publications, 2019). doi:10.15586/alzheimersdisease.2019.ch10.
689. Barton, J. J. S. Visual Color and Form Perception. in *Encyclopedia of the Neurological Sciences* 677–680 (Academic Press, 2014). doi:10.1016/B978-0-12-385157-4.00141-X.
690. Cohen, J. & Matthen, M. *Color ontology and color science. Color Ontology and Color Science* (MIT Press, 2010). doi:10.7551/mitpress/9780262013857.001.0001.
691. Kinneer, P. R. & Sahraie, A. New Farnsworth-Munsell 100 hue test norms of normal observers for each year of age 5-22 and for age decades 30-70. *Br. J. Ophthalmol.* **86**, 1408–1411 (2002).
692. Fanlo Zarazaga, A., Gutiérrez Vásquez, J. & Pueyo Royo, V. Revisión de los principales test clínicos para evaluar la visión del color. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* **94**, 25–32 (2019).
693. Aronson, J. K. & Ford, A. R. The use of colour vision measurement in the diagnosis of digoxin toxicity. *QJM* **49**, 273–282 (1980).
694. Silverstein, S. M. *et al.* Optimization and validation of a visual integration test for schizophrenia research. *Schizophr. Bull.* **38**, 125–134 (2012).
695. Palmer, E. E. *Vision Science:Photons tto Phenomenology.* (1999).
696. Westheimer, G. Gestalt theory reconfigured: Max Wertheimer’s anticipation of recent developments in visual neuroscience. *Perception* **28**, 5–15 (1999).
697. Kinoshita, M., Gilbert, C. D. & Das, A. Optical Imaging of Contextual Interactions in V1 of the Behaving Monkey. *J. Neurophysiol.* **102**, 1930 (2009).
698. Field, D. J., Hayes, A. & Hess, R. F. Contour integration by the human visual system: Evidence for a local “association field”. *Vision Res.* **33**, 173–193 (1993).
699. Kozma-Wiebe, P. *et al.* Development of a world-wide web based contour integration test. *Comput. Human Behav.* **22**, 971–980 (2006).
700. Stettler, D. D., Das, A., Bennett, J. & Gilbert, C. D. Lateral Connectivity and Contextual Interactions in Macaque Primary Visual Cortex. *Neuron* **36**, 739–750 (2002).
701. Mandon, S. & Kreiter, A. K. Rapid contour integration in macaque monkeys. *Vision Res.* **45**, 291–300 (2005).
702. Li, W., Piëch, V. & Gilbert, C. D. Learning to Link Visual Contours. *Neuron* **57**, 442–451 (2008).
703. Zhang, N. R. & Von Der Heydt, R. Analysis of the Context Integration Mechanisms Underlying Figure–Ground Organization in the Visual Cortex. *J. Neurosci.* **30**, 6482–6496 (2010).
704. Larrosa, J. M., Güerri, N. & García-Martín, E. Humphrey Field Analyzer: diagnóstico perimétrico y detección de progresión de la pérdida del campo visual. *Diagnóstico y Trat. del glaucoma ángulo abierto* 179–192 (2013).
705. López-Cuenca, I. *et al.* The Value of OCT and OCTA as Potential Biomarkers for Preclinical Alzheimer’s Disease: A Review Study. *Life* **2021**, Vol. 11, Page 712 **11**, 712 (2021).
706. Aumann, S., Donner, S., Fischer, J. & Müller, F. Optical Coherence Tomography (OCT): Principle and Technical Realization. in *High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology* 59–85 (Springer International Publishing, 2019). doi:10.1007/978-3-030-16638-0_3.
707. Láins, I. *et al.* Retinal applications of swept source optical coherence tomography (OCT) and optical coherence tomography angiography (OCTA). *Prog. Retin. Eye Res.* **84**, 100951 (2021).
708. Drexler, W. *et al.* Ultrahigh-resolution

- ophthalmic optical coherence tomography. *Nat. Med.* **7**, 502 (2001).
709. Wylęgała, A. Principles of OCTA and Applications in Clinical Neurology. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **18**, (2018).
710. Jiang, H. *et al.* Altered macular microvasculature in mild cognitive impairment and Alzheimer Disease. *J. neuro-ophthalmology* **38**, 292–298 (2018).
711. Spaide, R. F., Fujimoto, J. G. & Waheed, N. K. Optical Coherence Tomography Angiography. *Retina* **35**, 2161–2162 (2015).
712. Mastropasqua, R. *et al.* Optical Coherence Tomography Angiography in Retinal Vascular Diseases and Choroidal Neovascularization. *J. Ophthalmol.* **2015**, (2015).
713. Marduel, R. Angio OCT, Dye Less Angiography, A New Approach of Age Related Macular Degeneration (ARMD). *Adv. Ophthalmol. Vis. Syst.* **2**, 2–5 (2015).
714. Sharma, P., Sridhar, J., Rayess, N. & Maguire, J. I. Optical coherence tomography angiography (OCT-A) of type 2 retinal arteriovenous malformation. *Can. J. Ophthalmol.* **50**, e93–e96 (2015).
715. Schwartz, D. M. *et al.* Phase-Variance Optical Coherence Tomography: A Technique for Noninvasive Angiography. *Ophthalmology* **121**, 180–187 (2014).
716. Maloca, P., Gyger, C. & Hasler, P. W. A pilot study to image the vascular network of small melanocytic choroidal tumors with speckle noise-free 1050-nm swept source optical coherence tomography (OCT choroidal angiography). *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **254**, 1201–1210 (2016).
717. Liu, X., Kirby, M. & Zhao, F. Motion analysis and removal in intensity variation based OCT angiography. *Biomed. Opt. Express* **5**, 3833 (2014).
718. Wu, S. Z., Masurkar, A. V. & Balcer, L. J. Afferent and Efferent Visual Markers of Alzheimer's Disease: A Review and Update in Early Stage Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience* vol. 12 (2020).
719. Hinton, D. R., Sadun, A. A., Blanks, J. C. & Miller, C. A. Optic-Nerve Degeneration in Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **315**, 485–487 (1986).
720. Brewer, A. A. & Barton, B. Visual cortex in aging and Alzheimer's disease: Changes in visual field maps and population receptive fields. *Front. Psychol.* **5**, 74 (2014).
721. Kusne, Y., Wolf, A. B., Townley, K., Conway, M. & Peyman, G. A. Visual system manifestations of Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **95**, e668–e676 (2017).
722. Albers, M. W. *et al.* At the interface of sensory and motor dysfunctions and Alzheimer's Disease. *Alzheimers. Dement.* **11**, 70 (2015).
723. McKee, A. C. *et al.* Visual Association Pathology in Preclinical Alzheimer Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **65**, 621–630 (2006).
724. Koronyo-Hamaoui, M. *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* **54**, S204–S217 (2011).
725. Koronyo, Y. *et al.* Retinal amyloid pathology and proof-of-concept imaging trial in Alzheimer's disease. *JCI insight* **2**, e93621 (2017).
726. den Haan, J. *et al.* Amyloid-beta and phosphorylated tau in post-mortem Alzheimer's disease retinas. *Acta Neuropathol. Commun.* **6**, 147 (2018).
727. Prakasam, A. *et al.* Differential Accumulation of Secreted APP Metabolites in Ocular Fluids. *J. Alzheimer's Dis.* **20**, 1243 (2010).
728. Wright, L. M. *et al.* Association of Cognitive Function with Amyloid- β and Tau Proteins in the Vitreous Humor. *J. Alzheimer's Dis.* **68**, 1429–1438 (2019).
729. Garcia-Martin, E. S. *et al.* Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer's disease. *Ophthalmology* **121**, 1149–1151.e3 (2014).
730. Salobar-García, E. *et al.* Ophthalmologic Psychophysical Tests Support OCT Findings in Mild Alzheimer's Disease. *J. Ophthalmol.* **2015**, 736949 (2015).
731. Salobar-Garcia, E. *et al.* Analysis of Retinal Peripapillary Segmentation in Early Alzheimer's Disease Patients. *Biomed Res. Int.* **2015**, 1–8 (2015).
732. Goldstein, L. E. *et al.* Cytosolic beta-amyloid deposition and supranuclear cataracts in lenses from people with Alzheimer's disease. *Lancet (London, England)* **361**, 1258–1265 (2003).
733. Pang, J. J. & Wu, S. M. Morphology and Immunoreactivity of Retrogradely Double-Labeled Ganglion Cells in the Mouse Retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **52**, 4886–4896 (2011).
734. Blanks, J. C. *et al.* Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol. Aging* **17**, 385–395 (1996).
735. Blanks, J. C., Hinton, D. R., Sadun, A. A. &

- Miller, C. A. Retinal ganglion cell degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Res.* **501**, 364–372 (1989).
736. Tales, A. *et al.* The pupillary light reflex in aging and Alzheimer's disease. *Aging Clin. Exp. Res.* **13**, 473–478 (2001).
737. Feng, R., Li, L., Yu, H., Liu, M. & Zhao, W. Melanopsin retinal ganglion cell loss and circadian dysfunction in Alzheimer's disease (Review). *Mol. Med. Rep.* **13**, 3397–3400 (2016).
738. La Morgia, C. *et al.* Melanopsin retinal ganglion cell loss in Alzheimer disease. *Ann. Neurol.* **79**, 90–109 (2016).
739. Liu, B. *et al.* Amyloid-Peptide Vaccinations Reduce β -Amyloid Plaques but Exacerbate Vascular Deposition and Inflammation in the Retina of Alzheimer's Transgenic Mice. *Am. J. Pathol.* **175**, 2099–2110 (2009).
740. Hart, N. J., Koronyo, Y., Black, K. L. & Koronyo-Hamaoui, M. Ocular indicators of Alzheimer's: exploring disease in the retina. *Acta Neuropathol.* **132**, 767–787 (2016).
741. Ratnayaka, J. A., Serpell, L. C. & Lotery, A. J. Dementia of the eye: The role of amyloid beta in retinal degeneration. *Eye* **29**, 1013–1026 (2015).
742. Ramirez, A. I. *et al.* The Role of Microglia in Retinal Neurodegeneration: Alzheimer's Disease, Parkinson, and Glaucoma. *Front. Aging Neurosci.* **0**, 214 (2017).
743. Campbell, M. C. W. *et al.* Polarization properties of amyloid beta in the retina of the eye as a biomarker of Alzheimer's disease. in *Bio-Optics: Design and Application, BODA 2015* BM3A.4-BM3A.4 (Optical Society of America, 2015). doi:10.1364/boda.2015.bm3a.4.
744. Tsai, Y. *et al.* Ocular changes in TgF344-AD rat model of Alzheimer's Disease. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* **55**, 523–534 (2014).
745. Hadoux, X. *et al.* Non-invasive in vivo hyperspectral imaging of the retina for potential biomarker use in Alzheimer's disease. *Nat. Commun.* **10**, (2019).
746. Ning, A., Cui, J., To, E., Ashe, K. & Matsubara, J. Amyloid- β deposits lead to retinal degeneration in a mouse model of Alzheimer Disease. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* **49**, 5136–5143 (2008).
747. Zhao, H. *et al.* Hyperphosphorylation of tau protein by calpain regulation in retina of Alzheimer's disease transgenic mouse. *Neurosci. Lett.* **551**, 12–16 (2013).
748. Williams, P. A. *et al.* Retinal ganglion cell dendritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **34**, 1799–1806 (2013).
749. More, S. S., Beach, J. M. & Vince, R. Early Detection of Amyloidopathy in Alzheimer's Mice by Hyperspectral Endoscopy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **57**, 3231–3238 (2016).
750. Du, L. Y. *et al.* Alzheimer's disease-related protein expression in the retina of Octodon degus. *PLoS One* **10**, 1–17 (2015).
751. Schön, C. *et al.* Long-term in vivo imaging of fibrillar tau in the retina of P301S transgenic mice. *PLoS One* **7**, (2012).
752. Chiasseu, M. *et al.* Tau accumulation in the retina promotes early neuronal dysfunction and precedes brain pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Mol. Neurodegener.* **2017** **12**, 1–20 (2017).
753. Ruitenber, A. *et al.* Cerebral hypoperfusion and clinical onset of dementia: the Rotterdam Study. *Ann. Neurol.* **57**, 789–794 (2005).
754. Johnson, K. A. *et al.* Preclinical prediction of Alzheimer's disease using SPECT. *Neurology* **50**, 1563–1571 (1998).
755. Maalikjy Akkawi, N. *et al.* Volume cerebral blood flow reduction in pre-clinical stage of Alzheimer disease: evidence from an ultrasonographic study. *J. Neurol.* **252**, 559–563 (2005).
756. Berisha, F., Feke, G. T., Trempe, C. L., McMeel, J. W. & Schepens, C. L. Retinal abnormalities in early Alzheimer's Disease. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* **48**, 2285 (2007).
757. Feke, G. T., Hyman, B. T., Stern, R. A. & Pasquale, L. R. Retinal blood flow in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **1**, 144–151 (2015).
758. Cheung, C. Y. L. *et al.* Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **10**, 135–142 (2014).
759. Cheung, C. Y. L., Ong, Y. T., Ikram, M. K., Chen, C. & Wong, T. Y. Retinal Microvasculature in Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* **42**, S339–S352 (2014).
760. Stefánsson, E. *et al.* Retinal oximetry: Metabolic imaging for diseases of the retina and brain. *Prog. Retin. Eye Res.* (2019) doi:10.1016/j.preteyeres.2019.04.001.
761. Stefánsson, E. *et al.* Retinal Oximetry Discovers Novel Biomarkers in Retinal and Brain Diseases. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **58**, BIO227–BIO233 (2017).
762. Olafsdottir, O. B. *et al.* Retinal oxygen

- metabolism in patients with mild cognitive impairment. *Alzheimer's Dement. (Amsterdam, Netherlands)* **10**, 340–345 (2018).
763. Salobar-Garcia, E. *et al.* Ocular Vascular Changes in Mild Alzheimer's Disease Patients: Foveal Avascular Zone, Choroidal Thickness, and ONH Hemoglobin Analysis. *J. Pers. Med.* **10**, 231 (2020).
764. Asanad, S. *et al.* The retinal choroid as an oculo-vascular biomarker for Alzheimer's dementia: A histopathological study in severe disease. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **11**, 775–783 (2019).
765. Sadun, A. A. & Bassi, C. J. Optic Nerve Damage in Alzheimer's Disease. *Ophthalmology* **97**, 9–17 (1990).
766. Davies, D. C., McCoubrie, P., McDonald, B. & Jobst, K. A. Myelinated axon number in the optic nerve is unaffected by Alzheimer's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **79**, 596–600 (1995).
767. Syed, A. B., Armstrong, R. A. & Smith, C. U. M. A quantitative analysis of optic nerve axons in elderly control subjects and patients with Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol.* **43**, 1–6 (2005).
768. Tzekov, R. & Mullan, M. Vision function abnormalities in Alzheimer disease. *Surv. Ophthalmol.* **59**, 414–433 (2014).
769. Danesh-Meyer, H. V., Birch, H., Ku, J. Y.-F., Carroll, S. & Gamble, G. Reduction of optic nerve fibers in patients with Alzheimer disease identified by laser imaging. *Neurology* **67**, 1852–1854 (2006).
770. Kusbeci, T. *et al.* Stereological evaluation of the optic nerve volume in Alzheimer disease. *J. Craniofac. Surg.* **26**, 1683–1686 (2015).
771. Dehghani, C., Frost, S., Jayasena, R., Masters, C. L. & Kanagasigam, Y. Ocular Biomarkers of Alzheimer's Disease: The Role of Anterior Eye and Potential Future Directions. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **59**, 3554–3563 (2018).
772. Frederikse, P. H. & Ren, X. O. Lens defects and age-related fiber cell degeneration in a mouse model of increased Aβ gene dosage in Down syndrome. *Am. J. Pathol.* **161**, 1985–1990 (2002).
773. Frederikse, P. H. & Zigler, J. S. Presenilin expression in the ocular lens. *Curr. Eye Res.* **17**, 947–952 (1998).
774. Chougule, P. S., Najjar, R. P., Finkelstein, M. T., Kandiah, N. & Milea, D. Light-induced pupillary responses in Alzheimer's disease. *Front. Neurol.* **10**, 360 (2019).
775. Scinto, L. F. M. *et al.* A Potential Noninvasive Neurobiological Test for Alzheimer's Disease. *Science (80-)*. **266**, 1051–1054 (1994).
776. Gómez-Tortosa, E., Del Barrio, A. & Jiménez-Alfaro, I. Pupil response to tropicamide in Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders. *Acta Neurol. Scand.* **94**, 104–109 (1996).
777. Iijima, A. *et al.* Re-evaluation of tropicamide in the pupillary response test for Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **24**, 789–796 (2003).
778. Higuchi, S., Matsushita, S., Hasegawa, Y., Muramatsu, T. & Arai, H. Pupillary Response to Tropicamide in Japanese Patients with Alcoholic Dementia, Alzheimer's Disease, and Vascular Dementia. *Exp. Neurol.* **144**, 199–201 (1997).
779. Scinto, L. F. M. Pupillary cholinergic hypersensitivity predicts cognitive decline in community dwelling elders. *Neurobiol. Aging* **29**, 222–230 (2008).
780. Fotiou, F., Fountoulakis, K. N., Tsolaki, M., Goulas, A. & Palikaras, A. Changes in pupil reaction to light in Alzheimer's disease patients: a preliminary report. *Int. J. Psychophysiol.* **37**, 111–120 (2000).
781. Fotiou, D. F. *et al.* Pupil reaction to light in Alzheimer's disease: evaluation of pupil size changes and mobility. *Aging Clin. Exp. Res.* **19**, 364–371 (2007).
782. Prettyman, R., Bitsios, P. & Szabadi, E. Altered pupillary size and darkness and light reflexes in Alzheimer's disease. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **62**, 665–668 (1997).
783. Fotiou, D. F. *et al.* Cholinergic deficiency in Alzheimer's and Parkinson's disease: Evaluation with pupillometry. *Int. J. Psychophysiol.* **73**, 143–149 (2009).
784. Frost, S. *et al.* Evaluation of Cholinergic Deficiency in Preclinical Alzheimer's Disease Using Pupillometry. *J. Ophthalmol.* **2017**, (2017).
785. Van Stavern, G. P., Bei, L., Shui, Y. B., Huecker, J. & Gordon, M. Pupillary light reaction in preclinical Alzheimer's disease subjects compared with normal ageing controls. *Br. J. Ophthalmol.* **103**, 971–975 (2019).
786. Bondareff, W. *et al.* Neuronal degeneration in locus ceruleus and cortical correlates of Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **1**, 256–262 (1987).
787. Tomlinson, B. E., Irving, D. & Blessed, G. Cell loss in the locus coeruleus in senile dementia of Alzheimer type. *J. Neurol. Sci.* **49**, 419–428 (1981).

788. Scinto, L. F. M. *et al.* Selective cell loss in Edinger-Westphal in asymptomatic elders and Alzheimer's patients. *Neurobiol. Aging* **22**, 729–736 (2001).
789. Scinto, L. F. M. *et al.* Focal pathology in the Edinger-Westphal nucleus explains pupillary hypersensitivity in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* 1999 **97**, 557–564 (1999).
790. Frederikse, P. H. Amyloid-like protein structure in mammalian ocular lenses. *Curr. Eye Res.* **20**, 462–468 (2000).
791. Melov, S., Wolf, N., Strozyk, D., Doctrow, S. R. & Bush, A. I. Mice transgenic for Alzheimer disease β -amyloid develop lens cataracts that are rescued by antioxidant treatment. *Free Radic. Biol. Med.* **38**, 258–261 (2005).
792. Hsiao, K. *et al.* Correlative memory deficits, Abeta elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* **274**, 99–102 (1996).
793. Kerbage, C. *et al.* Detection of Amyloid β Signature in the Lens and Its Correlation in the Brain to Aid in the Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Am. J. Alzheimers. Dis. Other Demen.* **30**, 738–745 (2015).
794. Lott, I. T. & Head, E. Alzheimer disease and Down syndrome: factors in pathogenesis. *Neurobiol. Aging* **26**, 383–389 (2005).
795. Wisniewski, K. E., Wisniewski, H. M. & Wen, G. Y. Occurrence of neuropathological changes and dementia of Alzheimer's disease in Down's syndrome. *Ann. Neurol.* **17**, 278–282 (1985).
796. Moncaster, J. A. *et al.* Alzheimer's disease amyloid-beta links lens and brain pathology in Down syndrome. *PLoS One* **5**, (2010).
797. Jun, G. *et al.* δ -Catenin is genetically and biologically associated with cortical cataract and future Alzheimer-related structural and functional brain changes. *PLoS One* **7**, (2012).
798. Salobar-García, E. *et al.* Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. *PLoS One* **14**, e0220535 (2019).
799. Lakshminarayanan, V., Lagrave, J., Kean, M. L., Dick, M. & Shankle, R. Vision in dementia: contrast effects. *Neurol. Res.* **18**, 9–15 (1996).
800. Cronin-Golomb, A. *et al.* Visual dysfunction in Alzheimer's disease: Relation to normal aging. *Ann. Neurol.* **29**, 41–52 (1991).
801. Schlotterer, G., Moscovitch, M. & Crapper-mclachlan, D. Visual processing deficits as assessed by spatial frequency contrast sensitivity and backward masking in normal ageing and alzheimer's disease. *Brain* **107**, 309–324 (1984).
802. Martinelli, V. *et al.* Pattern visual evoked potential mapping in alzheimers disease correlations with visuospatial impairment. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **7**, 63–68 (1996).
803. Wright, C. E., Drasdo, N. & Harding, G. F. A. Pathology of the optic nerve and visual association areas: Information given by the flash and pattern visual evoked potential, and the temporal and spatial contrast sensitivity function. *Brain* **110**, 107–120 (1987).
804. Mendez, M. F., Tomsak, R. L. & Remler, B. Disorders of the visual system in alzheimer's disease. *J. Clin. Neuroophthalmol.* **10**, 62–69 (1990).
805. Levine, D. N., Lee, J. M. & Fisher, C. M. The visual variant of alzheimer's disease: A clinicopathologic case study. *Neurology* **43**, 305–313 (1993).
806. Rizzo, M. & Nawrot, M. Perception of movement and shape in Alzheimer's disease. *Brain* **121**, 2259–2270 (1998).
807. Polo, V. *et al.* Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Parkinson's disease: an observational cross-sectional study. *BMJ Open* **6**, e009658 (2016).
808. Sadun, A. A., Borchert, M., DeVita, E., Hinton, D. R. & Bassi, C. J. Assessment of visual impairment in patients with Alzheimer's disease. *Am. J. Ophthalmol.* **104**, 113–120 (1987).
809. Liu, D. *et al.* Thinner changes of the retinal nerve fiber layer in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *BMC Neurol.* **15**, (2015).
810. Leroi, I., Voulgari, A., Breitner, J. C. S. & Lyketsos, C. G. The epidemiology of psychosis in dementia. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **11**, 83–91 (2003).
811. Bernardin, F. *et al.* The role of the retina in visual hallucinations: A review of the literature and implications for psychosis. *Neuropsychologia* vol. 99 128–138 (2017).
812. Murgatroyd, C. & Prettyman, R. An investigation of visual hallucinosis and visual sensory status in dementia. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* **16**, 709–713 (2001).
813. Nagarajan, N. *et al.* Vision impairment and cognitive decline among older adults: a systematic review. *BMJ Open* **12**, e047929 (2022).
814. Salobar-García, E. *et al.* The Impact of the Eye in Dementia: The Eye and its Role in Diagnosis and Follow-up. in *Update on Dementia* (ed. Moretti, D.) 379–426 (InTech,

- 2016). doi:10.5772/64490.
815. Gilmore, G. C. & Whitehouse, P. J. Contrast sensitivity in Alzheimer's disease: A 1-year longitudinal analysis. *Ophthalmic Lit.* **1**, 49 (1996).
816. Trick, G. L., Barris, M. C. & Bickler-Bluth, M. Abnormal pattern electroretinograms in patients with senile dementia of the Alzheimer type. *Ann. Neurol.* **26**, 226–231 (1989).
817. Bassi, C. J., Solomon, K. & Young, D. Vision in aging and dementia. *Optom. Vis. Sci.* **70**, 809–813 (1993).
818. Gilmore, G. C. & Levy, J. A. Spatial contrast sensitivity in Alzheimer's disease: a comparison of two methods. *Optom. Vis. Sci.* **68**, 790–794 (1991).
819. Crow, R. W., Levin, L. B., LaBree, L., Rubin, R. & Feldon, S. E. Sweep Visual Evoked Potential Evaluation of Contrast Sensitivity in Alzheimer's Dementia. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **44**, 875–878 (2003).
820. Hutton, J. T., Morris, J. L., Elias, J. W. & Poston, J. N. Contrast sensitivity dysfunction in Alzheimer's disease. *Neurology* **43**, 2328–2330 (1993).
821. Baker, D. R., Mendez, M. F., Townsend, J. C., Ilsen, P. F. & Bright, D. C. Optometric management of patients with Alzheimer's disease. *J. Am. Optom. Assoc.* **68**, 483–494 (1997).
822. Cronin-Golomb, A., Gilmore, G. C., Neargarder, S., Morrison, S. R. & Laudate, T. M. Enhanced Stimulus Strength Improves Visual Cognition in Aging and Alzheimer's Disease. *Cortex* **43**, 952–966 (2007).
823. Risacher, S. L. *et al.* Visual contrast sensitivity is associated with the presence of cerebral amyloid and tau deposition. *Brain Commun.* **2**, (2020).
824. Risacher, S. L. *et al.* Visual contrast sensitivity in Alzheimer's disease, mild cognitive impairment, and older adults with cognitive complaints. *Neurobiol. Aging* **34**, 1133–1144 (2013).
825. Bodis-wollner, I. & Diamond, S. P. The measurement of spatial contrast sensitivity in cases of blurred vision associated with cerebral lesions. *Brain* **99**, 695–710 (1976).
826. Cronin-Golomb, A., Corkin, S. & Growdon, J. H. Visual dysfunction predicts cognitive deficits in Alzheimer's disease. *Optom. Vis. Sci.* **72**, 168–176 (1995).
827. Wood, S., Mortel, K. F., Hiscock, M., Breitmeyer, B. G. & Caroselli, J. S. Adaptive and Maladaptive Utilization of Color Cues by Patients With Mild to Moderate Alzheimer's Disease. *Arch. Clin. Neuropsychol.* **12**, 483–489 (1997).
828. Massoud, F., Chertkow, H., Whitehead, V., Overbury, O. & Bergman, H. Word-reading thresholds in Alzheimer disease and mild memory loss: a pilot study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **16**, 31–39 (2002).
829. Cronin-Golomb, A., Sugiura, R., Corkin, S. & Growdon, J. H. Incomplete achromatopsia in alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **14**, 471–477 (1993).
830. Kurylo, D. D. *et al.* Broad-band visual capacities are not selectively impaired in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **15**, 305–311 (1994).
831. Rizzo, J. F. *et al.* Retinocalcarine Function in Alzheimer's Disease: A Clinical and Electrophysiological Study. *Arch. Neurol.* **49**, 93–101 (1992).
832. Polo, V. *et al.* Visual dysfunction and its correlation with retinal changes in patients with Alzheimer's disease. *Eye* **31**, 1034–1041 (2017).
833. Pache, M. *et al.* Colour vision deficiencies in Alzheimer's disease. *Age Ageing* **32**, 422–426 (2003).
834. Pelak, V. S. & Hills, W. Vision in Alzheimer's disease: a focus on the anterior afferent pathway. *Neurodegenerative disease management* vol. 8 49–67 (2018).
835. Salamone, G. *et al.* Color discrimination performance in patients with Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* **27**, 501–507 (2009).
836. Rami, L., Serradell, M., Bosch, B., Villar, A. & Molinuevo, J. L. Perception Digital Test (PDT) for the assessment of incipient visual disorder in initial Alzheimer's disease. *Neurologia* **22**, 342–347 (2007).
837. Wong, S. H. & Plant, G. T. How to interpret visual fields. *Pract. Neurol.* **15**, 374–381 (2015).
838. Trick, G. L., Trick, L. R., Morris, P. & Wolf, M. Visual field loss in senile dementia of the Alzheimer's type. *Neurology* **45**, 68–74 (1995).
839. Armstrong, R. A. Visual field defects in Alzheimer's disease patients may reflect differential pathology in the primary visual cortex. *Optom. Vis. Sci.* **73**, 677–682 (1996).
840. Millington, R. S., James-Galton, M., Maia Da Silva, M. N., Plant, G. T. & Bridge, H. Lateralized occipital degeneration in posterior cortical atrophy predicts visual field deficits. *NeuroImage Clin.* **14**, 242–249

- (2017).
841. Shuren, J. & Heilman, K. M. Visual Field Loss in Alzheimer's Disease. *J. Am. Geriatr. Soc.* **41**, 1114–1115 (1993).
842. Chung, J. Y. *et al.* Visual field defects as early symptoms of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **17**, e053704 (2021).
843. Iseri, P. K., Altinas, Ö., Tokay, T. & Yüksel, N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *J. Neuro-Ophthalmology* **26**, 18–24 (2006).
844. Paquet, C. *et al.* Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci. Lett.* **420**, 97–99 (2007).
845. Cunha, L. P. *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* **11**, e0153830–e0153830 (2016).
846. Yap, T. E., Balendra, S. I., Almonte, M. T. & Cordeiro, M. F. Retinal correlates of neurological disorders. *Ther. Adv. Chronic Dis.* **10**, 1–32 (2019).
847. Gao, L. Y., Liu, Y., Li, X. H., Bai, Q. H. & Liu, P. Abnormal retinal nerve fiber layer thickness and macula lutea in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **60**, 162–167 (2015).
848. Ascaso, F. J. *et al.* Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: An optical coherence tomography study. *J. Neurol.* **261**, 1522–1530 (2014).
849. Golzan, S. M. *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.* **9**, 13 (2017).
850. López-Cuenca, I. *et al.* Macular Thickness Decrease in Asymptomatic Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease: An OCT Study. *J. Clin. Med.* **9**, 1728 (2020).
851. Kreeke, J. A. *et al.* Retinal layer thickness in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **97**, 798–804 (2019).
852. Santos, C. Y. *et al.* Change in retinal structural anatomy during the preclinical stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **10**, 196–209 (2018).
853. Snyder, P. J. *et al.* Nonvascular retinal imaging markers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **4**, 169–178 (2016).
854. Haan, J. den *et al.* Is retinal vasculature a biomarker in amyloid proven Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement.* **11**, 383–391 (2019).
855. Rotenstreich, Y. *et al.* Thicker macula in asymptomatic APOE E4 middle-aged adults at high AD risk. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **14**, 1–10 (2022).
856. Ma, J. P. *et al.* Longitudinal analysis of the retina and choroid in cognitively normal individuals at higher genetic risk for Alzheimer disease. *Ophthalmol. Retin.* **0**, (2022).
857. Cheung, C. Y. L. *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.* **45**, 45–56 (2015).
858. Jáñez-Escalada, L. *et al.* Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. *Sci. Rep.* **9**, 1–14 (2019).
859. Jáñez-García, L. *et al.* Roughness of retinal layers in Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **11**, 11804 (2021).
860. Zhang, Y. S. *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* **14**, e0214685 (2019).
861. Kwon, J. Y., Yang, J. H., Han, J. S. & Kim, D. G. Analysis of the Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Alzheimer Disease and Mild Cognitive Impairment. *Korean J. Ophthalmol.* **31**, 548 (2017).
862. Kim, J. II & Kang, B. H. Decreased retinal thickness in patients with Alzheimer's disease is correlated with disease severity. *PLoS One* **14**, (2019).
863. Coppola, G. *et al.* Optical Coherence Tomography in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *PLoS One* **10**, e0134750 (2015).
864. Thomson, K. L., Yeo, J. M., Waddell, B., Cameron, J. R. & Pal, S. A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **1**, 136–143 (2015).
865. Chan, V. T. T. *et al.* Spectral-Domain OCT Measurements in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis.

- Ophthalmology* **126**, 497–510 (2019).
866. Garcia-Martin, E. *et al.* Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients with Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **94**, e454–e459 (2016).
867. Shi, Z. *et al.* The utilization of retinal nerve fiber layer thickness to predict cognitive deterioration. *J. Alzheimer's Dis.* **49**, 399–405 (2015).
868. Shi, Z. *et al.* Greater attenuation of retinal nerve fiber layer thickness in Alzheimer's disease patients. *J. Alzheimer's Dis.* **40**, 277–283 (2014).
869. Margolis, R. & Spaide, R. F. A Pilot Study of Enhanced Depth Imaging Optical Coherence Tomography of the Choroid in Normal Eyes. *Am. J. Ophthalmol.* **147**, 811–815 (2009).
870. Xie, R., Qiu, B., Chhablani, J. & Zhang, X. Evaluation of Choroidal Thickness Using Optical Coherent Tomography: A Review. *Front. Med.* **0**, 2146 (2021).
871. Trebbastoni, A. *et al.* Attenuation of choroidal thickness in patients with Alzheimer Disease: Evidence from an Italian Prospective Study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **31**, 128–134 (2016).
872. Bulut, M. *et al.* Choroidal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's type dementia. *J. Ophthalmol.* **2016**, 7291257 (2016).
873. Gharbiya, M. *et al.* Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer's Disease: Evidence from enhanced depth imaging spectral domain Optical Coherence Tomography. *J. Alzheimer's Dis.* **40**, 907–917 (2014).
874. Cunha, J. P. J. P. *et al.* Choroidal thinning: Alzheimer's disease and aging. *Alzheimer's Dement. Diagnosis, Assess. Dis. Monit.* **8**, 11–17 (2017).
875. Querques, G. *et al.* Functional and morphological changes of the retinal vessels in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Sci. Rep.* **9**, (2019).
876. Kam, J. H., 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* **5**, e13127 (2010).
877. Bailey, T. L., Rivara, C. B., Rocher, A. B. & Hof, P. R. The nature and effects of cortical microvascular pathology in aging and Alzheimer's disease. *Neurol. Res.* **26**, 573–578 (2004).
878. Bulut, M. *et al.* Evaluation of optical coherence tomography angiographic findings in Alzheimer's type dementia. *Br. J. Ophthalmol.* **102**, 233–237 (2018).
879. Salobar-García, E. *et al.* Retinal Thickness Changes Over Time in a Murine AD Model APPNL-F/NL-F. *Front. Aging Neurosci.* **12**, 625642 (2021).
880. Georgevsky, D., Retsas, S., Raoufi, N., Shimoni, O. & Golzan, S. M. A longitudinal assessment of retinal function and structure in the APP/PS1 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Transl. Neurodegener.* **8**, 30 (2019).
881. Harper, D. J. *et al.* Retinal analysis of a mouse model of Alzheimer's disease with multicontrast optical coherence tomography. *Neurophotonics* **7**, 1 (2020).
882. Chiquita, S. *et al.* Retinal thinning of inner sub-layers is associated with cortical atrophy in a mouse model of Alzheimer's disease: A longitudinal multimodal in vivo study. *Alzheimer's Res. Ther.* **11**, 90 (2019).
883. Salobar-García, E. *et al.* Microglial Activation in the Retina of a Triple-Transgenic Alzheimer's Disease Mouse Model (3xTg-AD). *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 816 (2020).
884. Song, G. *et al.* Multimodal Coherent Imaging of Retinal Biomarkers of Alzheimer's Disease in a Mouse Model. *Sci. Rep.* **10**, 7912 (2020).
885. Yoon, S. P. *et al.* Retinal Microvascular and Neurodegenerative Changes in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment Compared with Control Participants. *Ophthalmol. Retin.* **3**, 489–499 (2019).
886. Wu, J. *et al.* Retinal microvascular attenuation in mental cognitive impairment and Alzheimer's disease by optical coherence tomography angiography. *Acta Ophthalmol.* **98**, e781–e787 (2020).
887. O'bryhim, B., Apte, R., Kung, N., Coble, D. & Van Starven, G. P. Association of preclinical Alzheimer disease with optical coherence tomographic angiography findings. *Jama Ophthalmol.* **136**, 1242–1248 (2018).
888. Mirzania, D. *et al.* Retinal and Choroidal Changes in Males compared to Females with Alzheimer's Disease: A Case-Control Study. *Ophthalmol. Sci.* 100098 (2021) doi:10.1016/j.xops.2021.100098.
889. Chang, L. Y. L. *et al.* Alzheimer's disease in the human eye. Clinical tests that identify ocular and visual information processing deficit as biomarkers. *Alzheimer's Dement.* **10**, 251–261 (2014).
890. Erskine, D. *et al.* Changes to the lateral geniculate nucleus in Alzheimer's disease but not dementia with Lewy bodies. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **42**, 366–376 (2016).

891. Couser, E., Bernstein, S. L. & Mathews, M. K. Effect of Alzheimer's Disease on Melanopsin Expression in the Lateral Geniculate Nucleus. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **56**, 5561–5561 (2015).
892. Jackson, G. R. & Owsley, C. Visual dysfunction, neurodegenerative diseases, and aging. *Neurol. Clin.* **21**, 709–728 (2003).
893. Lewis, D. A., Campbell, M. J., Terry, R. D. & Morrison, J. H. Laminar and regional distributions of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in Alzheimer's disease: A quantitative study of visual and auditory cortices. *J. Neurosci.* **7**, 1799–1808 (1987).
894. Black, S. E. Focal Cortical Atrophy Syndromes. *Brain Cogn.* **31**, 188–229 (1996).
895. Giannakopoulos, P. *et al.* Neuroanatomic correlates of visual agnosia in Alzheimer's disease. *Neurology* **52**, 71–71 (1999).
896. Yankner, B. A., Lu, T. & Loerch, P. The aging brain. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* vol. 3 41–66 (2008).
897. Braak, H. & Braak, E. Staging of alzheimer's disease-related neurofibrillary changes. *Neurobiol. Aging* **16**, 271–278 (1995).
898. Brun, A. & Gustafson, L. Distribution of cerebral degeneration in Alzheimer's disease. A clinico-pathological study. *Arch. Psychiatr. Nervenkr.* **223**, 15–33 (1976).
899. Mentis, M. J. *et al.* Visual cortical dysfunction in Alzheimer's disease evaluated with a temporally graded 'stress test' during PET. *Am. J. Psychiatry* **153**, 32–40 (1996).
900. Beason-Held, L. L. *et al.* PET reveals occipitotemporal pathway activation during elementary form perception in humans. *Vis. Neurosci.* **15**, 503–510 (1998).
901. Kiyosawa, M. *et al.* Alzheimer's Disease with Prominent Visual Symptoms: Clinical and Metabolic Evaluation. *Ophthalmology* **96**, 1077–1086 (1989).
902. Pietrini, P. *et al.* Preferential metabolic involvement of visual cortical areas in a subtype of Alzheimer's disease: clinical implications. *Am. J. Psychiatry* **153**, 1261–1268 (1996).
903. Cynader, M. & Berman, N. Receptive-field organization of monkey superior colliculus. *J. Neurophysiol.* **35**, 187–201 (1972).
904. Leuba, G. & Saini, K. Pathology of subcortical visual centres in relation to cortical degeneration in Alzheimer's disease. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **21**, 410–422 (1995).
905. Parvizi, J., Van Hoesen, G. W. & Damasio, A. The Selective Vulnerability of Brainstem Nuclei to Alzheimer's Disease. *Ann Neurol* **49**, 53–66 (2001).
906. Iseki, E. *et al.* Distribution and morphology of brain stem plaques in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* **78**, 131–136 (1989).
907. Erskine, D. *et al.* Neuronal Loss and A-Synuclein Pathology in the Superior Colliculus and Its Relationship to Visual Hallucinations in Dementia with Lewy Bodies. *Am. J. Geriatr. Psychiatry* **25**, 595–604 (2017).
908. Stopa, E. G. *et al.* Pathologic Evaluation of the Human Suprachiasmatic Nucleus in Severe Dementia. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **58**, 29–39 (1999).
909. Xuereb, J. H. *et al.* Nerve cell loss in the thalamus in alzheimer's disease and parkinson's disease. *Brain* **114**, 1363–1379 (1991).
910. Kuljis, R. O. Lesions in the Pulvinar in Patients with Alzheimer's Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **53**, 202–211 (1994).
911. Méndez-Gómez, J. L. *et al.* Association of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness with Brain Alterations in the Visual and Limbic Networks in Elderly Adults without Dementia. *JAMA Netw. Open* **1**, (2018).
912. Shi, Z. *et al.* Retinal nerve fiber layer thickness is associated with hippocampus and lingual gyrus volumes in nondemented older adults. *Prog. Neuro-Psychopharmacology Biol. Psychiatry* **99**, 109824 (2020).
913. Casaletto, K. B. *et al.* Retinal thinning is uniquely associated with medial temporal lobe atrophy in neurologically normal older adults. *Neurobiol. Aging* **51**, 141–147 (2017).
914. López-de-Eguileta, A. *et al.* The retinal ganglion cell layer reflects neurodegenerative changes in cognitively unimpaired individuals. *Alzheimers. Res. Ther.* **14**, 1–13 (2022).
915. Jolival, C. G. *et al.* Type 1 diabetes exaggerates features of Alzheimer's disease in APP transgenic mice. *Exp. Neurol.* **223**, 422–431 (2010).
916. Burdo, J. R., Chen, Q., Calcutt, N. A. & Schubert, D. The pathological interaction between diabetes and presymptomatic Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **30**, 1910–1917 (2009).
917. De Felice, F. G. Alzheimer's disease and insulin resistance: translating basic science into clinical applications. *J. Clin. Invest.* **123**, 531–539 (2013).

918. Gao, C., Liu, Y., Li, L. & Hölscher, C. New animal models of Alzheimer's disease that display insulin desensitization in the brain. *Rev. Neurosci.* **24**, 607–615 (2013).
919. Klein, R., Klein, B. E. K., Moss, S. E., Davis, M. D. & Demets, D. L. The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years. *Arch. Ophthalmol. (Chicago, Ill. 1960)* **102**, 520–526 (1984).
920. Lee, C. S. *et al.* Associations between recent and established ophthalmic conditions and risk of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **15**, 34–41 (2019).
921. Pedersen, F. *et al.* Diabetic retinopathy independently predicts five-year risk of Alzheimer's disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **62**, 1071–1071 (2021).
922. Yoneda, S. *et al.* Vitreous fluid levels of beta-amyloid(1-42) and tau in patients with retinal diseases. *Jpn. J. Ophthalmol.* **49**, 106–108 (2005).
923. Bayer, A. U., Ferrari, F. & Erb, C. High occurrence rate of glaucoma among patients with Alzheimer's disease. *Eur. Neurol.* **47**, 165–168 (2002).
924. Bayer, A. U. & Ferrari, F. Severe progression of glaucomatous optic neuropathy in patients with Alzheimer's disease. *Eye (Lond)*. **16**, 209–212 (2002).
925. McKinnon, S. J. *et al.* Caspase activation and amyloid precursor protein cleavage in rat ocular hypertension. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **43**, 1077–1087 (2002).
926. Janciauskiene, S. & Krakau, T. Alzheimer's peptide: a possible link between glaucoma, exfoliation syndrome and Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol. Scand.* **79**, 328–329 (2001).
927. Kessing, L. V., Lopez, A. G., Andersen, P. K. & Kessing, S. V. No increased risk of developing Alzheimer disease in patients with glaucoma. *J. Glaucoma* **16**, 47–51 (2007).
928. Keenan, T. D. L., Goldacre, R. & Goldacre, M. J. Associations between primary open angle glaucoma, Alzheimer's disease and vascular dementia: record linkage study. *Br. J. Ophthalmol.* **99**, 524–527 (2015).
929. Ekström, C. & Kilander, L. Open-angle glaucoma and Alzheimer's disease: a population-based 30-year follow-up study. *Acta Ophthalmol.* **95**, e157–e158 (2017).
930. Wostyn, P., De Groot, V., Van Dam, D., Audenaert, K. & De Deyn, P. P. Senescent Changes in Cerebrospinal Fluid Circulatory Physiology and Their Role in the Pathogenesis of Normal-tension Glaucoma. *Am. J. Ophthalmol.* **156**, 5-14.e2 (2013).
931. Mullany, S. *et al.* Normal-tension glaucoma is associated with cognitive impairment. *Br. J. Ophthalmol.* **0**, 1–5 (2021).
932. Chen, Y. Y. *et al.* Association between normal tension glaucoma and the risk of Alzheimer's disease: a nationwide population-based cohort study in Taiwan. *BMJ Open* **8**, e022987 (2018).
933. Chandra, V., Bharucha, N. E. & Schoenberg, B. S. Conditions associated with Alzheimer's disease at death: case-control study. *Neurology* **36**, 209–211 (1986).
934. Lai, S. W., Lin, C. L. & Liao, K. F. Glaucoma may be a non-memory manifestation of Alzheimer's disease in older people. *Int. Psychogeriatrics* **29**, 1535–1541 (2017).
935. Sivak, J. M. The aging eye: Common degenerative mechanisms between the Alzheimer's brain and retinal disease. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **54**, 871–880 (2013).
936. Schultz, N. M., Bhardwaj, S., Barclay, C., Gaspar, L. & Schwartz, J. Global Burden of Dry Age-Related Macular Degeneration: A Targeted Literature Review. *Clin. Ther.* **43**, 1792–1818 (2021).
937. DeAngelis, M. M. *et al.* Genetics of age-related macular degeneration (AMD). *Hum. Mol. Genet.* **26**, R246 (2017).
938. Klein, R., Klein, B. E. K. & Linton, K. L. P. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* **99**, 933–943 (1992).
939. Boon, C. J. F., van de Ven, J. P. H., Hoyng, C. B., den Hollander, A. I. & Klevering, B. J. Cuticular drusen: Stars in the sky. *Prog. Retin. Eye Res.* **37**, 90–113 (2013).
940. Wong, T. Y. *et al.* Is early age-related maculopathy related to cognitive function? The atherosclerosis risk in communities study. *Am. J. Ophthalmol.* **134**, 828–835 (2002).
941. Thuan, Q. P., Kifley, A., Mitchell, P. & Jie, J. W. Relation of age-related macular degeneration and cognitive impairment in an older population. *Gerontology* **52**, 353–358 (2006).
942. Klaver, C. C. W. *et al.* Is age-related maculopathy associated with Alzheimer's Disease? The Rotterdam Study. *Am. J. Epidemiol.* **150**, 963–968 (1999).
943. Rong, S. S. *et al.* Comorbidity of dementia and age-related macular degeneration calls for clinical awareness: a meta-analysis. *Br. J.*

- Ophthalmol.* **103**, 1777–1783 (2019).
944. Clemons, T. E., Rankin, M. W. & McBee, W. L. Cognitive impairment in the Age-Related Eye Disease Study: AREDS report no. 16. *Arch. Ophthalmol. (Chicago, Ill. 1960)* **124**, 537–543 (2006).
945. Keenan, T. D. L., Goldacre, R., Goldacre, M. J. & Hyman, L. Associations between age-related macular degeneration, Alzheimer disease, and dementia: record linkage study of hospital admissions. *JAMA Ophthalmol.* **132**, 63–68 (2014).
946. Hwang, P. H. *et al.* Associations between ophthalmic conditions and risk of dementia in older adults. (2020).
947. Ermilov, V. V., Zagrebina, V., Smirnov, A. V. & Markelov, V. V. β -amyloidopathy in the pathogenesis of age-related macular degeneration in correlation with Alzheimer's disease in the aspect of autophagy anomalies. in *Alzheimer's & Dementia* vol. 16 e037117 (John Wiley & Sons, Ltd, 2020).
948. Vu, T. A. *et al.* The Bidirectional Relationship between Vision and Cognition: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology* **128**, 981–992 (2021).
949. Kaarniranta, K., Salminen, A., Haapasalo, A., Soininen, H. & Hiltunen, M. Age-Related Macular Degeneration (AMD): Alzheimer's Disease in the Eye? *J. Alzheimer's Dis.* **24**, 615–631 (2011).
950. Anderson, D. H. *et al.* Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: Implications for the process of drusen formation. *Am. J. Ophthalmol.* **131**, 767–781 (2001).
951. Yen, Y. C., Liu, C. K., Lung, F. W. & Chong, M. Y. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Kaohsiung J. Med. Sci.* **17**, 190–197 (2001).
952. Seddon, J. M., Ajani, U. A. & Mitchell, B. D. Familial aggregation of age-related maculopathy. *Am. J. Ophthalmol.* **123**, 199–206 (1997).
953. Romano, G. L. *et al.* Retinal and circulating miRNAs in age-related macular degeneration: An in vivo animal and human study. *Front. Pharmacol.* **8**, 168 (2017).
954. Souied, E. H. *et al.* The ϵ 4 allele of the Apolipoprotein E gene as a potential protective factor for exudative age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* **125**, 353–359 (1998).
955. Klaver, C. C. W. *et al.* Genetic association of apolipoprotein E with age-related macular degeneration. *Am. J. Hum. Genet.* **63**, 200–206 (1998).
956. McKay, G. J. *et al.* Evidence of association of APOE with age-related macular degeneration - a pooled analysis of 15 studies. *Hum. Mutat.* **32**, 1407–1416 (2011).
957. Baird, P. N., Guida, E., Chu, D. T., Vu, H. T. V. & Guymer, R. H. The epsilon2 and epsilon4 alleles of the apolipoprotein gene are associated with age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **45**, 1311–1315 (2004).
958. Toops, K. A., Tan, L. X. & Lakkaraju, A. Apolipoprotein E isoforms and AMD. *Adv. Exp. Med. Biol.* **854**, 3–9 (2016).
959. Baird, P. N. *et al.* Apolipoprotein (APOE) gene is associated with progression of age-related macular degeneration (AMD). *Hum. Mutat.* **27**, 337–342 (2006).
960. März, W., Scharnagl, H., Hoffmann, M. M., Boehm, B. O. & Winkelmann, B. R. The apolipoprotein E polymorphism is associated with circulating C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Eur. Heart J.* **25**, 2109–2119 (2004).
961. Bendlin, B. B. *et al.* Midlife predictors of Alzheimer's disease. *Maturitas* **65**, 131–137 (2010).
962. Anderson, D. H. *et al.* The pivotal role of the complement system in aging and age-related macular degeneration: hypothesis re-visited. *Prog. Retin. Eye Res.* **29**, 95–112 (2010).
963. Edwards, A. O. *et al.* Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* **308**, 421–424 (2005).
964. Johnson, L. V., Leitner, W. P., Staples, M. K. & Anderson, D. H. Complement activation and inflammatory processes in drusen formation and age related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **73**, 887–896 (2001).
965. Mullins, R. F., Russell, S. R., Anderson, D. H. & Hageman, G. S. Drusen associated with aging and age-related macular degeneration contain proteins common to extracellular deposits associated with atherosclerosis, elastosis, amyloidosis, and dense deposit disease. *FASEB J.* **14**, 835–846 (2000).
966. Umeda, S. *et al.* Molecular composition of drusen and possible involvement of anti-retinal autoimmunity in two different forms of macular degeneration in cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). *FASEB J.* **19**, 1683–1685 (2005).
967. Shen, Y. *et al.* Induced expression of neuronal membrane attack complex and cell death by Alzheimer's β -amyloid peptide. *Brain Res.* **796**, 187–197 (1998).
968. Yasojima, K., Schwab, C., McGeer, E. G. & McGeer, P. L. Up-regulated production and

- activation of the complement system in Alzheimer's disease brain. *Am. J. Pathol.* **154**, 927–936 (1999).
969. Strohmeyer, R., Shen, Y. & Rogers, J. Detection of complement alternative pathway mRNA and proteins in the Alzheimer's disease brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **81**, 7–18 (2000).
970. Eikelenboom, P. & Stam, F. C. Immunoglobulins and complement factors in senile plaques. An immunoperoxidase study. *Acta Neuropathol.* **57**, 239–242 (1982).
971. Johnson, L. V. *et al.* The Alzheimer's A β -peptide is deposited at sites of complement activation in pathologic deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 11830 (2002).
972. Curcio, C. A. & Millican, C. L. Basal Linear Deposit and Large Drusen Are Specific for Early Age-Related Maculopathy. *Arch. Ophthalmol.* **117**, 329–339 (1999).
973. Atwood, C. S., Martins, R. N., Smith, M. A. & Perry, G. Senile plaque composition and posttranslational modification of amyloid- β peptide and associated proteins. *Peptides* **23**, 1343–1350 (2002).
974. Saido, T. C. & Iwata, N. Metabolism of amyloid β peptide and pathogenesis of Alzheimer's disease: Towards presymptomatic diagnosis, prevention and therapy. *Neurosci. Res.* **54**, 235–253 (2006).
975. Anderton, B. H. Changes in the ageing brain in health and disease. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.* **352**, 1781–1792 (1997).
976. Dickson, D. W. *et al.* Identification of normal and pathological aging in prospectively studied nondemented elderly humans. *Neurobiol. Aging* **13**, 179–189 (1992).
977. Ohno-Matsui, K. Parallel findings in age-related macular degeneration and Alzheimer's disease. *Prog. Retin. Eye Res.* **30**, 217–238 (2011).
978. Dong, Z. Z. *et al.* Amyloid beta deposition related retinal pigment epithelium cell impairment and subretinal microglia activation in aged APPswePS1 transgenic mice. *Int. J. Ophthalmol.* **11**, 747 (2018).
979. Dentchev, T., Milam, A. H., Lee, V. M. Y., Trojanowski, J. Q. & Dunaief, J. L. Amyloid- β is found in drusen from some age-related macular degeneration retinas, but not drusen from normal retinas. *Mol. Vis.* **9**, 184–190 (2003).
980. Anderson, D. H. *et al.* Characterization of β amyloid assemblies in drusen: the deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **78**, 243–256 (2004).
981. Terai, K. *et al.* beta-amyloid deposits in transgenic mice expressing human beta-amyloid precursor protein have the same characteristics as those in Alzheimer's disease. *Neuroscience* **104**, 299–310 (2001).
982. Isas, J. M. *et al.* Soluble and Mature Amyloid Fibrils in Drusen Deposits. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51**, 1304–1310 (2010).
983. Roychaudhuri, R., Yang, M., Hoshi, M. M. & Teplow, D. B. Amyloid β -protein assembly and Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* **284**, 4749–4753 (2009).
984. Kaye, R. *et al.* Common structure of soluble amyloid oligomers implies common mechanism of pathogenesis. *Science* **300**, 486–489 (2003).
985. Luibl, V. *et al.* Drusen deposits associated with aging and age-related macular degeneration contain nonfibrillar amyloid oligomers. *J. Clin. Invest.* **116**, 378–385 (2006).
986. Crabb, J. W. *et al.* Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 14682–14687 (2002).
987. Perez, S. E., Lumayag, S., Kovacs, B., Mufson, E. J. & Xu, S. Beta-amyloid deposition and functional impairment in the retina of the APPswe/PS1DeltaE9 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50**, 793–800 (2009).
988. Ukalovic, K. *et al.* Drusen in the Peripheral Retina of the Alzheimer's Eye. *Curr. Alzheimer Res.* **15**, 743–750 (2018).
989. Csincsik, L. *et al.* Peripheral Retinal Imaging Biomarkers for Alzheimer's Disease: A Pilot Study. *Ophthalmic Res.* **59**, 182–192 (2018).
990. Alexandrov, P. N., Pogue, A., Bhattacharjee, S. & Lukiw, W. J. Retinal amyloid peptides and complement factor H in transgenic models of Alzheimer's disease. *Neuroreport* **22**, 623–7 (2011).
991. Chiu, K. *et al.* Neurodegeneration of the retina in mouse models of Alzheimer's disease: What can we learn from the retina? *Age (Omaha)*. **34**, 633–649 (2012).
992. López-Cuenca, I. *et al.* Foveal Avascular Zone and Choroidal Thickness Are Decreased in Subjects with Hard Drusen and without High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease. *Biomedicines* **9**, 638 (2021).
993. Ruiz, J. M. *et al.* *Protocolo de diagnóstico, seguimiento y recomendaciones generales*

- en la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) precoz e intermedia: consenso de un panel de expertos. vol. 77 https://serv.es/wp-content/descargasWP/documentacionMedica/consenso_DMAE.pdf (2016).
994. Manniesing, R., Viergever, M. A. & Niessen, W. J. Vessel enhancing diffusion: a scale space representation of vessel structures. *Med. Image Anal.* **10**, 815–825 (2006).
995. Sato, Y. *et al.* Three-dimensional multi-scale line filter for segmentation and visualization of curvilinear structures in medical images. *Med. Image Anal.* **2**, 143–168 (1998).
996. Zhi, Z. *et al.* Noninvasive imaging of retinal morphology and microvasculature in obese mice using optical coherence tomography and optical microangiography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **55**, 1024–1030 (2014).
997. Zudaire, E., Gambardella, L., Kurcz, C. & Vermeren, S. A computational tool for quantitative analysis of vascular networks. *PLoS One* **6**, (2011).
998. Arya, M. *et al.* Parafoveal Retinal Vessel Density Assessment by Optical Coherence Tomography Angiography in Healthy Eyes. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retina* **49**, S5–S17 (2018).
999. Frangi, A. F., Niessen, W. J., Vincken, K. L. & Viergever, M. A. Multiscale vessel enhancement filtering. *Lect. Notes Comput. Sci. (including Subser. Lect. Notes Artif. Intell. Lect. Notes Bioinformatics)* **1496**, 130–137 (1998).
1000. Otsu, N. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Trans Syst Man Cybern* **SMC-9**, 62–66 (1979).
1001. Reuter, M., Rosas, H. D. & Fischl, B. Highly accurate inverse consistent registration: A robust approach. *Neuroimage* **53**, 1181–1196 (2010).
1002. Ségonne, F. *et al.* A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage* **22**, 1060–1075 (2004).
1003. Fischl, B. *et al.* Whole brain segmentation: Automated labeling of neuroanatomical structures in the human brain. *Neuron* **33**, 341–355 (2002).
1004. Fischl, B. *et al.* Sequence-independent segmentation of magnetic resonance images. in *NeuroImage* vol. 23 (Neuroimage, 2004).
1005. Sled, J. G., Zijdenbos, A. P. & Evans, A. C. A nonparametric method for automatic correction of intensity nonuniformity in mri data. *IEEE Trans. Med. Imaging* **17**, 87–97 (1998).
1006. Fischl, B., Liu, A. & Dale, A. M. Automated manifold surgery: Constructing geometrically accurate and topologically correct models of the human cerebral cortex. *IEEE Trans. Med. Imaging* **20**, 70–80 (2001).
1007. Ségonne, F., Pacheco, J. & Fischl, B. Geometrically accurate topology-correction of cortical surfaces using nonseparating loops. *IEEE Trans. Med. Imaging* **26**, 518–529 (2007).
1008. Dale, A. M., Fischl, B. & Sereno, M. I. Cortical surface-based analysis: I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage* **9**, 179–194 (1999).
1009. Dale, A. M. & Sereno, M. I. Improved localization of cortical activity by combining EEG and MEG with MRI cortical surface reconstruction: A linear approach. *J. Cogn. Neurosci.* **5**, 162–176 (1993).
1010. Fischl, B. & Dale, A. M. Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **97**, 11050–11055 (2000).
1011. Fischl, B., Sereno, M. I. & Dale, A. M. Cortical surface-based analysis: II. Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage* **9**, 195–207 (1999).
1012. Fischl, B., Sereno, M. I., Tootell, R. B. H. & Dale, A. M. High-resolution intersubject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum. Brain Mapp.* **8**, 272–284 (1999).
1013. Desikan, R. S. *et al.* An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage* **31**, 968–980 (2006).
1014. Fischl, B. *et al.* Automatically Parcellating the Human Cerebral Cortex. *Cereb. Cortex* **14**, 11–22 (2004).
1015. Rosas, H. D. *et al.* Regional and progressive thinning of the cortical ribbon in Huntington’s disease. *Neurology* **58**, 695–701 (2002).
1016. Kuperberg, G. R. *et al.* Regionally localized thinning of the cerebral cortex in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* **60**, 878–888 (2003).
1017. Salat, D. H. *et al.* Thinning of the cerebral cortex in aging. *Cereb. Cortex* **14**, 721–730 (2004).
1018. Han, X. *et al.* Reliability of MRI-derived measurements of human cerebral cortical thickness: The effects of field strength, scanner upgrade and manufacturer. *Neuroimage* **32**, 180–194 (2006).

1019. Reuter, M., Schmansky, N. J., Rosas, H. D. & Fischl, B. Within-subject template estimation for unbiased longitudinal image analysis. *Neuroimage* **61**, 1402–1418 (2012).
1020. Campbell, F. W. & Robson, J. G. Application of Fourier analysis to the visibility of gratings. *J. Physiol.* **197**, 551–566 (1968).
1021. Franco, S., Silva, A. C., Carvalho, A. S., Macedo, A. S. & Lira, M. Comparison of the VCTS-6500 and the CSV-1000 tests for visual contrast sensitivity testing. *Neurotoxicology* **31**, 758–761 (2010).
1022. Roth, A. *Test-28 hue de Roth selon Farnsworth-Munsell (Manual)*. (1966).
1023. Verriest, G. Further studies on acquired deficiency of color discrimination. *J. Opt. Soc. Am.* **53**, 185–195 (1963).
1024. Steinschneider, T. A New Method for Presenting the Results of the 28-Hue Test by Means of Numerical Scores. 151–155 (1987) doi:10.1007/978-94-009-4275-2_22.
1025. Serradell, M., Bosch, B., Villar, A., Molinuevo Guix, J. & Rami, L. Test Digital de Percepción (TDP) para la valoración de trastornos perceptivos incipientes en la enfermedad de Alzheimer inicial. *Neurología* **22**, 342–347 (2007).
1026. Tzourio-Mazoyer, N. *et al.* Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage* **15**, 273–289 (2002).
1027. Tang, Y. P. & Gershon, E. S. Genetic studies in Alzheimer's disease. *Dialogues Clin. Neurosci.* **5**, 17–26 (2003).
1028. Sims, R. *et al.* Rare coding variants in PLAG2, ABI3, and TREM2 implicate microglial-mediated innate immunity in Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* **49**, 1373–1384 (2017).
1029. Panza, F. *et al.* Decreased frequency of apolipoprotein E ϵ 4 allele from Northern to Southern Europe in Alzheimer's disease patients and centenarians. *Neurosci. Lett.* **277**, 53–56 (1999).
1030. Schramm, C., Wallon, D., Nicolas, G. & Charbonnier, C. What contribution can genetics make to predict the risk of Alzheimer's disease? *Rev. Neurol. (Paris)*. (2022) doi:10.1016/J.NEUROL.2022.03.005.
1031. Van Exel, E. *et al.* Vascular Factors and Markers of Inflammation in Offspring With a Parental History of Late-Onset Alzheimer Disease. *Arch. Gen. Psychiatry* **66**, 1263–1270 (2009).
1032. Knopman, D. S. *et al.* Alzheimer disease. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **7**, 33 (2021).
1033. Younes, L. *et al.* Identifying changepoints in biomarkers during the preclinical phase of Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* **11**, 74 (2019).
1034. Mills, S. M. *et al.* Preclinical trials in autosomal dominant AD: Implementation of the DIAN-TU trial. *Rev. Neurol. (Paris)*. **169**, 737–743 (2013).
1035. Reiman, E. M. Linking brain imaging and genomics in the study of Alzheimer's disease and aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1097**, 94–113 (2007).
1036. Reiman, E. M. *et al.* Preclinical Evidence of Alzheimer's Disease in Persons Homozygous for the ϵ 4 Allele for Apolipoprotein E. *N. Engl. J. Med.* **334**, 752–758 (1996).
1037. Reiman, E. M. *et al.* Declining brain activity in cognitively normal apolipoprotein E ϵ 4 heterozygotes: A foundation for using positron emission tomography to efficiently test treatments to prevent Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98**, 3334–3339 (2001).
1038. Reiman, E. M., Caselli, R. J., Alexander, G. E. & Chen, K. Tracking the decline in cerebral glucose metabolism in persons and laboratory animals at genetic risk for Alzheimer's disease. *Clin. Neurosci. Res.* **1**, 194–206 (2001).
1039. Small, G. W. *et al.* Apolipoprotein E Type 4 Allele and Cerebral Glucose Metabolism in Relatives at Risk for Familial Alzheimer Disease. *JAMA* **273**, 942–947 (1995).
1040. Reiman, E. M. *et al.* Functional brain abnormalities in young adults at genetic risk for late-onset Alzheimer's dementia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 284–289 (2004).
1041. Cuesta, P. *et al.* Source analysis of spontaneous magnetoencephalographic activity in healthy aging and mild cognitive impairment: Influence of apolipoprotein E polymorphism. *J. Alzheimer's Dis.* **43**, 259–273 (2014).
1042. Xu, G. *et al.* The influence of parental history of Alzheimer's disease and apolipoprotein E ϵ 4 on the BOLD signal during recognition memory. *Brain* **132**, 383–391 (2009).
1043. Frisoni, G. B. *et al.* Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers. *Lancet. Neurol.* **16**, 661–676 (2017).
1044. Seltzer, M. M. & Li, L. W. The dynamics of caregiving: Transitions during a three-year prospective study. *Gerontologist* **40**, 165–178 (2000).
1045. Vegeto, E. *et al.* The Role of Sex and Sex Hormones in Neurodegenerative Diseases.

- Endocr. Rev.* **41**, (2020).
1046. Scheyer, O. *et al.* Female Sex and Alzheimer's Risk: The Menopause Connection. *J. Prev. Alzheimer's Dis.* **5**, 225–230 (2018).
1047. Jefferson, A. L. *et al.* Clinical research participation among aging adults enrolled in an Alzheimer's disease center research registry. *J. Alzheimer's Dis.* **23**, 443–452 (2011).
1048. Alber, J. *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. *Alzheimers Dement.* **16**, 229–243 (2020).
1049. Szegedi, S. *et al.* Anatomical and functional changes in the retina in patients with Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Acta Ophthalmol.* **98**, e914–e921 (2020).
1050. Knoll, B. *et al.* Retinal nerve fiber layer thickness in amnesic mild cognitive impairment: Case-control study and meta-analysis. *Alzheimer's Dement.* **4**, 85–93 (2016).
1051. Beach, T. G. *et al.* The Cholinergic Deficit Coincides with A β Deposition at the Earliest Histopathologic Stages of Alzheimer Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **59**, 308–313 (2000).
1052. Potter, P. E. *et al.* Pre- and post-synaptic cortical cholinergic deficits are proportional to amyloid plaque presence and density at preclinical stages of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* **122**, 49–60 (2011).
1053. Mirzaei, N. *et al.* Retinal tauopathy colocalizes in sites of synaptic loss in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. in *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 3079 (2021).
1054. Plassman, B. L. *et al.* Apolipoprotein E epsilon 4 allele and hippocampal volume in twins with normal cognition. *Neurology* **48**, 985–989 (1997).
1055. Schmidt, H. *et al.* Apolipoprotein E4 allele in the normal elderly: neuropsychologic and brain MRI correlates. *Clin. Genet.* **50**, 293–299 (1996).
1056. Tohgi, H. *et al.* Reduced size of right hippocampus in 39- to 80-year-old normal subjects carrying the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Neurosci. Lett.* **236**, 21–24 (1997).
1057. de Flores, R., La Joie, R. & Chételat, G. Structural imaging of hippocampal subfields in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neuroscience* **309**, 29–50 (2015).
1058. Burggren, A. C. *et al.* Reduced cortical thickness in hippocampal subregions among cognitively normal apolipoprotein E ϵ 4 carriers. *Neuroimage* **41**, 1177–1183 (2008).
1059. Batzu, L., Westman, E. & Pereira, J. B. Cerebrospinal fluid progranulin is associated with increased cortical thickness in early stages of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **88**, 61–70 (2019).
1060. López-Sanz, D. *et al.* Functional Connectivity Disruption in Subjective Cognitive Decline and Mild Cognitive Impairment: A Common Pattern of Alterations. *Front. Aging Neurosci.* **9**, (2017).
1061. Donix, M. *et al.* Family history of Alzheimer's disease and hippocampal structure in healthy people. *Am. J. Psychiatry* **167**, 1399–1406 (2010).
1062. Shariflou, S. *et al.* Diagnostic and prognostic potential of retinal biomarkers in early onset Alzheimer's Disease. *Curr. Alzheimer Res.* **14**, 1000–1007 (2017).
1063. Masuzzo, A., Dinet, V., Cavanagh, C., Mascarelli, F. & Krantic, S. Amyloidosis in retinal neurodegenerative diseases. *Front. Neurol.* **7**, 127 (2016).
1064. Jindahra, P., Petrie, A. & Plant, G. T. Retrograde trans-synaptic retinal ganglion cell loss identified by optical coherence tomography. *Brain* **132**, 628–634 (2009).
1065. Criscuolo, C. *et al.* The retina as a window to early dysfunctions of Alzheimer's disease following studies with a 5xFAD mouse model. *Neurobiol. Aging* **67**, 181–188 (2018).
1066. Shi, Z. *et al.* Retinal nerve fiber layer thinning is associated with brain atrophy: A longitudinal study in nondemented older adults. *Front. Aging Neurosci.* **11**, 1–10 (2019).
1067. Hof, P. R. & Morrison, J. H. Quantitative analysis of a vulnerable subset of pyramidal neurons in Alzheimer's disease: II. Primary and secondary visual cortex. *J. Comp. Neurol.* **301**, 55–64 (1990).
1068. Ong, Y. T. *et al.* Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neurosci. Lett.* **584**, 12–16 (2015).
1069. Mutlu, U. *et al.* Retinal neurodegeneration and brain MRI markers: the Rotterdam Study. *Neurobiol. Aging* **60**, 183–191 (2017).
1070. Chua, S. Y. *et al.* Relationships between retinal layer thickness and brain volumes in the UK Biobank cohort. *Eur. J. Neurol.* **28**, 1490–1498 (2020).
1071. Mejia-Vergara, A. J., Karanjia, R. & Sadun, A.

- A. 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.* **420**, 117213 (2021).
1072. Donix, M. *et al.* APOE associated hemispheric asymmetry of entorhinal cortical thickness in aging and Alzheimer's disease. *Psychiatry Res. - Neuroimaging* **214**, 212–220 (2013).
1073. Shaw, P. *et al.* Cortical morphology in children and adolescents with different apolipoprotein E gene polymorphisms: an observational study. *Lancet Neurol.* **6**, 494–500 (2007).
1074. Cronin-Golomb, A. & Hof, P. R. Vision in Alzheimer's Disease. *Gerontologist* **35**, 370–376 (1995).
1075. Ross, J. E., Clarke, D. D. & Bron, A. J. Effect of age on contrast sensitivity function: unocular and binocular findings. *Br. J. Ophthalmol.* **69**, 51–56 (1985).
1076. Serrano, N. *et al.* Spatiotemporal Oscillatory Patterns during Working Memory Maintenance in Mild Cognitive Impairment and Subjective Cognitive Decline. *Int. J. Neural Syst.* **30**, (2020).
1077. Elliott, D. B. Contrast sensitivity decline with ageing: a neural or optical phenomenon?*. *Ophthalmic Physiol. Opt.* **7**, 415–419 (1987).
1078. Whitaker, D. & Elliott, D. B. Simulating age-related optical changes in the human eye. *Doc. Ophthalmol.* **82**, 307–316 (1992).
1079. Derfeldt, G., Lennerstrand, G. & Lundh, B. Age variations in normal human contrast sensitivity. *Acta Ophthalmol.* **57**, 679–690 (1979).
1080. Busche, M. A. *et al.* Critical role of soluble amyloid- β for early hippocampal hyperactivity in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 8740–8745 (2012).
1081. Ren, S. Q. *et al.* Amyloid β causes excitation/inhibition imbalance through dopamine receptor 1-dependent disruption of fast-spiking GABAergic input in anterior cingulate cortex. *Sci. Rep.* **8**, 1–10 (2018).
1082. Ortuño-Lizarán, I. *et al.* Dopaminergic Retinal Cell Loss and Visual Dysfunction in Parkinson Disease. *Ann. Neurol.* **88**, 893–906 (2020).
1083. Salvi, S. M., Akhtar, S. & Currie, Z. Ageing changes in the eye. *Postgrad. Med. J.* **82**, 581–587 (2006).
1084. Mattson, M. P. Late-onset dementia: A mosaic of prototypical pathologies modifiable by diet and lifestyle. *npj Aging Mech. Dis.* **1**, (2015).
1085. Kim, H. J. *et al.* Deficits in color detection in patients with Alzheimer disease. *PLoS One* **17**, e0262226 (2022).
1086. Chan, D., Crutch, S. J. & Warrington, E. K. A disorder of colour perception associated with abnormal colour after-images: a defect of the primary visual cortex. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **71**, 515–517 (2001).
1087. Brewer, A. A. & Barton, B. Changes in Visual Cortex in Healthy Aging and Dementia. in *Update on Dementia* (ed. Vito Moretti, D.) (IntechOpen, 2016). doi:10.5772/64562.
1088. Savaskan, E. *et al.* Distribution of melatonin MT1 receptor immunoreactivity in human retina. *J. Histochem. Cytochem.* **50**, 519–525 (2002).
1089. Uchida, A. *et al.* Outer Retinal Assessment Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography in Patients With Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **59**, 2768–2777 (2018).
1090. Morrison, C., Rabipour, S., Taler, V., Sheppard, C. & Knoefel, F. Visual Event-Related Potentials in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease: A Literature Review. *Curr. Alzheimer Res.* **16**, 67–89 (2018).
1091. Ngoo, Q. Z., Wan Hitam, W. H. & Ab Razak, A. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness, Electroretinogram and Visual Evoked Potential in Patients with Alzheimer's Disease. *J. Ophthalmol.* **2019**, (2019).
1092. Krasodomska, K., Lubiński, W., Potemkowski, A. & Honczarenko, K. Pattern electroretinogram (PERG) and pattern visual evoked potential (PVEP) in the early stages of Alzheimer's disease. *Doc. Ophthalmol.* **121**, 111–121 (2010).
1093. Stothart, G., Kazanina, N., Näätänen, R., Haworth, J. & Tales, A. Early visual evoked potentials and mismatch negativity in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *J. Alzheimer's Dis.* **44**, 397–408 (2015).
1094. Negishi, C., Takasoh, M., Fujimoto, N., Tsuyama, Y. & Adachi-Usami, E. Visual evoked potentials in relation to visual acuity in macular disease. *Acta Ophthalmol. Scand.* **79**, 271–276 (2001).
1095. Sadun, A. A. The optic neuropathy of Alzheimer's disease. *Metab. Pediatr. Syst. Ophthalmol.* **12**, 64–68 (1989).
1096. Ramírez-Toraño, F. *et al.* A Structural Connectivity Disruption One Decade before the Typical Age for Dementia: A Study in Healthy Subjects with Family History of Alzheimer's Disease. *Cereb. Cortex Commun.* **In press**, (2021).

1097. Parka, A., Nedergaard, M., Sotty, F. & Laursen, B. Changes in visual processing during progression of Tau accumulation and neurodegeneration in a mouse model of human tauopathy. in *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 612 (2021).
1098. Cuesta, P. *et al.* Influence of the APOE ϵ 4 allele and mild cognitive impairment diagnosis in the disruption of the MEG resting state functional connectivity in sources space. *J. Alzheimer's Dis.* **44**, 493–505 (2015).
1099. Garcés, P. *et al.* The Default Mode Network is functionally and structurally disrupted in amnesic mild cognitive impairment-A bimodal MEG-DTI study. *NeuroImage Clin.* **6**, 214–221 (2014).
1100. Ramírez-Toranó, F. *et al.* Functional Connectivity Hypersynchronization in Relatives of Alzheimer's Disease Patients: An Early E/I Balance Dysfunction? *Cereb. Cortex* **31**, 1201–1210 (2021).
1101. Canuet, L. *et al.* Network disruption and cerebrospinal fluid amyloid-beta and phospho-tau levels in mild cognitive impairment. *J. Neurosci.* **35**, 10325–10330 (2015).
1102. Pusil, S. *et al.* Hypersynchronization in mild cognitive impairment: The 'X' model. *Brain* **142**, 3936–3950 (2019).
1103. Klein, R., Klein, B. E. K., Tomany, S. C., Meuer, S. M. & Huang, G. H. Ten-year incidence and progression of age-related maculopathy: The Beaver Dam eye study. *Ophthalmology* **109**, 1767–1779 (2002).
1104. Sarks, S. H., Arnold, J. J., Killingsworth, M. C. & Sarks, J. P. Early drusen formation in the normal and aging eye and their relation to age related maculopathy: a clinicopathological study. *Br. J. Ophthalmol.* **83**, 358–368 (1999).
1105. Roca-Santiago, H. M., Lago-Bouza, J. R., Millán-Calenti, J. C. & Gómez-Ulla-Irazazábal, F. Enfermedad de Alzheimer y degeneración macular asociada a la edad. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* **81**, 73–78 (2006).
1106. Chromy, B. A. *et al.* Self-assembly of Abeta(1-42) into globular neurotoxins. *Biochemistry* **42**, 12749–12760 (2003).
1107. LeVine, H. Alzheimer's beta-peptide oligomer formation at physiologic concentrations. *Anal. Biochem.* **335**, 81–90 (2004).
1108. Xiyang, M., Wenbo, W., Wangyi, F. & Qinghuai, L. Association of Apolipoprotein E Polymorphisms with Age-related Macular Degeneration Subtypes: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Arch. Med. Res.* **48**, 370–377 (2017).
1109. Fernández-Vega, B. *et al.* The association study of lipid metabolism gene polymorphisms with AMD identifies a protective role for APOE-E2 allele in the wet form in a Northern Spanish population. *Acta Ophthalmol.* **98**, e282–e291 (2020).
1110. Wong, T. Y. *et al.* Apolipoprotein E gene and early age-related maculopathy: The atherosclerosis risk in communities study. *Ophthalmology* **113**, 255–259 (2006).
1111. Utheim, Ø. A. *et al.* Apolipoprotein E genotype and risk for development of cataract and age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* **86**, 401–403 (2008).
1112. Asensio-Sánchez, V. M., Rodríguez-Martín, T., Gala-Molina, I. & Rodríguez-Fernández, I. Age-related macular degeneration: Its association with the ϵ 4 allele of the apolipoprotein E gene. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* **81**, 9–12 (2006).
1113. Viturino, M. G. M. *et al.* Evaluation of APOE polymorphisms and the risk for age-related macular degeneration in a Southeastern Brazilian population. *Exp. Biol. Med.* **246**, 1148–1155 (2021).
1114. Andersen, L. B., Wedderkopp, N., Hansen, H. S., Cooper, A. R. & Froberg, K. Biological cardiovascular risk factors cluster in Danish children and adolescents: the European Youth Heart Study. *Prev. Med. (Baltim)*. **37**, 363–367 (2003).
1115. Miceli, M. V., Newsome, D. A., Tate, D. J. & Sarphie, T. G. Pathologic changes in the retinal pigment epithelium and Bruch's membrane of fat-fed atherogenic mice. *Curr. Eye Res.* **20**, 8–16 (2000).
1116. Triviño, A. *et al.* Retinal changes in age-related macular degeneration. in *Focus on Eye Research* (ed. Ioseliani, O. R.) 1–37 (2005).
1117. Wilson, J. X. Antioxidant defense of the brain: A role for astrocytes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **75**, 1149–1163 (1997).
1118. Iadecola, C. Mechanisms of Cerebral Ischemic Damage. *Cereb. Ischemia* 3–32 (1999) doi:10.1007/978-1-59259-479-5_1.
1119. Triviño, A. *et al.* Effects of Hypercholesterolaemia in the Retina. in *Ocular Diseases* (IntechOpen, 2012). doi:10.5772/48359.
1120. Ishida, B. Y. *et al.* Regulated expression of apolipoprotein E by human retinal pigment epithelial cells. *J. Lipid Res.* **45**, 263–271 (2004).

1121. Ramírez, J. M. *et al.* Choroidal Vessel Wall: Hypercholesterolaemia-Induced Dysfunction and Potential Role of Statins. in *Current Basic and Pathological Approaches to the Function of Muscle Cells and Tissues - From Molecules to Humans* (ed. Sugi, H.) 255–298 (2012). doi:10.5772/47794.
1122. Ravi Teja, K. V. *et al.* Cerebral and Retinal Neurovascular Changes: A Biomarker for Alzheimer's Disease. *J. Gerontol. Geriatr. Res.* **06**, (2017).
1123. Jiang, H. *et al.* Impaired retinal microcirculation in patients with Alzheimer's disease. *PLoS One* **13**, e0192154 (2018).
1124. Delaey, C. & Van de Voorde, J. Regulatory mechanisms in the retinal and choroidal circulation. *Ophthalmic Res.* **32**, 249–256 (2000).
1125. Nickla, D. L. & Wallman, J. The multifunctional choroid. *Prog. Retin. Eye Res.* **29**, 144–168 (2010).
1126. Triviño, A. *et al.* Distribution and organization of the nerve fiber and ganglion cells of the human choroid. *Anat. Embryol. (Berl.)* **205**, 417–430 (2002).
1127. Triviño, A. *et al.* NPY and TH innervation in human choroidal whole-mounts. *Histol. Histopathol.* **20**, 393–402 (2005).
1128. Ramírez, J. M. *et al.* Anatomofisiología de la úvea posterior: coroides. in *Degeneracion macular asociada a la edad* (eds. Mones, J. & Gómez-Ulla, F.) 1–28 (Probus Science, 2005).
1129. Cheung, C. Y., Chan, V. T. T., Mok, V. C., Chen, C. & Wong, T. Y. Potential retinal biomarkers for dementia: What is new? *Curr. Opin. Neurol.* **32**, 82–91 (2019).
1130. Bayhan, H. A., 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.* **43**, 145–151 (2015).
1131. López-de-Eguileta, A. *et al.* Evaluation of choroidal thickness in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. *PLoS One* **15**, e0239484 (2020).
1132. Foster, N. L. *et al.* Cortical abnormalities in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **16**, 649–654 (1984).
1133. Johnson, N. A. *et al.* Pattern of cerebral hypoperfusion in Alzheimer disease and mild cognitive impairment measured with arterial spin-labeling MR imaging: Initial experience. *Radiology* **234**, 851–859 (2005).
1134. Bertram, L., Lill, C. M. & Tanzi, R. E. The genetics of alzheimer disease: Back to the future. *Neuron* **68**, 270–281 (2010).
1135. Zareparsy, S. *et al.* Association of apolipoprotein E alleles with susceptibility to age-related macular degeneration in a large cohort from a single center. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **45**, 1306–1310 (2004).
1136. Mullins, R. F., Johnson, M. N., Faidley, E. A., Skeie, J. M. & Huang, J. Choriocapillaris vascular dropout related to density of drusen in human eyes with early age-related macular degeneration. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **52**, 1606–1612 (2011).
1137. Luty, G. A., McLeod, D. S., Bhutto, I. A., Edwards, M. M. & Seddon, J. M. Choriocapillaris dropout in early age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **192**, 107939 (2020).
1138. Berenberg, T. L. *et al.* The association between drusen extent and foveolar choroidal blood flow in age-related macular degeneration. *Retina* **32**, 25–31 (2012).
1139. Chung, S. E., Kang, S. W., Lee, J. H. & Kim, Y. T. Choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy and exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* **118**, 840–845 (2011).
1140. Pauleikhoff, D., Chen, J. C., Chisholm, I. H. & Bird, A. C. Choroidal perfusion abnormality with age-related Bruch's membrane change. *Am. J. Ophthalmol.* **109**, 211–217 (1990).
1141. Böker, T., Fang, T. & Steinmetz, R. Refractive error and choroidal perfusion characteristics in patients with choroidal neovascularization and age-related macular degeneration. *Ger. J. Ophthalmol.* **2**, 10–13 (1993).
1142. Chen, J. C., Fitzke, F. W., Pauleikhoff, D. & Bird, A. C. Functional loss in age-related Bruch's membrane change with choroidal perfusion defect. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **33**, 334–340 (1992).
1143. Holz, F. G. *et al.* Bilateral Macular Drusen in Age-related Macular Degeneration: Prognosis and Risk Factors. *Ophthalmology* **101**, 1522–1528 (1994).
1144. Prünte, C. & Niesel, P. Quantification of choroidal blood-flow parameters using indocyanine green video-fluorescence angiography and statistical picture analysis. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **226**, 55–58 (1988).
1145. Friedman, E. *et al.* Increased Scleral Rigidity and Age-related Macular Degeneration. *Ophthalmology* **96**, 104–108 (1989).
1146. 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. Alzheimers. Dis.* **73**, 1201–1209 (2020).
1147. Shi, H. *et al.* Identification of early pericyte loss and vascular amyloidosis in Alzheimer's disease retina. *Acta Neuropathol.* **139**, 813–836 (2020).
1148. Smyth, L. C. D. *et al.* Markers for human brain pericytes and smooth muscle cells. *J. Chem. Neuroanat.* **92**, 48–60 (2018).
1149. Snodderly, D. M., Weinhaus, R. S. & Choi, J. C. Neural-vascular relationships in central retina of macaque monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Neurosci.* **12**, 1169–1193 (1992).
1150. Conrath, J., Giorgi, R., Raccach, D. & Ridings, B. Foveal avascular zone in diabetic retinopathy: Quantitative vs qualitative assessment. *Eye* **19**, 322–326 (2005).
1151. Kreeke, J. A. *et al.* Optical coherence tomography angiography in preclinical Alzheimer's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **104**, 157–161 (2019).
1152. Chua, J. *et al.* Retinal Microvascular Alterations in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Alzheimers. Res. Ther.* **12**, 161 (2020).
1153. Shin, J. Y., Choi, E. Y., Kim, M., Lee, H. K. & Byeon, S. H. Changes in retinal microvasculature and retinal layer thickness in association with apolipoprotein E genotype in Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **11**, 1847 (2021).
1154. Wang, X. *et al.* Decreased Retinal Vascular Density in Alzheimer's Disease (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI): An Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA) Study. *Front. Aging Neurosci.* **12**, 295 (2021).
1155. Grewal, D. S., Polascik, B. W., Hoffmeyer, G. C. & Fekrat, S. Assessment of differences in retinal microvasculature using OCT angiography in Alzheimer's disease: A twin discordance report. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retin.* **49**, 440–444 (2018).
1156. Zabel, P. *et al.* Comparison of retinal microvasculature in patients with Alzheimer's disease and primary open-angle glaucoma by optical coherence tomography angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **60**, 3447–3455 (2019).
1157. Brown, W. R. & Thore, C. R. Review: Cerebral microvascular pathology in ageing and neurodegeneration. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **37**, 56–74 (2011).
1158. Kotliar, K. E., Vilser, W., Nagel, E. & Lanzl, I. M. Retinal vessel reaction in response to chromatic flickering light. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **242**, 377–392 (2004).
1159. Sousa, D. C. *et al.* Hypoxia challenge test and retinal circulation changes – a study using ocular coherence tomography angiography. *Acta Ophthalmol.* **96**, e315–e319 (2018).
1160. Patton, N. *et al.* Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: a rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. *J. Anat.* **206**, 319–348 (2005).
1161. Hunter, J. M. *et al.* Morphological and pathological evolution of the brain microcirculation in aging and Alzheimer's disease. *PLoS One* **7**, (2012).
1162. Wang, L., Murphy, O., Caldito, N. G., Calabresi, P. A. & Saidha, S. Emerging Applications of Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA) in neurological research. *Eye Vis. (London, England)* **5**, (2018).
1163. De Jong, G. I., De Vos, R. A. I., Jansen Steur, E. N. H. & Luiten, P. G. M. Cerebrovascular Hypoperfusion: A Risk Factor for Alzheimer's Disease? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **826**, 56–74 (1997).
1164. Kalaria, R. N. & Pax, A. B. Increased collagen content of cerebral microvessels in Alzheimer's disease. *Brain Res.* **705**, 349–352 (1995).
1165. Nobili, F. *et al.* Brain SPECT in subtypes of mild cognitive impairment. Findings from the DESCRIPA multicenter study. *J. Neurol.* **255**, 1344–1353 (2008).
1166. Henkind, P. Radial peripapillary capillaries of the retina. I. Anatomy: human and comparative. *Br. J. Ophthalmol.* **51**, 115–123 (1967).
1167. Elias, M. F. *et al.* Arterial pulse wave velocity and cognition with advancing age. *Hypertens. (Dallas, Tex. 1979)* **53**, 668–673 (2009).
1168. Pase, M. P., Herbert, A., Grima, N. A., Pipingas, A. & O'Rourke, M. F. Arterial stiffness as a cause of cognitive decline and dementia: a systematic review and meta-analysis. *Intern. Med. J.* **42**, 808–815 (2012).
1169. Yamashita, K. I., Taniwaki, Y., Utsunomiya, H. & Taniwaki, T. Cerebral Blood Flow Reduction Associated with Orientation for Time in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease Patients. *J. Neuroimaging* **24**, 590–594 (2014).
1170. Katusic, Z. S. & Austin, S. A. Endothelial nitric oxide: protector of a healthy mind. *Eur. Heart J.* **35**, 888–894 (2014).
1171. Madamanchi, N. R., Vendrov, A. & Runge, M. S. Oxidative stress and vascular disease.

- Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **25**, 29–38 (2005).
1172. Sun, C., Wang, J. J., Mackey, D. A. & Wong, T. Y. Retinal Vascular Caliber: Systemic, Environmental, and Genetic Associations. *Surv. Ophthalmol.* **54**, 74–95 (2009).
1173. Ikram, M. K. *et al.* Retinal vessel diameters and risk of hypertension: The Rotterdam Study. *Hypertension* **47**, 189–194 (2006).
1174. Ghasemi Falavarjani, K., Al-Sheikh, M., Akil, H. & Sadda, S. R. Image artefacts in swept-source optical coherence tomography angiography. *Br. J. Ophthalmol.* **101**, 564–568 (2017).
1175. Holmen, I. C. *et al.* Prevalence and Severity of Artifacts in Optical Coherence Tomographic Angiograms. *JAMA Ophthalmol.* **138**, 119–126 (2020).
1176. Shahlaee, A. *et al.* In Vivo Assessment of Macular Vascular Density in Healthy Human Eyes Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **165**, 39–46 (2016).
1177. Gadde, S. G. K. *et al.* Quantification of Vessel Density in Retinal Optical Coherence Tomography Angiography Images Using Local Fractal Dimension. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **57**, 246–252 (2016).
1178. Kanai, K., Abe, T., Murayama, K. & Yoneya, S. Retinal thickness and changes with age. *Nihon. Ganka Gakkai Zasshi* **106**, 162–165 (2002).
1179. Alamouti, B. & Funk, J. Retinal thickness decreases with age: an OCT study. *Br J Ophthalmol* **87**, 899–901 (2003).
1180. Ramírez, A. I. *et al.* Microglial changes in the early aging stage in a healthy retina and an experimental glaucoma model. *Prog. Brain Res.* **256**, 125–149 (2020).
1181. Blinzinger, K. & Kreutzberg, G. Displacement of synaptic terminals from regenerating motoneurons by microglial cells. *Zeitschrift für Zellforsch. und Mikroskopische Anat.* **85**, 145–157 (1968).
1182. Trapp, B. D. *et al.* Evidence for synaptic stripping by cortical microglia. *Glia* **55**, 360–368 (2007).
1183. De Hoz, R. *et al.* Rod-Like Microglia Are Restricted to Eyes with Laser-Induced Ocular Hypertension but Absent from the Microglial Changes in the Contralateral Untreated Eye. *PLoS One* **8**, e83733 (2013).
1184. de Hoz, R. *et al.* Bilateral early activation of retinal microglial cells in a mouse model of unilateral laser-induced experimental ocular hypertension. *Exp. Eye Res.* **171**, 12–29 (2018).
1185. van de Kreeke, J. A. *et al.* Longitudinal retinal layer changes in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* (2020) doi:10.1111/aos.14640.
1186. Marquié, M. *et al.* Association between retinal thickness and β -amyloid brain accumulation in individuals with subjective cognitive decline: Fundació ACE Healthy Brain Initiative. **9**, 1–14 (2020).
1187. Cheng, D. L., Thompson, L. & Snyder, P. J. 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. *Front. Aging Neurosci.* **11**, 1–7 (2019).

11.ANEXOS

11. ANEXOS

11.1 Consentimiento informado

SERVICIOS DE NEUROLOGÍA, GERIATRÍA Y RADIODIAGNÓSTICO DEL HOSPITAL CLÍNICO SAN CARLOS Y DEPARTAMENTOS ASOCIADOS DEL CENTRO DE TECNOLOGÍA BIOMÉDICA, LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, EL INSTITUTO DE SALUD CARLOS III

INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE Y FAMILIARES

Título del estudio de investigación: Caracterización cognitiva y neurofisiológica de sujetos de alto riesgo para el desarrollo de demencia: un estudio multidimensional.

Usted ha sido contactado a través de alguno de los servicios mencionados en la cabecera de este documento por ser un posible candidato a participar en este estudio de investigación. Por medio de su colaboración, podremos conocer si existen datos clínicos, de neuroimagen, nutrición, actividad física y/o bioquímicos (genética, niveles de cortisol en saliva y parámetros de neuroinflamación), que nos permitan detectar qué sujetos son más susceptibles de poder desarrollar posteriormente una enfermedad neurodegenerativa, en concreto, la Enfermedad de Alzheimer.

A continuación le describimos brevemente en qué consiste el proyecto de investigación:

La Enfermedad de Alzheimer parece ser un largo proceso que comienza unos 20 años antes de que los síntomas más severos de la enfermedad aparezcan. Así, la investigación de las fases preclínicas de la enfermedad o en sujetos con una alta probabilidad de desarrollar demencia, es un tema de gran relevancia para entender mejor esta patología. Entre los sujetos con una alta probabilidad de desarrollar la enfermedad se encuentran aquellas personas que hayan tenido historia familiar de Enfermedad de Alzheimer. Es posible que este sea su caso. El poder caracterizar mejor a esta población de riesgo podrá ser de gran ayuda para combatir esta patología de forma precoz antes de que la sintomatología se manifieste.

Seguidamente le enumeramos de forma general en qué va a consistir cada una de las pruebas a las que se verá sometido a lo largo del estudio. De cada una de ellas (y por separado) recibirá un documento como este donde se le explicará de forma más detallada cómo se le va a evaluar. Asimismo tendrá a su disposición a los profesionales encargados de administrar cada una de las pruebas y que muy gustosamente le resolverán cualquier duda y/o aclaración que necesite al respecto en el momento de la evaluación.

Si desea participar, vamos a proceder a realizar varias pruebas durante 4-5 visitas, en fechas que intentaremos ajustar a sus posibilidades en todo momento:

- Por un lado, se le someterá a una prueba detallada de sus habilidades mentales mediante unos test psicológicos. Éstos consisten en una serie de preguntas sencillas sobre sus conocimientos generales o recuerdos que durará unas 2 horas aproximadamente. Estas pruebas podrán realizárselas en el Hospital Clínico San Carlos, en la Facultad de Medicina o en otro lugar que pudiera acordar con usted el profesional encargado.

- Otra de las pruebas consistirá en administrarle unos cuestionarios sobre nutrición que tendrá que cumplimentar según las instrucciones de las expertas en esta área. También se le tomarán una serie de medidas antropométricas (peso, talla, índice de masa corporal, pliegues cutáneos, etc.), que permitirán obtener un diagnóstico de su estado

nutricional general. De igual modo se le proporcionará un acelerómetro (es un dispositivo que va colocado en la muñeca y que permite registrar la actividad física que usted realiza a lo largo del día), y que deberá llevar puesto durante varios días. Todo esto se llevará a cabo en la Facultad de Farmacia y/o en la de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid y tendrá una duración aproximada de media hora.

- En la misma Facultad de Medicina, en concreto en el Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo, también se aprovechará la ocasión para realizarle una batería de pruebas para valorar la función visual. Esta batería consta de un test de graduación visual, un estudio de la sensibilidad al contraste, visión de colores, perimetría computerizada, test de percepción digital, toma de presión intraocular, examen de biomicroscopía y análisis del estado de la retina mediante una Tomografía de Coherencia Óptica (TCO). Todas ellas son pruebas no invasivas que serán de utilidad para el estudio y de las que podrá obtener información detallada sobre el procedimiento mientras el profesional correspondiente le esté evaluando.

- También procederemos a extraer una muestra de su sangre para el estudio genético y de neuroinflamación. Se le extraerán entre 20-30 ml de sangre venosa, que serán analizados para este fin en el laboratorio de Investigación del Hospital Clínico San Carlos y en el Instituto de Salud Carlos III respectivamente.

- Por otro lado, se le realizará un estudio de Magnetoencefalografía (MEG), que mide el campo magnético que de forma natural emite nuestro cerebro. Durante la medida de MEG se le realizará una prueba mental para valorar la actividad de su cerebro durante la misma. Esta técnica se realiza en un centro de la Comunidad de Madrid (Centro de Tecnología Biomédica), alejado del Hospital Clínico San Carlos, para lo cual será usted recogido en este Hospital y transportado de nuevo a él por nuestro personal. La duración de esta prueba será de 2 horas aproximadamente.

- Además de la MEG y de la prueba mental, se le administrarán unos cuestionarios sobre bilingüismo y actividad física, y se irán recogiendo varias muestras de saliva a lo largo del registro para poder determinar los niveles de cortisol producidos durante la tarea. El análisis de estas muestras se llevará a cabo en la Facultad de Psicología de la UNED por personal especializado.

- Finalmente se someterá a un estudio de la estructura y las conexiones de partes de su cerebro por medio de una Resonancia Magnética funcional (RMf) que se realiza en el Hospital Clínico San Carlos. Tanto la MEG como la RMf son técnicas completamente no invasivas que no conllevan riesgo alguno para usted.

El orden en el que se lleven a cabo las pruebas podrá fluctuar en función de la propia disponibilidad que usted tenga y de la disponibilidad tanto de los recursos materiales como humanos de los servicios hospitalarios y universitarios para poder estructurarlo todo de la forma más sencilla y cómoda posible para usted. Según cómo se vaya organizando todo, tendrá que hacer un mayor o menor número de visitas, pero no se preocupe: será informado apropiadamente de cada uno de los pasos a seguir en cada momento.

Una vez realizado todo esto, se le irá haciendo un seguimiento a lo largo del tiempo donde se le repetirán algunas de las pruebas aquí enumeradas para así poder comprobar si se han dado modificaciones en sus hábitos de vida, test psicológicos, función cerebral, etc.

Este estudio es totalmente voluntario, por lo que puede usted retirarse libremente del mismo, incluso una vez iniciado, cuando lo desee, y sin requerir una razón concreta. Por otra parte, su negativa a participar o su deseo de abandonarlo en cualquier momento, no repercutirá sobre el trato que usted pudiera recibir por los profesionales involucrados en la presente investigación en el caso de que se le contacte de nuevo para estudios posteriores.

El principal beneficio que usted puede recibir al participar en el estudio conlleva la obtención de una serie de informes relativos a la MEG, la RMf y/o recomendaciones relativas a su estado nutricional o actividad física, etc., ya que son pruebas que no se realizan de forma rutinaria en los Centros de Salud u Hospitales. Además de ello se beneficia de un seguimiento a largo plazo por un equipo de profesionales altamente especializados en su trabajo. Por último, con su cooperación contribuye a que obtengamos un mayor conocimiento sobre los colectivos de riesgo que podrían ser candidatos a desarrollar Enfermedad de Alzheimer. Además podremos definir qué técnicas y marcadores bioquímicos son mejores para detectar precozmente la demencia y que le podrían servir de ayuda tanto a usted como a otras personas en el futuro. En caso de realizarse la determinación de proteínas en líquido cefalorraquídeo, también podría beneficiarse de conocer el riesgo de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer en el futuro.

Las únicas molestias de la participación en el estudio son las relacionadas con la asistencia a las visitas programadas, y el único riesgo, el debido a la extracción de sangre, que en general, sólo puede causar molestias leves que pueden consistir en discreto enrojecimiento, dolor y/o hinchazón en la región de punción.

Este estudio está aprobado por el Comité de Ética del Hospital. Asimismo, se le informará posteriormente de los resultados obtenidos si los precisa. Con el fin de garantizar la fiabilidad de los datos recogidos en este estudio será preciso que diversos miembros del equipo investigador, su médico habitual y, eventualmente, las Autoridades Sanitarias y/o miembros del Comité Ético tengan acceso a su historia clínica, comprometiéndose a la más estricta confidencialidad. Toda la información (personal, clínica, y los datos provenientes de la investigación con material biológico o de neuroimagen) recogida en su nombre se tratará con arreglo a la Directiva 95/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de octubre de 1995, relativa a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales, y a la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y su normativa de desarrollo, entre la que se encuentra el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

Finalmente y siempre que usted esté de acuerdo en participar en el estudio, firme el presente Consentimiento Informado y marque con una "x" cada una de las casillas enumeradas a continuación:

- He leído y entiendo completamente este Consentimiento Informado.
- He tenido la oportunidad de preguntar cualquier pregunta sobre el proyecto de investigación y han sido respondidas a mi satisfacción.
- Acepto participar en este proyecto de investigación bajo las condiciones descritas en este Consentimiento Informado.

- Autorizo el uso y divulgación de mi información a las partes descritas en este Consentimiento Informado para los fines en él descritos.
- Autorizo a que en caso necesario los resultados obtenidos en mis evaluaciones puedan ser utilizados en futuras investigaciones para la contribución y mejora de la ciencia.

Nombre (escrito):

Firma:

Fecha:

Para cualquier **información** que requiera, puede contactar con el Hospital Clínico San Carlos (91 330 30 00), con la Universidad Complutense de Madrid: Facultad de Farmacia (91 394 72 19) o el Centro de Tecnología Biomédica (91 336 46 32) y preguntar por los profesionales pertinentes en cada caso.

Muchas gracias por su colaboración.

11.2 Comité ético del proyecto COGDEM



Informe Dictamen Favorable Proyecto Investigación Biomédica

C.P. - C.I. 15/382-E_BS

13 de julio de 2015

CEIC Hospital Clínico San Carlos

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el proyecto de investigación titulado *"Cognitive and neurophysiological hallmarks of subjects at high risk for development of dementia: a multidimensional approach"*, con código interno nº 15/382-E_BS del que son Investigadores el **Dr. Fernando Maestú Unturbe** y el **Dr. Alberto Marcos Dolado** del Servicio de Neurología del Hospital Clínico San Carlos, ha sido estudiado por este Comité, no habiéndose realizado objeción alguna al mismo.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto.

Lo que firmo en Madrid, a 13 de julio de 2015

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

11.3 Comité ético del proyecto CONNECT-AD



Hospital Clínico San Carlos

Comunidad de Madrid

Informe Dictamen Protocolo Favorable

C.I. 18/422-E_BS

17 de diciembre de 2018

CEIC Hospital Clínico San Carlos

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

CERTIFICA

Que el CEIC Hospital Clínico San Carlos en su reunión del día 10/10/2018, acta 10.1/18 ha evaluado la propuesta del promotor/investigador referida al estudio:

Título: "Estudio del conectoma anatómico-funcional de familiares de enfermos de Alzheimer: una propuesta de intervención temprana cognitiva y de estilo de vida (CONNECT-AD)"

Código Interno: 18/422-E_BS

Versión Protocolo: 16 Diciembre 2018

Versión Hoja Información al Paciente y consentimiento informado: ERAD sin versión
YRAD sin versión

Que en este estudio:

- o Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- o Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.
- o La capacidad del investigador y los medios disponibles son adecuados para llevar a cabo el estudio.
- o El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto de los postulados éticos.
- o Se cumplen los preceptos éticos formulados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica mundial sobre principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos y en sus posteriores revisiones, así como aquellos exigidos por la normativa legal aplicable en función de las características del estudio.

Es por ello que el Comité **informa favorablemente** sobre la realización de dicho proyecto por el Dr. Fernando Maestu Unturbe, de la Facultad de Psicología de la Universidad Complutense de Madrid.

Lo que firmo en Madrid, a 17 de diciembre de 2018

Dra. Mar García Arenillas
Presidenta del CEIC Hospital Clínico San Carlos

11.5 Estancia Internacional en el Imperial College Ophthalmology Research Group-Western Eye Hospital

Estancias breves en España y en el extranjero de los beneficiarios de las ayudas UCM, para contratos predoctorales de personal investigador en formación con resolución de 29 de junio de 2021, de la Secretaría de Estado de Educación, Formación Profesional y Universidades con referencia **EB15/21**, con una beca para la estancia por valor de 1.800 € concedida por la Universidad Complutense de Madrid.

- **Centro: ICORG-** Imperial College Ophthalmology Research Group-Western Eye Hospital. Londres, Reino Unido.
- **Duración: 3 meses**, del 20 de septiembre al 20 de diciembre de 2021.

El **motivo** de la solicitud de una Estancia Breve durante el disfrute del contrato predoctoral para la formación del personal investigador, responde a que, en los últimos años se han desarrollado diferentes técnicas para la detección de la neurodegeneración retiniana. En concreto, la detección de células retinianas apoptóticas, conocida por sus siglas en inglés como DARC, es una técnica que utiliza un oftalmoscopio láser de barrido confocal modificado (cSLO), que aprovechan el medio transparente del ojo como una ventana al cerebro para permitir la visualización en tiempo real de las células retinianas apoptóticas a nivel de una sola célula, utilizando anexina-A5 marcada con fluorescencia. Esta técnica se ha aplicado en varias enfermedades neurodegenerativas como el glaucoma, la demencia en estadios iniciales, la degeneración macular y la neuritis óptica.

Por tanto, el **objetivo de la estancia** consistía en participar en una nueva fase del proyecto denominada DARC IIb para establecer la reproductibilidad de la técnica DARC en humanos. Sin embargo, y debido a la situación sanitaria provocada por la pandemia del COVID-19 en Reino Unido, los proyectos de investigación que se encontraban en fases clínicas se encontraban parados. Por tanto, los objetivos de esta estancia se modificaron para poder llevarse a cabo en el escenario sanitario presente en los meses de septiembre a diciembre en Londres. Así los objetivos de la estancia se adaptaron y se centraron en la profundización en el conocimiento en la DMAE, patología neurodegenerativa que comparte factores de riesgo y características con la EA. Durante los 90 días participé en las consultas oftalmológicas de la Unidad de Mácula del WEH, así como en el resto de especialidades.

Como **fruto de esta estancia** se profundizó en el conocimiento de la DMAE, adquiriendo una formación clínica más adecuada y una importante formación complementaria relacionada con la investigación motivo de esta Tesis Doctoral. Además, he desarrollado y mejorado habilidades

como la gestión de una consulta oftalmológica, el manejo de programas de gestión clínica, así como, el perfeccionamiento del diseño de un estudio oftalmológico. También mejoré las técnicas de extracción, recogida y análisis de datos.

Todos estos conocimientos han sido aplicados en la Tesis Doctoral, en el desarrollo de los puntos 6.4.3, 6.4.4 y 6.4.5 y una mejor comprensión de los puntos 7.6 y 7.7 de los resultados presentados en esta tesis, que han dado como fruto 2 papers y 7 comunicaciones en congresos nacionales e internacionales.

Por último, se escribió un paper de como influyó la pandemia del COVID-19 en las citas médicas en la unidad de mácula de este hospital. El borrador del manuscrito se encuentra bajo revisión de los supervisores de la estancia para ser enviado para su valoración por una revista científica de alto impacto.



Servicio de Administración de Personal Investigador
DIR3 (GEISER-ORVE): U01000736
<http://www.ucm.es/DIR3>

Contratos Predoctorales de Personal Investigador en Formación de la UCM

CERTIFICADO DE ESTANCIA EN EL CENTRO DE
INVESTIGACIÓN ESPAÑOL O EXTRANJERO

CERTIFICATE OF ATTENDANCE IN A FOREIGN INSTITUTION

DATOS PERSONALES / PERSONAL DATA:

Apellidos y nombre (Surname and Christian names):	López Cuenca, Inés
NIF (National Identity Card):	51479345D
Organismo (Home Research Institution):	Ins. Inv. Oftalmológicas Ramón Castroviejo. Universidad Complutense de Madrid

CENTRO (ESPAÑOL/EXTRANJERO) / RESEARCH CENTER:

Nombre de la Institución (Name of Institution):	Imperial College Ophthalmology Research Group Western Eye Hospital
Dirección Postal (Postal Address):	153-173 Marylebone Rd, NW1 5QH, London
País (Country):	Reino Unido

INVESTIGADOR RESPONSABLE EN EL CENTRO (ESPAÑOL EXTRANJERO)
PERSON RESPONSABLE IN THE FOREIGN INSTITUTION:

Nombre (Name):	Professor M Francesca Cordeiro
Puesto que ocupa en la institución (Position occupied):	Director

CERTIFICO que el Personal Investigador en Formación arriba mencionado ha realizado una estancia en este centro en las siguientes fechas:

(This is to certify that the above-mentioned persona has attend this Institution on the following dates):

Desde (From):	20th September 2021
Hasta (To):	20th December 2021

Lugar y fecha (Place and date);
London, 20th December 2021
FIRMA Y SELLO (Signature and seal):

Imperial College Healthcare NHS Trust
Western Eye Hospital
153-173 Marylebone Road
London
NW1 5QH

Información básica de protección de datos del tratamiento: Investigación	
Responsable	Vicerrectorado de Investigación y Transferencia
Finalidad	Ayudas y acciones para desarrollo de la investigación Científica
Legitimación	Cumplimiento de una obligación legal; Misión en interés público
Destinatarios	Se prevén cesiones
Derechos	Acceder y rectificar los datos, así como otros derechos, explicados en la información adicional
Infor. adicional	Puede consultarla con detalle en: http://www.imperial.ac.uk/privacy-policy

11.6 Publicaciones científicas derivadas de la Tesis Doctoral

1. **López-Cuenca, I.**, de Hoz, R., Salobrar-García, E., Elvira-Hurtado, L., Rojas, P., Fernández-Albarral, J. A., Barabash, A.; Salazar, J.J., Ramírez, A.I., & Ramírez, J. M. **“Macular thickness decrease in asymptomatic subjects at high genetic risk of developing Alzheimer’s disease: An OCT study”**. *Journal of Clinical Medicine*, 2020, Volume 9, number 6, page1728. <https://doi.org/10.3390/jcm9061728>. **Índice de impacto:4,242, Q1.**
2. **López-Cuenca, I.**, de Hoz, R., Alcántara-Rey, C., Salobrar-García, E., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral, J. A., Barabash, A., Ramírez-Toraño, F., de Frutos-Lucas. J., Salazar, J.J., Ramírez, A.I., & Ramírez, J. M.. **“Foveal avascular zone and choroidal thickness are decreased in subjects with hard drusen and without high genetic risk of developing Alzheimer’s disease”**. *Biomedicines*,2021, Volume 9, number 6, page 638. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060638>. **Índice de impacto:6,081, Q1.**
3. **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García, E., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral, J. A., Sánchez-Puebla, L., Salazar, J. J., Ramírez, J. M., Ramírez, A.I., & de Hoz, R. **“The Value of OCT and OCTA as Potential Biomarkers for Preclinical Alzheimer’s Disease: A Review Study”**. *Life*, 2021, volume 11, number 7, page 712. <https://doi.org/10.3390/life11070712>. **Índice de impacto:3,817, Q2.**
4. **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García,E., Gil-Salgado, I, Sánchez-Puebla, L., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral, J. A., Ramírez-Toraño, F., Barabash, A., de Frutos-Lucas. J., Salazar, J. J., Ramírez, J. M., Ramírez, A.I., & de Hoz, R. **“Characterization of Retinal Drusen in Subjects at High Genetic Risk of Developing Sporadic Alzheimer’s Disease: An Exploratory Analysis”**. *Journal of Personalized Medicine*, 2022, volume 12, number 5 page 847. <https://doi.org/10.3390/jpm12050847> . **Índice de impacto:4,945, Q1.**
5. **López-Cuenca, I.**, Marcos-Dolado. A., Yus-Fuertes. M., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral, J. A., Salazar, J.J., Ramírez, A.I., Sánchez-Puebla. L., Fuentes-Ferrer. M.E., Barabash, A., Ramírez-Toraño, F., Gil-Martín. L., Arrazola-García. J-, Gil. P., de Hoz, R., & Ramírez, J. M.**“The relationship between retinal layers and brain areas in asymptomatic first-degree relatives of sporadic forms of Alzheimer's disease: an exploratory analysis”**. *Alzheimer’s Research & Therapy*, 2022, volume 14, number 79, page <https://doi.org/10.1186/s13195-022-01008-5>. **Índice de impacto:6,982, Q1.**

6. **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García, E., Sánchez-Puebla, L., Espejel, E., García del Arco, L., Rojas, P., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral, J. A., Ramírez-Toraño, F., Barabash, A., Salazar, J. J., Ramírez, J. M., de Hoz, R & Ramírez, A.I. ***“Retinal Vascular Study Using OCTA In Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's disease and Cardiovascular Risk Factors”***. Journal of Clinical Medicine, 2022, Volume 11, number 11, page 3248; <https://doi.org/10.3390/jcm11113248>. **Índice de impacto:4,242, Q1.**

11.6.1 Publicaciones “Under peer review”

7. **López-Cuenca, I.**, Nebreda, A., García-Colomo, A., Salobrar-García, E., de Frutos-Lucas, J., Bruña, R., Ramírez, A.I., Ramírez-Toraño, F., Salazar, J. J., Barabash, A., Gil, p., Maeztú, F., Ramírez, J. M., de Hoz, R., ***“Early Visual Alterations in Individuals at-Risk of Alzheimer's Disease: A Multidisciplinary Approach”***. Brain **Índice de impacto:13,501, Q1.**

11.7 Comunicaciones en congresos con resultados obtenidos durante la realización de la tesis doctoral.

2020-2021 Segundo año de contrato

1. **López-Cuenca, I.**, Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Salobar-García, E., Rojas, P., Ramírez, Ana I., Salazar, Juan J., de Hoz, R., Ramírez, José M. “Análisis de los cambios de grosor macular mediante OCT en sujetos cognitivamente sanos con alto riesgo genético para el desarrollo de Alzheimer”. Comunicación oral. IV Edición PhDay. 2 octubre 2020.
2. **López-Cuenca, I.**, Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Salobar-García, E., Rojas, P., Salazar, Juan J., Ramírez, Ana I., de Hoz, R., Ramírez, José M. “Evaluation of changes in macular thickness by OCT in asymptomatic subjects with high genetic risk of developing Alzheimer's disease”. Comunicación en panel. 21-29 noviembre 2020. EVER. Young investigator and poster event. 21-29 noviembre 2020.
Abstract publicado en : Acta Ophthalmol,99. <https://doi.org/10.1111/aos.0121>
3. **López-Cuenca, I.**, Elvira-Hurtado, L., Salobar-García, E., Fernández-Albarral. José A., Rojas, P., Salazar, Juan J., Ramírez, Ana I., Ramírez, José M., de Hoz, R., “Visual acuity and contrast sensitivity are slightly modified in young subjects at high genetic risk of developing Alzheimer's disease.” Comunicación en panel. EVER. Young investigator and poster evento. 21-29 noviembre 2020.
Abstract publicado en: Acta Ophthalmologica,99 <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2020.0124>
4. **López-Cuenca, I.**, de Hoz, R., Salobar-García, E., Fernández-Albarral. José A., Rojas, P., Elvira-Hurtado, L., Ramírez, Ana I., Barabash, A., Salazar, Juan J., Ramírez, José M., “Assessment of macular thickness changes by OCT in asymptomatic relatives of Alzheimer's disease patients”. Comunicación en panel. ARVO 2021.Online, 1-7 Mayo 2021.
Abstract publicado en: Investigative Ophthalmology & Visual Science 62.
5. Ramírez, José M., **López-Cuenca, I.**, Salobar-García, E., Fernández-Albarral. José A., Rojas, P., Elvira-Hurtado, L., Salazar, Juan J., Barabash, A., Ramírez, Ana I., de Hoz, R.,

- “Visual acuity and contrast sensitivity are slightly modified in young asymptomatic relatives of Alzheimer’s disease patients” Comunicación en panel. ARVO 2021. Online, 1-7 mayo 2021.
- Abstract publicado en: Investigative Ophthalmology & Visual Science 62.
6. **López-Cuenca, I.**, Salobar-García, E., Fernández-Albarral. José A., de Hoz, R., Ramírez, Ana I., de Frutos Lucas, J., Ramírez-Toraño, F., Salazar, Juan J., Maestú, F., Ramírez, José M., “Análisis de la agudeza visual y sensibilidad al contraste en sujetos con alto riesgo de desarrollo de demencia tipo Alzheimer”. Comunicación en panel. OPTOM 2021 Online. 26 Congreso de Optometría, contactología y óptica Oftálmica. Online, 8-28 mayo 2021.
 7. **López Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Rojas, P., Fernández-Albarral, José A., Ramírez, Ana I., Maestú, F., de Hoz, R., “Cambios en los test psicofísicos en pacientes con alto riesgo de desarrollo de demencia tipo Alzheimer”. Comunicación Oral. II Congreso Virtual de la Sociedad Española de Geriatria y Gerontología: Nuevos retos para el envejecimiento. Online, 2 al 4 de junio de 2021.
 8. **López Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Fernández-Albarral, José A., Rojas, P., Salazar, Juan J., Maestú, F., Ramírez, José M. “Análisis de la retina mediante OCT en pacientes con alto riesgo de desarrollo de demencia tipo Alzheimer”. Comunicación Oral. II Congreso Virtual de la Sociedad Española de Geriatria y Gerontología: Nuevos retos para el envejecimiento. Online, 2 al 4 de junio de 2021.
 9. **López-Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Elvira-Hurtado, L., de Hoz, R., Salazar, Juan J., Ramírez, José M., “Retinal Changes By Optical Coherence Tomography In Subject At High Genetic Risk For Developing Alzheimer’s Disease”. Comunicación oral VII Congreso Internacional de Investigación en Retina y visión. Murcia, 24-26 junio 2021.
 10. Alcantara-Rey, C., **López-Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Fernández-Albarral. José A., Ramírez, Ana I., Ramírez, José M., “Study of Retinal and Choroidal Vascular Network through OCT and Angio-OCT in Patients with High Genetic Risk for Developing Alzheimer’s Disease”. Comunicación oral VII Congreso Internacional de Investigación en Retina y visión. Murcia, 24-26 junio 2021.

11. Gil-Salgado, I., **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García. E., Elvira-Hurtado, L., Ramírez, José M., de Hoz, R. "Associations between Age Related Macular Degeneration, Alzheimer's Disease and ApoE". Comunicación oral
VII Congreso Internacional de Investigación en Retina y visión. Murcia, 24-26 junio 2021
12. Espejel, E., García del Arco, L., **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García, E., Elvira-Hurtado, L., Ramírez, José M. "Literature Review of Retinal Microvasculature Changes in Preclinical Stages of Alzheimer Disease". Comunicación oral
VII Congreso Internacional de Investigación en Retina y visión. Murcia, 24-26 junio 2021.

2021-2022 Tercer año de contrato

13. **López-Cuenca, I.**, De hoz, R., Salobrar-García, E., Fernández-Albarral, José A., Rojas, P., Elvira-Hurtado, L., Ramírez, Ana I., Barabash, A., Salazar, Juan J., Ramírez, José M., "Assessment of macular thickness changes by OCT in asymptomatic relatives of Alzheimer's disease patients" 'Pan-American Association of Ophthalmology. Virtual Meeting. 17 julio 2021.
14. **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García. E., Alcantara-Rey, C., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Rojas, P., Ramírez, Ana I., Salazar, Juan J., Barabash, A., Ramírez, José M., de Hoz, R., "Ocular vascular changes in relatives at high genetic risk for developing Alzheimer's disease: Foveal Avascular Zone and Choroidal Thickness". Comunicación en panel. EVER 2021. European Association for Vision and Eye Research Festival. 27 septiembre-2 octubre 2021 (Online).
Abstract publicado en: Acta Ophthalmologica, 100. <https://doi.org/10.1111/j.1755-3768.2022.194>
15. **López-Cuenca, I.**, Salobrar-García. E., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Sánchez-Puebla, L., Rojas, P., Ramírez, Ana I., Salazar, Juan J., de Hoz, R., Ramírez, José M. "Correlación entre áreas retinianas medidas mediante OCT y áreas cerebrales medidas mediante resonancia magnética en familiares de primer grado de personas con enfermedad de Alzheimer" Comunicación oral.
VI Edición PhDay Doctorado en investigación biomédica. 1 Octubre 2021 (Online).

16. **López-Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Sánchez-Puebla, Alcántara-Rey, C., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Ramírez, Ana I., Salazar, Juan J., Barabash, A., Ramírez, José M., de Hoz, R. “Cambios vasculares oculares en sujetos de alto riesgo genético para el desarrollo de demencia tipo Alzheimer: zona avascular foveal y grosor coroideo”. Comunicación oral. OPTOM 2027 (27 Congreso de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica). Madrid, 1-3 abril 2022.
17. **López-Cuenca, I.**, Marcos-Dolado, A., Yus-Fuertes, M., Salobar-García. E., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Barabash, A., Ramírez-Toraño, F., de Hoz, R., Ramírez, José M. “Correlaciones entre OCT y resonancia magnética en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de demencia tipo Alzheimer”. Comunicación oral. OPTOM 2027 (27 Congreso de Optometría, Contactología y Óptica Oftálmica). Madrid, 1-3 abril 2022.
18. Sánchez-Puebla, L., **López-Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Elvira-Hurtado, L., Matamoros, José A., Marcos-Dolado, A. “Análisis de correlaciones entre volúmenes retinianos medidos mediante OCT y áreas cerebrales medidas con RM en sujeto con alto riesgo genético para el desarrollo de EA”
Comunicación oral.
I Jornada de Jóvenes Investigadores de SIREV. Valladolid, 9-10 junio 2022.
19. Gil-Salgado, I., **López-Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Ramírez, José M. “Caracterización de las drusas retinianas en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de demencia tipo Alzheimer”. Comunicación oral.
I Jornada de Jóvenes Investigadores de SIREV. Valladolid, 9-10 junio 2022.
20. García del Arco, L., Espejel, E., **López-Cuenca, I.**, Salobar-García. E., Ramírez, José M. “Estudio de la vascularización retiniana por OCTA en pacientes de alto riesgo genético de desarrollar la Enfermedad de Alzheimer”. Comunicación oral.
I Jornada de Jóvenes Investigadores de SIREV. Valladolid, 9-10 junio 2022.
21. **López-Cuenca, I.**, Gil-Salgado, I., Salobar-García. E., Sánchez-Puebla, L., Elvira-Hurtado, L., Fernández-Albarral. José A., Ramírez, José M. “Caracterización de las drusas retinianas en sujetos con alto riesgo genético para el desarrollo de demencia tipo Alzheimer”. Comunicación en panel.

62 Congreso de la Sociedad Española de Geriatria y Gerontología y XXIII Congreso de la Sociedad Madrileña de geriatría y Gerontología. Madrid, 22-24 junio 2022.

22. **López-Cuenca, I.**, García del Arco, L., Espejel, E., Sánchez-Puebla, L., Salobar-García. E., Fernández-Albarral. José A., Ramírez, José M. “Antecedentes familiares de Alzheimer y el papel de los factores de riesgo cardiovascular en los cambios vasculares de la retina”. Comunicación en panel.

62 Congreso de la Sociedad Española de Geriatria y Gerontología y XXIII Congreso de la Sociedad Madrileña de geriatría y Gerontología. Madrid, 22-24 junio 2022.

12. PUBLICACIONES CIENTÍFICAS COMPLETAS



Article

Macular Thickness Decrease in Asymptomatic Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease: An OCT Study

Inés López-Cuenca ^{1,†} , Rosa de Hoz ^{1,2,3,†} , Elena Salobrar-García ^{1,2,3} ,
Lorena Elvira-Hurtado ¹, Pilar Rojas ^{1,4} , José A. Fernández-Albarral ¹ , Ana Barabash ^{5,6} ,
Juan J. Salazar ^{1,2,3} , Ana I. Ramírez ^{1,2,3,*} and José M. Ramírez ^{1,2,7,*}

¹ Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo, Universidad Complutense de Madrid (UCM), 28040 Madrid, Spain; inelopez@ucm.es (I.L.-C.); rdehoz@med.ucm.es (R.d.H.); elenasalobrar@med.ucm.es (E.S.-G.); marelvir@ucm.es (L.E.-H.); pilar.rojas.lozano@gmail.com (P.R.); joseaf08@ucm.es (J.A.F.-A.); jjsalazar@med.ucm.es (J.J.S.)

² IORC, Faculty of Medicine, 28011 Madrid, Spain

³ Facultad de Óptica y Optometría, Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, UCM, 28037 Madrid, Spain

⁴ Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto Oftálmico de Madrid, 28007 Madrid, Spain

⁵ Endocrinology and Nutrition Department, Hospital Clínico Universitario San Carlos and Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos, 28040 Madrid, Spain; ana.barabash@gmail.com

⁶ Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, 28029 Madrid, Spain

⁷ Facultad de Medicina, Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, UCM, 28040 Madrid, Spain

* Correspondence: airamirez@med.ucm.es (A.I.R.); ramirezs@med.ucm.es (J.M.R.)

† These authors (I.L.-C. and R.d.H.) contributed equally to this work.

Received: 2 May 2020; Accepted: 1 June 2020; Published: 3 June 2020



Abstract: In this case control study, we examined the retinal thickness of the different layers in the macular region and peripapillary retinal nerve fiber layer (RNFL) with optical coherence tomography (OCT) in healthy cognitive subjects (from 51 to 74 years old) at high genetic risk for developing Alzheimer's disease (AD). Thirty-five subjects with a family history of Alzheimer disease (AD) (FH+) and ApoE ϵ 4 carriers and 29 age-matched control subjects without a family history of AD (FH-) and ApoE ϵ 4 non-carriers were included. Compared to FH- ApoE ϵ 4 non-carriers, in FH+ ApoE ϵ 4 carriers, there were statistically significant decreases ($p < 0.05$) in (i) the foveal area of mRNFL; (ii) the inferior and nasal sectors in the outer and inner macular ring in the inner plexiform layer (IPL); (iii) the foveal area and the inferior sector in the outer macular ring in the inner nuclear layer (INL); and (iv) the inferior sector of the outer macular ring in the outer plexiform layer (OPL). However, no statistically significant differences were found in the peripapillary thickness of RNFL between both study groups. In subjects with cognitive health and high genetic risk for the development of AD, initial changes appeared in the macular area. OCT could be a promising, cost-effective and non-invasive test useful in early AD, before the onset of clinical symptoms.

Keywords: Alzheimer's disease; ApoE ϵ 4; first-degree family history; genetic risk; OCT; retina

1. Introduction

One of the main genetic risk factors for developing sporadic Alzheimer's Disease (AD) is having a first-degree family history of the disease [1], another major genetic risk factor is mediated by ApoE [2]. This gene has been implicated in modulating the metabolism and aggregation of A β [3]. There are

three alleles of APOE, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$, and they encode for apolipoprotein E (ApoE) [4]. ApoE4 increases the risk of AD by three times per $\epsilon 4$ allele, with the risk being highest among people of European descent [5]. Moreover, the mean age at the clinical onset of AD has been estimated at 68 years for $\epsilon 4$ homozygotes and 76 years for $\epsilon 4$ heterozygotes [6]. Although genetics is not included in the research framework because the gene variants do not measure pathological changes or indicate any particular stage of AD [7], ApoE $\epsilon 4$ has been reported to affect magnetic resonance imaging (MRI), cerebrospinal fluid (CSF) and cognitive biomarkers [8], and it may have intrinsic effects on brain function [9]. In addition, ApoE $\epsilon 4$ plus high levels of amyloid beta ($A\beta$) proteins are associated with episodic memory decline and high risk for clinical AD [10], and ApoE $\epsilon 4$ carriers are also more vulnerable to environmental factors [11].

For years, changes in subjects at high risk of developing AD have been studied [12–16]. Casual findings such as the presence of white matter hyper-intensities, vascular abnormalities and the loss of brain volume have been reported in some MRI studies [12,17]. In magnetoencephalographic (MEG) studies, the functional connectivity of cognitively healthy subjects at high risk of AD showed areas where this connectivity decreased and others where it improved. In these areas between the precuneus and the bilateral inferior parietal lobes, in which there is more activity, they have a neuronal hyper-synchronization that can be explained as an early abnormal excitatory response by the effect of $A\beta$ accumulation [18]. Previously, it has been reported that neurons near amyloid plaques become hyperactive [19], showing a decrease in synaptic inhibition as a possible cause of hyperactivity. It is known that signs of dementia can appear decades before clinically detectable symptoms [20,21]. For all these reasons, interest in finding new biomarkers of the disease has focused on earlier stages of AD [22], searching for less invasive methods and easily accessible tissues such as the retina [23,24].

There is a clear link between retinal and cerebral changes in AD [23]. In preclinical and prodromal stages, retinal changes have also been reported in the optical coherence tomography (OCT) [25,26], as well as the existence of associations between quadrant-specific retinal nerve fiber layer (RNFL) thickness and the brain regions analyzed by 3T MRI [27].

The aim of this work was to analyze by OCT the existence of possible structural changes in the retina, both in the macular and in the peripapillary area, in subjects with two marked genetic risk factors for AD: first-degree family history of AD and being carrier of at least one $\epsilon 4$ allele for the ApoE gene.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

“The cognitive and neurophysiological characteristics of subjects at high risk of developing dementia: a multidimensional approach” (COGDEM study) was conducted in different centers including the Centre for Biomedical Technology (CBT), the San Carlos Clinical Hospital in Madrid (HCSC), the Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmic Research (IIORC) in the Complutense University of Madrid (UCM), Spain. All the study participants provided written informed consent. The research followed the tenets of the Declaration of Helsinki, and the study was approved by the local Ethics Committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS.

We analyzed two groups: subjects with a family history of AD (FH+) and their respective controls. The group (FH+) was made up of middle-aged subjects with at least one parent with sporadic AD. Their clinical records should not show a history of neurological or psychiatric disorders or suffering from a serious medical condition. To verify the parent’s diagnosis of AD, a multidisciplinary diagnostic consensus panel reviewed the parent’s medical records. Experts at the HCSC reviewed the diagnostic procedures to select only those diagnoses that were made under internationally accepted criteria. Although autopsy reports verified by a pathologist were welcome, this may not be an inclusion criterion since this procedure was not performed in most AD patients. Families with known autosomal dominant mutations (i.e., preseniline-1 or 2) were not included. As controls for the FH+ group,

we selected middle-aged subjects in whom the absence of a first-degree family history of AD (FH−) was determined through the participant’s self-report in response to a detailed medical history questionnaire. This FH− group was matched with the FH+ group in terms of age, socioeconomic status and other demographic characteristics. In addition, no previous history of neurological or psychiatric disorder or any serious medical condition was an inclusion criterion for this sample. Both the FH+ and FH− groups showed normal scores (above 26) on the Mini Mental State Examination (MMSE). They also showed normal MRI with no evidence of brain lesion or pathology.

Because approximately 15% of the general population carries ApoE ε4, we decided to include this genetic factor as a covariate in our study. For the analysis of ApoE genotyping, DNA was extracted from 10 mL blood samples in ethylenediaminetetraacetic acid from the FH+ and FH− subjects. ApoE was detected using TaqMan assay technology on an Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR machine (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). ApoE alleles were determined by analyzing two single-nucleotide polymorphisms (SNPs), rs7412 and rs429358 genotypes, with TaqMan Genotyping Assays (C___904973_10 and C___3084793_20, respectively).

2.2. Subjects

We reviewed the COGDEM study database, which consists of 251 patients. In our study, none of the subjects could have an ophthalmological pathology that could modify the measures by OCT, and for this reason we performed a phone screening with all the patients to assess their ophthalmological history. The questions are shown in Table 1. Forty-four subjects refused to participate, and seventeen had ocular pathology.

Table 1. Telephone screening questions.

Do you use glasses? Yes/No
Do you know if you have myopia, hypermetropia or astigmatism?
Do you know how much diopters?
Do you have any ocular pathology? Yes/No
Do you have any type of ocular treatment? Yes/No
Do you have any type of ocular surgery performed? Yes/No

2.3. Ophthalmological Tests

All remaining participants ($n = 190$) were examined in the clinic of the Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmic Research, where an eye examination was performed. For the study, one eye of each patient was randomly selected. The visual exam included visual acuity, slit-lamp examination, applanation tonometry (Perkins MKII tonometer, Clement Clarke International, Essex, England), a dilated fundus and an OCT examination (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany).

In addition to the general inclusion criteria, all the participants met the ophthalmological inclusion criteria listed in Table 2.

Table 2. Ophthalmological inclusion criteria.

Being free of ocular disease or posterior pole pathology
Macular degeneration
Drusen
Glaucoma or suspicion
Epiretinal membrane
Congenital malformation
Having a best corrected visual acuity more than 20/40.
Having less than ± 5 spherocylindrical refractive error.
Having intraocular pressure less than 20 mmHg.

Of these 190 subjects, after the ophthalmological examination, we excluded 60 participants for different ophthalmologic pathologies or conditions that were unknown for them. Finally, the remaining

130 patients were divided into 57 FH+ ApoE ε4 non-carriers, 35 FH+ ApoE ε4 carriers, 29 FH– ApoE ε4 non-carriers and 9 FH– ApoE ε4 carriers. Since in our study we considered being an ApoE ε4 carrier as inclusion criteria, 35 FH+ ApoE ε4 carriers and 29 FH– ApoE ε4 non-carriers (control group) participated, being a total of 64 adults aged between 51 and 74 years (Figure 1).

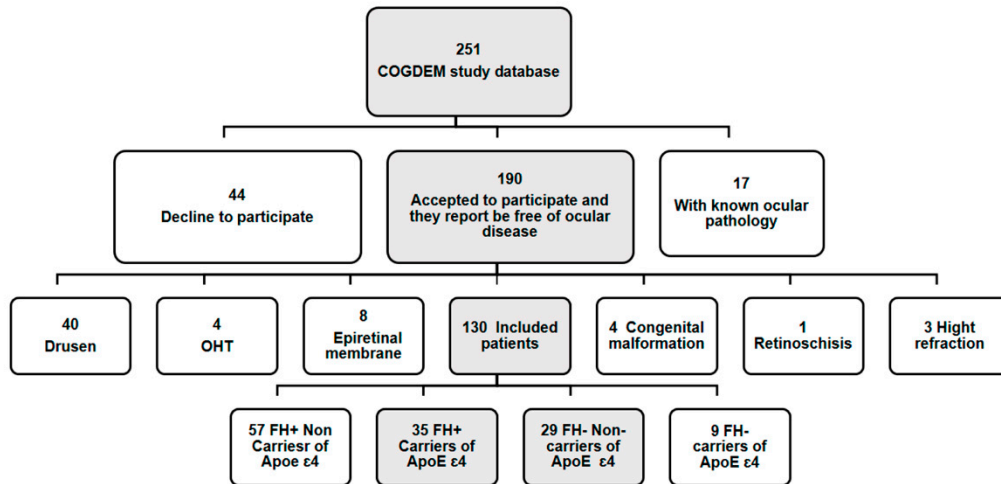


Figure 1. Flow diagram of patient’s inclusion. (COGDEM): “The cognitive and neurophysiological characteristics of subjects at high risk of developing dementia: a multidimensional approach”; (FH+), subjects with a family history of Alzheimer’s disease (AD); (FH–) subjects without a family history of AD. In greyscale, patients who participated in the ophthalmological study and were included in our study.

2.4. Optical Coherence Tomography

OCT images were captured with Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Spectralis Glaucoma Module Premium Edition was used, which offers an anatomic positioning system (APS) based on two fixed points: the center of the fovea and the center of Bruch’s membrane opening (BMO). At the optic nerve head (ONH), a 4-line high-resolution radial scan and three-circle scans, both centered on BMO, were acquired to provide highly reproducible RNFL thickness results. In the macular area, which was centered on the APS of Glaucoma Module Premium, 121 dense B-scans were performed per eye.

The total thickness of the retina and the thickness of each retinal layer in the macular area were measured with Heidelberg segmentation software (Heidelberg, Germany, version 1.10.4.0). This segmentation was checked by the same optometrist (IL-C) and modified manually if required. The thicknesses of the following layers of the retina were analyzed: retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL) and retinal pigment epithelium (RPE) (Figure 2C). The inner and outer macular rings were analyzed according to the standard Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) macular grid (a foveal area of 1 mm of diameter, 1–3 mm around the fovea in the inner ring and 3–6 m for the outer ring) [28] (Figure 2A). Peripapillary RNFL (pRNFL) thickness was measured in six sectors (nasal, supero-nasal, infero- nasal, temporal, supero-temporal, infero-temporal), also obtaining an average over all sectors (Global) (Figure 2B). Good-quality scans were considered with a signal-to-noise ratio >30 and 95% accepted A-Scans. According to the calibration provided by the manufacturers, the measurements were given in microns. Both eyes of each subject were scanned, but only one eye of each participant was used in this study. The scans were obtained after pharmacological mydriasis at under room light conditions.

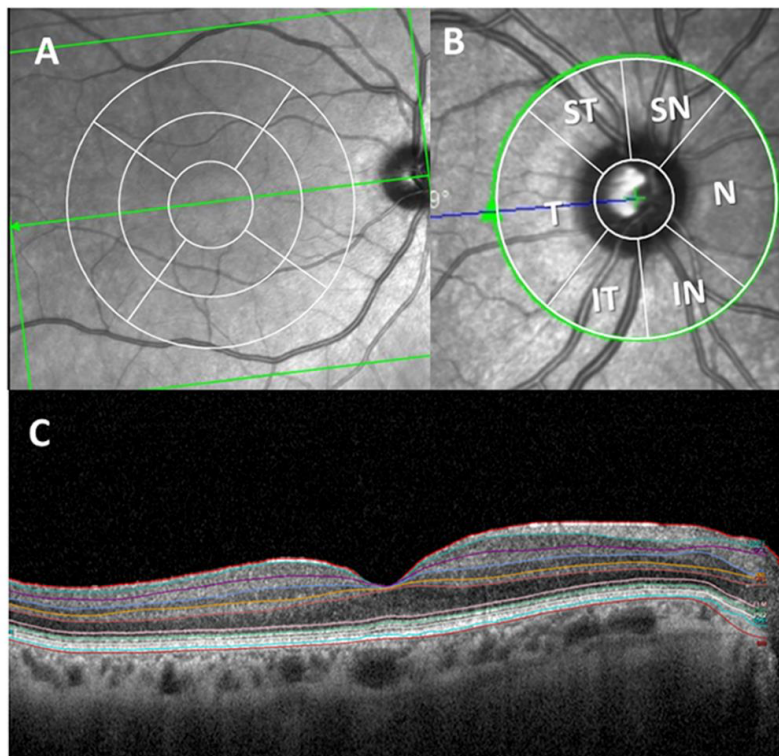


Figure 2. Optical coherence tomography (OCT) report of the retinal thickness analysis. (A) Concentric macular rings. (B) Peripapillary sectors. (C) Macular thickness segmentation of all retinal layers. (ST: supero-temporal; SN: supero-nasal; N: nasal; IN: infero-nasal; IT: infero-temporal; T: temporal and G: global).

2.5. Statistical Analysis

Statistical analysis was carried out in SPSS 25.0 (SPSS Inc., Inc., Chicago, IL, USA). The distribution of the sample was analyzed using visual methods including histograms, Q-Q plot graphics as well as Kolmogorov–Smirnov and Shapiro–Wilk normality tests.

Data are reported as the median (interquartile range). The differences between the study groups (FH+ ApoE ε4 carriers and FH– ApoE ε4 non-carriers) were analyzed using a Mann–Whitney U Test. For the analysis of qualitative variables, a chi-squared test was used. A *p* value ≤ 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

Demographic data for FH+ ApoE ε4 carriers and FH– ApoE ε4 non-carriers are shown in Table 3.

Table 3. Demographic data of the study population.

	FH+ ApoE ε4 Carriers	FH– ApoE ε4 Non-Carriers	<i>p</i> -Value
Number of participants (<i>n</i>)	35	29	
Age (years)	57.00 (54.00–61.00)	59.00 (54.00–65.00)	0.164
Sex			
Male/Female	11/24	12/17	0.028 [*] /0.353 ¹
MMSE	29.00 (29.00–29.00)	29.00 (28.00–29.00)	

Median (interquartile range); * *p* < 0.05. Mann–Whitney U and chi-square tests; ¹ *p*-value of different sex in the same group; SD: standard deviation; FH+: subjects with a family history of AD; FH–: subjects without a family history of AD. MMSE: Mini Mental State Examination.

There were statistically significant differences ($p < 0.05$) between the sex of the subjects in the group of FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers (11 males/24 females), while in the control group there were no significant differences. Regarding the mean age of the participants, there was no significant difference between FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers (57.00 (54.00–61.00)) and FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carriers (59.00 (54.00–65.00)). The mean MMSE scores were (29.00 (29.00–29.00)) in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ carrier group and (29.00 (28.00–29.00)) in the FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carrier group.

3.1. Macular Thickness Analysis by OCT

Regarding the total retinal thickness, there were no significant differences between the study groups in any of the sectors analyzed ($p > 0.05$), with the foveal sector being the thinnest in the eyes of FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers in comparison to eyes of FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carriers (Figure 3).

The thickness of the macular retinal nerve fiber layer (mRNFL) showed a significant thinning ($p < 0.05$) in the foveal area in the group of FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers (12.00 (10.00–13.00)) compared to that of the group of FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carriers (13.00 (11.50–14.00)). (Figure 3).

In comparison to the FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carrier group, FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers showed a non-significant, slight reduction of all the sectors in the thickness of GCL (Figure 3).

In the IPL of FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers, the inferior sectors, both in the inner macular ring (41.00 (39.00–42.00)) and outer macular ring (27.00 (25.00–29.00)), were statistically reduced ($p < 0.05$ in both cases) with respect to the FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carrier group. This significant thinning ($p < 0.05$) was also observed in the inner (42.00 (40.00–44.00)) and outer (30.00 (27.00–31.00)) macular rings in the nasal sector. (Figure 3).

In the INL, the FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers, with respect to the FH– ApoE $\epsilon 4$ non-carrier group, showed a significant thickness decrease in the outer macular ring in the inferior sector (31.00(29.00–32.00)) and in the foveal sector (18.00 (16.00–21.25)) ($p < 0.05$ in both cases) (Figure 3).

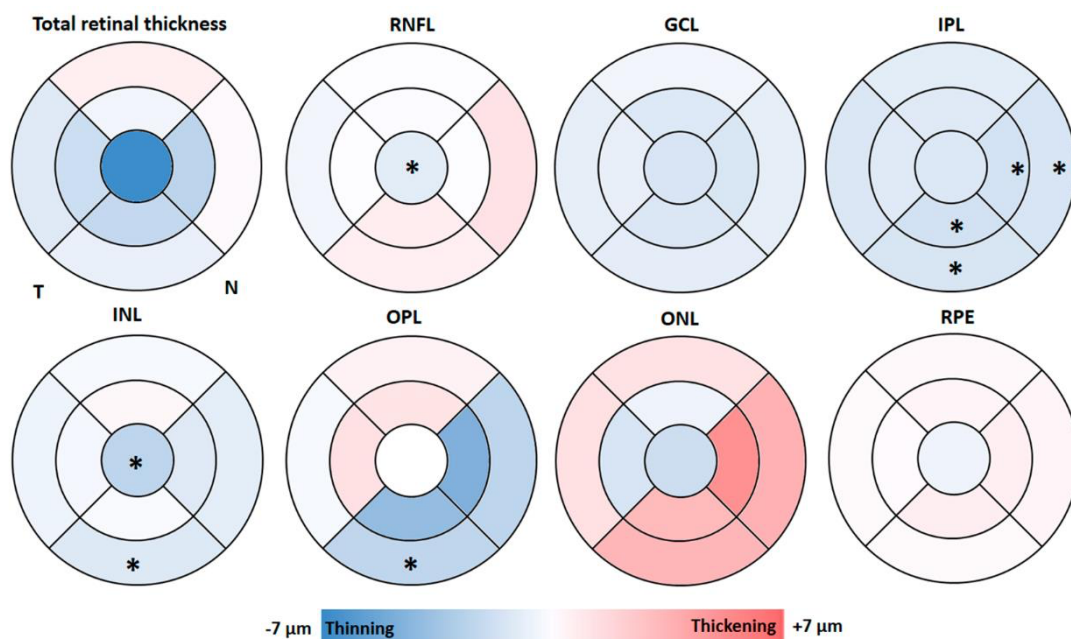


Figure 3. Colorimetric differences in the retinal thickness in each layer between the groups. FH+ ApoE $\epsilon 4$ carriers vs. FH– ApoE $\epsilon 4$ no-carriers in the macular OCT rings. In red, thickening; in blue, thinning. (RNFL: retinal nerve fiber layer; GCL: ganglion cell layer; IPL: inner plexiform layer; INL: inner nuclear layer; OPL: outer plexiform layer; ONL: outer nuclear layer; RPE: retinal pigment epithelium). * $p < 0.05$. Mann–Whitney U test.

In the OPL of the FH+ ApoE ϵ 4 carriers, a significant decrease ($p < 0.05$) in the outer macular ring in the inferior sector (27.00 (26.00–29.00)) was observed compared to the group of FH– ApoE ϵ 4 non-carriers (30.00 (27.00–32.50)). (Figure 3).

In the analysis of ONL, no significant difference was observed between the two study groups. However, in FH+ ApoE ϵ 4 carriers, with respect to FH– ApoE ϵ 4 non-carriers, a slight increase in the thickness of the outer macular ring was observed in all sectors, as well as in the nasal and inferior sectors of the inner macular ring (Figure 3).

Regarding the thickness of the RPE, there were no statistically significant differences between the two study groups in any of the analyzed sectors (Figure 3).

3.2. Peripapillary RNFL Segmentation Thickness Analysis by OCT

In the pRNFL, the comparison between the FH+ ApoE ϵ 4 carriers with respect to the FH– ApoE ϵ 4 non-carriers showed no statistically significant thickness differences in any of the sectors analyzed. However, in the FH+ ApoE ϵ 4 carrier group, while a slight decrease was found in the superior nasal, inferior temporal and temporal sectors, a slight increase was observed in the nasal and nasal inferior sectors with respect to the FH– ApoE ϵ 4 non-carrier group (Figure 4).

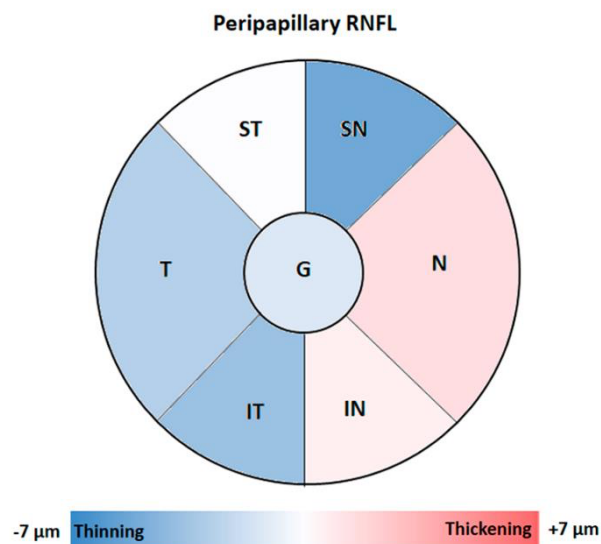


Figure 4. Colorimetric differences in the peripapillary RNFL thickness between the groups. FH+ ApoE ϵ 4 carriers vs. FH– ApoE ϵ 4 non-carriers in the peripapillary OCT sectors. In red, thickening; in blue, thinning. (ST: supero-temporal; SN: supero-nasal; N: nasal; IN: infero-nasal; IT: infero-temporal; T: temporal and G: global). Non-statistical differences were observed.

4. Discussion

To our knowledge, few studies have analyzed retinal thickness in healthy cognitive subjects at high genetic risk of developing Alzheimer’s dementia [25,26,29–31]. One of the highlights of this study was the careful selection of cases. All participants were free of ocular pathology and cognitive, psychological and behavioral disorders that could mask the results. Only family members of people diagnosed with AD were selected for this study.

In our study, in the FH+ ApoE ϵ 4 carrier group there was a statistically significant difference between the sex of the participants (11 men/24 women). This difference could be explained by women being more likely to develop dementia, so they may be more interested in participating in the study [32]. In addition, women have traditionally been the caregivers because they may feel the losses associated with mental disorders in their families more acutely than men [33]. They commonly participate in studies for two reasons: advances in AD research that will benefit family, friends, or future generations and personal concerns about memory [34].

The association between pRNFL thickness measurements and brain structure volumes in non-demented older adults is now well known [27,35]. There are direct correlations between RNFL thickness in the temporal quadrant with medial temporal lobe volume and especially with the hippocampus volume [27]. Moreover, the inferior quadrant was associated with lingual gyrus volume. These changes, which were reported in previous studies, suggested that changes in the RNFL thickness could be used as an early marker of AD-related brain atrophy [27,36]. In addition, a decrease in pRNFL thickness has been correlated with impaired cognition during disease progression [37–40]. This pRNFL decrease was confirmed as a potential biomarker for predicting cognitive decline in older adults during preclinical dementia [36]. The association between the atrophy of brain areas and changes in retinal thickness means that the retina may be a potential biomarker for neurodegenerative diseases, as it is non-invasive, it is cost-effective and it is promising in the early stages of AD and even in subjects at high risk of developing dementia.

As far as we know, this is the first study that analyzed by OCT, both in macular and peripapillary regions, all the layers of the retina in cognitively healthy subjects at high risk of developing Alzheimer's dementia due to two risk factors: having a family history and being a carrier of ApoE ϵ 4. OCT was able to detect very early thickness changes in the macular region, which were very small ($\pm 7 \mu\text{m}$) in comparison to thickness changes observed in diagnosed AD patients.

In our study, in the analysis of the mRNFL, we found a significant thinning in the foveal sector in the group of FH+ ApoE ϵ 4 carriers compared to the FH– ApoE ϵ 4 non-carrier group. It is surprising to find changes in retinal thickness among these study groups since it must be remembered that FH+ ApoE ϵ 4 carriers are cognitively healthy subjects.

In preclinical studies of AD there are some differences. Some authors did not find significant differences through RNFL analysis in the total macular volume thickness between the AD preclinical group and the control group [29]. More recently, a significant decrease in the total macular volume has been described in preclinical AD with respect to the control groups. These changes appeared after a 27 month follow-up and were related to the neocortical accumulation of A β [26]. However, in another study, no significant differences were found between participants with A β deposits in the inner layers of the retina in the macular region and those without A β deposits in these layers [25]. In these three works, the preclinical groups were made up of people who had a family member with AD but also had subjective memory complaints. They were possibly in the pre-dementia stage with mild cognitive impairment (MCI), which the authors call the preclinical stage. In this stage, the pathology is present in the memory system of the medial temporal lobe, and the neurofibrillary pathology has already begun [26]. A β deposits could also be found in mRNFL, compensating in part for the decrease in mRNFL thickness seen in our FH+ ApoE ϵ 4 carriers. Therefore, the reduction in mRNFL thickness could be observed before the damage to the mesiotemporal central nervous memory system, which is characteristic of early AD [26]. For this reason, we suggest that the loss of mRNFL thickness could be a feature of early AD or in subjects at high risk of developing AD.

In patients with established AD, a reduction in mRNFL thickness has been demonstrated in different sectors [37,41–43]. The difference between the inclusion criteria of these patients, in relation to the MMSE, makes the classification of the different stages of AD not equivalent. Possibly, for this reason, the results obtained by different authors were not the same. The greatest thinning was observed in the outer macular ring, in the superior and inferior sectors. This predominant alteration could be explained by the greater concentration of axonal bundles that were directed towards the optic nerve head in these sectors [23].

Few studies have analyzed the thickness of mRNFL in patients with MCI [36,44]. While some studies reported a reduction in the macular volume in MCI patients with respect to controls [36], others found increased macular volumes in MCI patients [44]. The increase of macular volume in MCI could be attributed to gliosis prior to neuronal loss and the atrophy of mRNFL [45].

In our study, the thickness of GCL in FH+ ApoE ϵ 4 carriers showed a slight but not significant reduction in all the sectors with respect to controls. Most of the studies that analyzed this layer in

preclinical AD groups also found no significant difference with respect to the control groups [25,26,29,30]. However, the decreased GCL thickness was the main cause of retinal thinning in patients diagnosed with AD [41]. This GCL thinning has been found both in mild AD patients [37] and mild-to-moderate AD patients [46]. In MCI, this thickness decrease has also been suggested as a possible tool to detect neuronal injury [47].

We found that the inferior and nasal sectors, both in the inner and outer macular rings of the IPL, showed significant thinning in the group of FH+ ApoE ϵ 4 carriers compared to that of FH- ApoE ϵ 4 non-carriers, with the IPL retinal layer showing more sectors with statistically significant thickness decreases. In a previous study, in subjects with subjective memory complaints, authors also found a significant thickness reduction in the inferior quadrant [26]. However, the results were different in patients with A β + who showed an increase in the volume of this layer [30]. The thickness decrease found in our FH+ ApoE ϵ 4 carrier subjects in IPL could be explained by the decreased cholinergic activity in this layer, as already described in histopathological studies of asymptomatic patients with the presence of A β deposits [48,49]. In more advanced stages of dementia (MCI and established AD), the GCL and the IPL have been analyzed as a complex, showing a thickness decrease in all the quadrants with respect to the control groups [41,47].

At INL, we found a significant thickness decrease in the foveal sector and in the inferior sector of the outer macular ring in our FH+ ApoE ϵ 4 carriers. Only one previous study analyzed the thickness of all the retinal layers in the preclinical stage of AD, although they found no differences in the INL compared to the control group [26]. The absence of changes in this layer could be because this sample presented subjective memory complaints, as they were in a more advanced stage than our healthy cognitive subjects at high risk of developing dementia.

Regarding the outer layers of the retina, the inferior sector in the outer macular ring of the OPL was the only one with significant thinning. In addition, we found that the same sectors that showed a non-significant slight thickness decrease in the OPL (nasal and inferior) also showed a slight, non-significant increase in the ONL. In a previous study where we conducted a spatial analysis of thickness changes in the retinal layers of AD patients measured by OCT, we found that the use of concentric rings could detect the thickening and thinning of neighboring layers within the same region [50]. For this reason, the thickness changes of adjacent layers can be compensated for [50]. In addition, only in preclinical subjects who reported subjective memory complaints were significant changes in ONL thickness detected, with respect to the control group, which were explained as a possible consequence of retrograde transsynaptic degeneration [26].

Regarding RPE thickness, there were no statistically significant differences between our study groups in any of the sectors analyzed. No previous studies have analyzed this layer in preclinical patients. We found no significant changes in patients with established AD [37,51].

As expected, in the present work we did not find significant changes in any of the peripapillary sectors of RNFL. However, in patients with moderate AD we found a statistically significant thickness decrease in comparison to the control group. Changes in this peripapillary area have been associated with disease progression and the advance of cognitive decline, determined by the MMSE score [37].

Although we found an association between reduced retinal thickness in specific areas and the risk of developing AD dementia, a limitation of this study is that no data are available on how this thinning of the retina correlates with brain or retinal markers of AD. Although a family history of AD and an ApoE genotype ϵ 4 increases the risk of developing AD dementia, not all of our patients at high risk of developing AD will develop the disease. Therefore, the high-risk group in this study possibly included both people who will develop AD dementia and some who will not. This could limit the ability of retinal thickness measurements in patients at high risk of developing AD to be used as an early biomarker. In addition, the same subjects would need to be analyzed over time to evaluate how many of them will develop the disease in the future. The subjects included in our study belonged to a multidimensional study (COGDEM) which will conduct their follow-up.

In conclusion, in cognitively healthy subjects who are asymptomatic but at high genetic risk of developing Alzheimer's-type dementia, OCT is able to detect very early thickness changes in the macular region, which are very slight (around $\pm 7 \mu$). These changes showed statistically significant decreases in (i) the foveal area of the mRNFL; (ii) the inferior and nasal sectors in the outer and inner macular ring in the IPL; (iii) the foveal area and the inferior sector in the outer macular ring in the INL; and (iv) the inferior sector of the outer macular ring in the OPL. Therefore, OCT could be a useful tool for diagnosing, monitoring and screening patients at high genetic risk of developing AD, and it is a promising, cost-effective, non-invasive test useful for the early stages of the disease, before the onset of clinical symptoms.

Author Contributions: Conceptualization, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., J.J.S., A.I.R., A.B. and J.M.R.; data curation, I.L.-C., E.S.-G., L.E.-H., A.B. and J.A.F.-A.; formal analysis, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., L.E.-H., P.R. and J.A.F.-A.; funding acquisition, J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; investigation, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., L.E.-H., P.R., J.A.F.-A. and J.M.R.; methodology, I.L.-C., E.S.-G., L.E.-H., P.R., A.B. and A.I.R.; project administration, J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; resources, R.d.H.; supervision, R.d.H., J.J.S. and J.M.R.; validation, I.L.-C., E.S.-G., A.B., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; visualization, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., L.E.-H., P.R., J.A.F.-A., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; writing—original draft, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., P.R., J.A.F.-A., A.I.R. and J.M.R.; writing—review and editing, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., J.A.F.-A., J.J.S., A.I.R. and J.M.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ophthalmological Network OFTARED (RD16/0008/0005) of the Institute of Health of Carlos III of the Spanish Ministry of Science and Innovation; and the Research Network RETIBRAIN (RED2018-102499-T) of the Spanish Ministry of Science and Innovation; and Grant PSI2015-68793-C3-1-R of the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness. I.L.-C. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT42/18-CT43/18) from the Complutense University of Madrid. J.A.F.-A. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (FPU17/01023) from the Spanish Ministry of Science, Innovation, and Universities. The sponsor or funding organization had no role in the design or conduct of this research.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Donix, M.; Small, G.W.; Bookheimer, S.Y. Family history and APOE-4 genetic risk in Alzheimer's disease. *Neuropsychol. Rev.* **2012**, *22*, 298–309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Shaw, L.M.; Arias, J.; Blennow, K.; Galasko, D.; Molinuevo, J.L.; Salloway, S.P.; Schindler, S.; Carrillo, M.C.; Hendrix, J.A.; Ross, A.; et al. Appropriate use criteria for lumbar puncture and cerebrospinal fluid testing in the diagnosis of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2018**, *14*, 1505–1521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Poirier, J.; Bertrand, P.; Kogan, S.; Gauthier, S.; Davignon, J.; Bouthillier, D. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer's disease. *Lancet* **1993**, *342*, 697–699. [[CrossRef](#)]
4. Budelier, M.M.; Bateman, R.J. Biomarkers of Alzheimer Disease. *J. Appl. Lab. Med.* **2019**, *5*, 194–208. [[CrossRef](#)]
5. Corbo, R.M.; Scacchi, R. Apolipoprotein E (APOE) allele distribution in the world. Is APOE*4 a 'thrifty' allele? *Ann. Hum. Genet.* **1999**, *63*, 301–310. [[CrossRef](#)]
6. Corder, E.; Saunders, A.; Strittmatter, W.; Schmechel, D.; Gaskell, P.; Small, G.; Roses, A.; Haines, J.; Pericak-Vance, M. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* **1993**, *261*, 921–923. [[CrossRef](#)]
7. Jack, C.R.; Bennett, D.A.; Blennow, K.; Carrillo, M.C.; Dunn, B.; Haeberlein, S.B.; Holtzman, D.M.; Jagust, W.; Jessen, F.; Karlawish, J.; et al. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2018**, *14*, 535–562. [[CrossRef](#)]
8. Leoni, V. The effect of apolipoprotein E (ApoE) genotype on biomarkers of amyloidogenesis, tau pathology and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2011**, *49*, 375–383. [[CrossRef](#)]
9. Trachtenberg, A.J.; Filippini, N.; Ebmeier, K.P.; Smith, S.M.; Karpe, F.; Mackay, C. The effects of APOE on the functional architecture of the resting brain. *NeuroImage* **2012**, *59*, 565–572. [[CrossRef](#)]
10. Lim, Y.Y.; Villemagne, V.L.; Pietrzak, R.H.; Ames, D.; Ellis, K.; Harrington, K.; Snyder, P.J.; Martins, R.N.; Masters, C.L.; Rowe, C.C.; et al. APOE ϵ 4 moderates amyloid-related memory decline in preclinical Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **2015**, *36*, 1239–1244. [[CrossRef](#)]

11. Kivipelto, M.; Rovio, S.; Ngandu, T.; Kåreholt, I.; Eskelinen, M.; Winblad, B.; Hachinski, V.; Cedazo-Minguez, A.; Soininen, H.; Tuomilehto, J.; et al. Apolipoprotein E ϵ 4 magnifies lifestyle risks for dementia: A population-based study. *J. Cell. Mol. Med.* **2008**, *12*, 2762–2771. [[CrossRef](#)]
12. Bookheimer, S.Y.; Strojwas, M.H.; Cohen, M.S.; Saunders, A.M.; Pericak-Vance, M.A.; Mazziotta, J.C.; Small, G.W. Patterns of brain activation in people at risk for Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **2000**, *343*, 450–456. [[CrossRef](#)]
13. Reiman, E.M.; Uecker, A.; Caselli, R.J.; Lewis, S.; Bandy, D.; De Leon, M.; De Santi, S.; Convit, A.; Osborne, D.; Weaver, A.; et al. Hippocampal volumes in cognitively normal persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **1998**, *44*, 288–291. [[CrossRef](#)]
14. Bendlin, B.B.; Ries, M.L.; Canu, E.; Sodhi, A.; Lazar, M.; Alexander, A.L.; Carlsson, C.M.; Sager, M.A.; Asthana, S.; Johnson, S.C. White matter is altered with parental family history of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2010**, *6*, 394–403. [[CrossRef](#)]
15. Badía, M.-C.; Giraldo, E.; Dasí, F.; Alonso, D.; Lainez, J.M.; Lloret, A.; Viña, J. Reductive stress in young healthy individuals at risk of Alzheimer disease. *Free Radic. Biol. Med.* **2013**, *63*, 274–279. [[CrossRef](#)]
16. Badia, M.-C.; Lloret, A.; Giraldo, E.; Dasí, F.; Olaso, G.; Alonso, M.-D.; Viña, J. Lymphocytes from Young Healthy Persons Carrying the ApoE4 Allele Overexpress Stress-Related Proteins Involved in the Pathophysiology of Alzheimer's Disease. *J. Alzheimer's Dis.* **2012**, *33*, 77–83. [[CrossRef](#)]
17. Brugulat-Serrat, A.; Rojas, S.; Bargalló, N.; Conesa, G.; Minguillón, C.; Fauria, K.; Gramunt, N.; Molinuevo, J.L.; Gispert, J.D. Incidental findings on brain MRI of cognitively normal first-degree descendants of patients with Alzheimer's disease: A cross-Sectional analysis from the ALFA (Alzheimer and Families) project. *BMJ Open* **2017**, *7*. [[CrossRef](#)]
18. Nakamura, A.; Cuesta, P.; Kato, T.; Arahata, Y.; Iwata, K.; Yamagishi, M.; Kuratsubo, I.; Kato, K.; Bundo, M.; Diers, K.; et al. Early functional network alterations in asymptomatic elders at risk for Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 6517. [[CrossRef](#)]
19. Busche, M.A.; Eichhoff, G.; Adelsberger, H.; Abramowski, R.; Wiederhold, K.-H.; Haass, C.; Staufenbiel, M.; Konnerth, A.; Garaschuk, O. Clusters of Hyperactive Neurons Near Amyloid Plaques in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Science* **2008**, *321*, 1686–1689. [[CrossRef](#)]
20. Bateman, R.J.; Xiong, C.; Benzinger, T.L.; Fagan, A.M.; Goate, A.M.; Fox, N.; Marcus, D.S.; Cairns, N.J.; Xie, X.; Blazey, T.M.; et al. Clinical and biomarker changes in dominantly inherited Alzheimer's disease. *N. Engl. J. Med.* **2012**, *367*, 795–804. [[CrossRef](#)]
21. Dubois, B.; Hampel, H.; Feldman, H.H.; Scheltens, P.; Aisen, P.; Andrieu, S.; Bakardjian, H.; Benali, H.; Bertram, L.; Blennow, K.; et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's Dement.* **2016**, *12*, 292–323. [[CrossRef](#)]
22. Koronyo, Y.; Salumbides, B.C.; Black, K.L.; Koronyo-Hamaoui, M. Alzheimer's Disease in the Retina: Imaging Retinal A Plaques for Early Diagnosis and Therapy Assessment. *Neurodegener. Dis.* **2012**, *10*, 285–293. [[CrossRef](#)]
23. Alber, J.; Goldfarb, D.; Hernandez, K.; Cheng, D.; Cordeiro, F.; Van Stavern, G.P.; Snyder, P.J.; Thompson, L.I.; Debuc, D.C.; Arthur, E.; 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 Dement.* **2020**, *16*, 229–243. [[CrossRef](#)]
24. Cheng, D.L.; Thompson, L.; Snyder, P.J. 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. *Front. Aging Neurosci.* **2019**, *11*, 288. [[CrossRef](#)]
25. Van De Kreeke, J.A.; Nguyen, H.; Haan, J.D.; Konijnenberg, E.; Tomassen, J.; Braber, A.D.; Kate, M.T.; Collij, L.; Yaqub, M.; Van Berckel, B.; et al. Retinal layer thickness in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **2019**, *97*, 798–804. [[CrossRef](#)]
26. Santos, C.Y.; Johnson, L.N.; Sinoff, S.E.; Festa, E.K.; Heindel, W.C.; Snyder, P.J. Change in retinal structural anatomy during the preclinical stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2018**, *10*, 196–209. [[CrossRef](#)]
27. Shi, Z.; Cao, X.; Hu, J.; Jiang, L.; Mei, X.; Zheng, H.; Chen, Y.; Wang, M.; Cao, J.; Li, W.; et al. Retinal nerve fiber layer thickness is associated with hippocampus and lingual gyrus volumes in nondemented older adults. *Prog. Neuro Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2020**, *99*, 109824. [[CrossRef](#)]

28. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group. Grading Diabetic Retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs—An Extension of the Modified Airlie House Classification: ETDRS Report Number 10. *Ophthalmology* **1991**, *98*, 786–806. [[CrossRef](#)]
29. Golzan, M.; Goozee, K.; Georgevsky, D.; Avolio, A.P.; Chatterjee, P.; Shen, K.; Gupta, V.K.; Chung, R.; Savage, G.; Orr, C.; 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*, 13. [[CrossRef](#)]
30. Snyder, P.J.; Johnson, L.N.; Lim, Y.Y.; Santos, C.Y.; Alber, J.; Maruff, P.; Fernández, B. Nonvascular retinal imaging markers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2016**, *4*, 169–178. [[CrossRef](#)]
31. Haan, J.D.; Van De Kreeke, J.A.; Van Berckel, B.N.; Barkhof, F.; Teunissen, C.E.; Scheltens, P.; Verbraak, F.D.; Bouwman, F.H. Is retinal vasculature a biomarker in amyloid proven Alzheimer's disease? *Alzheimer's Dement.* **2019**, *11*, 383–391. [[CrossRef](#)]
32. Vegeto, E.; Villa, A.; Della, T.S.; Crippa, V.; Rusmini, P.; Cristofani, R.; Galbiati, M.; Maggi, A.; Poletti, A. The Role of Sex and Sex Hormones in Neurodegenerative Diseases. *Endocr. Rev.* **2019**, *41*, 273–319. [[CrossRef](#)]
33. Seltzer, M.M.; Li, L.W. The dynamics of caregiving: Transitions during a three-year prospective study. *Gerontologist* **2000**, *40*, 165–178. [[CrossRef](#)]
34. Jefferson, A.L.; Lambe, S.; Chaisson, C.; Palmisano, J.; Horvath, K.J.; Karlawish, J. Clinical Research Participation among Aging Adults Enrolled in an Alzheimer's Disease Center Research Registry. *J. Alzheimer's Dis.* **2011**, *23*, 443–452. [[CrossRef](#)]
35. Frohman, E.M.; Dwyer, M.G.; Frohman, T.; Cox, J.L.; Salter, A.; Greenberg, B.M.; Hussein, S.; Conger, A.; Calabresi, P.; Balcer, L.J.; et al. Relationship of optic nerve and brain conventional and non-conventional MRI measures and retinal nerve fiber layer thickness, as assessed by OCT and GDx: A pilot study. *J. Neurol. Sci.* **2009**, *282*, 96–105. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. 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. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2015**, *60*, 162–167. [[CrossRef](#)]
37. Salobrar-García, E.; De Hoz, R.; Ramírez, A.I.; López-Cuenca, I.; Rojas, P.; Vazirani, R.; Amarante, C.; Yubero, R.; Gil, P.; Pinazo-Durán, M.D.; et al. Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0220535. [[CrossRef](#)]
38. Salobrar-García, E.; De Hoz, R.; Rojas, B.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; Yubero, R.; Gil, P.; Triviño, A.; Ramírez, J.M. Ophthalmologic Psychophysical Tests Support OCT Findings in Mild Alzheimer's Disease. *J. Ophthalmol.* **2015**, *2015*, 1–10. [[CrossRef](#)]
39. Shi, Z.; Zhu, Y.; Wang, M.; Wu, Y.; Cao, J.; Li, C.; Xie, Z.; Shen, Y. The Utilization of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness to Predict Cognitive Deterioration. *J. Alzheimer's Dis.* **2015**, *49*, 399–405. [[CrossRef](#)]
40. Shi, Z.; Wu, Y.; Wang, M.; Cao, J.; Feng, W.; Cheng, Y.; Li, C.; Shen, Y. Greater Attenuation of Retinal Nerve Fiber Layer Thickness in Alzheimer's Disease Patients. *J. Alzheimer's Dis.* **2014**, *40*, 277–283. [[CrossRef](#)]
41. Cunha, L.P.; Lopes, L.C.; Costa-Cunha, L.V.F.; Costa, C.F.; Pires, L.A.; Almeida, A.L.M.; Monteiro, M.L.R. 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*, e0153830. [[CrossRef](#)]
42. Salobrar-García, E.; Rojas, B.; Ramírez, A.I.; De Hoz, R.; Salazar, J.J.; Yubero, R.; Gil, P.; Triviño, A.; Ramírez, J.M. Macular Thickness as a Potential Biomarker of Mild Alzheimer's Disease. *Ophthalmology* **2014**, *121*, 1149–1151.e3. [[CrossRef](#)]
43. Yap, T.E.; Balendra, S.I.; Almonte, M.T.; Cordeiro, M.F. Retinal correlates of neurological disorders. *Ther. Adv. Chronic Dis.* **2019**, *10*. [[CrossRef](#)]
44. Ascaso, F.J.; Cruz, N.; Modrego, P.J.; Lopez-Anton, R.; Santabárbara, J.; Pascual, L.F.; Lobo, A.; Cristóbal, J.A. Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: An optical coherence tomography study. *J. Neurol.* **2014**, *261*, 1522–1530. [[CrossRef](#)]
45. Knoll, B.; Simonett, J.; Volpe, N.J.; Farsiu, S.; Ward, M.; Rademaker, A.; Weintraub, S.; Fawzi, A.A. Retinal nerve fiber layer thickness in amnesic mild cognitive impairment: Case-control study and meta-Analysis. *Alzheimer's Dement.* **2016**, *4*, 85–93. [[CrossRef](#)]

46. Garcia-Martin, E.; Bambo, M.P.; Marques, M.L.; Satue, M.; Otin, S.; Larrosa, J.M.; Polo, V.; Pablo, L. Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients with Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **2016**, *94*, e454–e459. [[CrossRef](#)]
47. Cheung, C.Y.; Ong, Y.T.; Hilal, S.; Ikram, M.K.; Low, S.; Venketasubramanian, N.; Yap, P.; Seow, D.; Chen, C.L.H.; Wong, T.Y.; 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*, 45–56. [[CrossRef](#)]
48. Beach, T.G.; Kuo, Y.-M.; Spiegel, K.; Emmerling, M.R.; Sue, L.I.; Kokjohn, K.; Roher, A.E. The Cholinergic Deficit Coincides with A β Deposition at the Earliest Histopathologic Stages of Alzheimer Disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **2000**, *59*, 308–313. [[CrossRef](#)]
49. Potter, P.E.; Rauschkolb, P.K.; Pandya, Y.; Sue, L.I.; Sabbagh, M.N.; Walker, U.G.; Beach, T.G. Pre- and post-synaptic cortical cholinergic deficits are proportional to amyloid plaque presence and density at preclinical stages of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* **2011**, *122*, 49–60. [[CrossRef](#)]
50. Jáñez-Escalada, L.; Jáñez-García, L.; Salobrar-García, E.; Santos-Mayo, A.; De Hoz, R.; Yubero, R.; Gil, P.; Ramírez, J.M. Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 13000–13014. [[CrossRef](#)]
51. Salobrar-García, E.; Ramírez, J.M.; De Hoz, R.; Rojas, P.; Salazar, J.J.; Yubero, R.; Gil, P.; Triviño, A.; Ramírez, J.M. The Impact of the Eye in Dementia: The Eye and its Role in Diagnosis and Follow-Up. In *Update on Dementia*; InTechopen: London, UK, 2016.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Article

Foveal Avascular Zone and Choroidal Thickness Are Decreased in Subjects with Hard Drusen and without High Genetic Risk of Developing Alzheimer’s Disease

Inés López-Cuenca ^{1,2,†}, Rosa de Hoz ^{1,2,3,†}, Celia Alcántara-Rey ¹, Elena Salobrar-García ^{1,2,3}, Lorena Elvira-Hurtado ¹, José A. Fernández-Albarral ¹, Ana Barabash ^{4,5}, Federico Ramírez-Toraño ^{6,7}, Jaisalmer de Frutos-Lucas ^{6,7,8,9}, Juan J. Salazar ^{1,2,3}, Ana I. Ramírez ^{1,2,3,*} and José M. Ramírez ^{1,2,10,*}

- ¹ Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo, Universidad Complutense de Madrid (UCM), IdISSC, 28040 Madrid, Spain; inelopez@ucm.es (I.L.-C.); rdehoz@med.ucm.es (R.d.H.); celiaalc@ucm.es (C.A.-R.); elenasalobrar@med.ucm.es (E.S.-G.); marelvir@ucm.es (L.E.-H.); joseaf08@ucm.es (J.A.F.-A.); jjsalazar@med.ucm.es (J.J.S.)
 - ² OFTARED—Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain
 - ³ Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Óptica y Optometría, Universidad Complutense de Madrid, 28037 Madrid, Spain
 - ⁴ Endocrinology and Nutrition Department, Instituto de Investigación Sanitaria, Hospital Clínico Universitario San Carlos, 28040 Madrid, Spain; ana.barabash@gmail.com
 - ⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red de Diabetes y Enfermedades Metabólicas Asociadas, Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain
 - ⁶ Laboratory of Cognitive and Computational Neuroscience, Center for Biomedical Technology, Technical University of Madrid, 28233 Madrid, Spain; federico.ramirez@ctb.upm.es (F.R.-T.); jaisamer.defrutos@ctb.upm.es (J.d.F.-L.)
 - ⁷ Department of Experimental Psychology, Universidad Complutense de Madrid, 28223 Madrid, Spain
 - ⁸ Centre for Precision Health, Edith Cowan University, Joondalup, WA 6027, Australia
 - ⁹ Departamento de Psicología, Facultad de Ciencias de la Vida y de la Naturaleza, Universidad Antonio de Nebrija, 28015 Madrid, Spain
 - ¹⁰ Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain
- * Correspondence: airamirez@med.ucm.es (A.I.R.); ramirez@med.ucm.es (J.M.R.)
 † These authors contributed equally to this work.



Citation: López-Cuenca, I.; de Hoz, R.; Alcántara-Rey, C.; Salobrar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Fernández-Albarral, J.A.; Barabash, A.; Ramírez-Toraño, F.; de Frutos-Lucas, J.; Salazar, J.J.; et al. Foveal Avascular Zone and Choroidal Thickness Are Decreased in Subjects with Hard Drusen and without High Genetic Risk of Developing Alzheimer’s Disease. *Biomedicines* **2021**, *9*, 638. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060638>

Academic Editor: Arnab Ghosh

Received: 6 May 2021
 Accepted: 1 June 2021
 Published: 2 June 2021

Publisher’s Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: A family history (FH+) of Alzheimer’s disease (AD) and $\epsilon 4$ allele of the ApoE gene are the main genetic risk factors for developing AD, whereas $\epsilon 4$ allele plays a protective role in age-related macular degeneration. Ocular vascular changes have been reported in both pathologies. We analyzed the choroidal thickness using optical coherence tomography (OCT) and the foveal avascular zone (FAZ) using OCT-angiography and compared the results with ApoE gene expression, AD FH+, and the presence or absence of hard drusen (HD) in 184 cognitively healthy subjects. Choroidal thickness was statistically significantly different in the (FH−, $\epsilon 4$ −, HD+) group compared with (i) both the (FH−, $\epsilon 4$ −, HD−) and the (FH+, $\epsilon 4$ +, HD+) groups in the superior and inferior points at 1500 μm , and (ii) the (FH+, $\epsilon 4$ −, HD+) group in the superior point at 1500 μm . There were statistically significant differences in the superficial FAZ between the (FH+, $\epsilon 4$ −, HD+) group and (i) the (FH+, $\epsilon 4$ −, HD−) group and (ii) the (FH+, $\epsilon 4$ +, HD−) group. In conclusion, ocular vascular changes are not yet evident in participants with a genetic risk of developing AD.

Keywords: Alzheimer’s; family history; ApoE $\epsilon 4$; AMD; choroid; foveal avascular zone; hard drusen; retina; OCT; OCTA

1. Introduction

Alzheimer’s disease (AD) is the most common cause of dementia, responsible for 60–70% of cases [1]. This neurodegenerative disease is characterized by a continuous and irreversible pathological process that begins 15–20 years before the onset of clinical

symptoms [2]. The main pathological features are the hyperphosphorylation of the Tau protein and deposition of amyloid β -protein ($A\beta$) [3], which aggregates in the cerebral vessel walls [4], leading to cerebral amyloid angiopathy (CAA) [5]. These vascular amyloid deposits primarily consist of $A\beta_{1-40}$ and $A\beta_{1-42}$ [6], but *N*-terminal-truncated forms of $A\beta$ and other proteins such as Apolipoprotein E (ApoE) and the α 2-macroglobulin receptor/LDL receptor-related protein are also found in these deposits [7,8]. Reduced blood and lymphatic flow [9], the impairment of the gliovascular unit [10], and alterations in both vessel diameter and peripheral immune cell accessibility [11] can result in cerebral vascular deposits and lead to a series of events that result in neurodegeneration [12]. About 85% of AD patients exhibit CAA [13], and it has been reported to be an early and fundamental contributor to the development of the disease and a reliable predictor of cognitive decline [14].

There are similarities between cerebral and retinal vessels [15], and the vascular changes that occur in AD share common pathogenic mechanisms in both tissues [15–17]. For this reason, the retinal vascular changes observed in AD can be used to monitor alterations caused by this pathology in the central nervous system. Ocular vascularization has the particularity of being supplied by two different systems, which differ in their regulatory mechanisms and perfusion pressure [18]. While the inner retina is nourished by blood vessels derived from the central retinal artery (CRA), the outer retina is supplied by the choriocapillaris of the choroid [18].

Genetic factors play a critical role in the development of late-onset AD. Two of the most important risk factors are (i) having a first-degree family history of the disease [19] and (ii) being a carrier of at least one ϵ 4 allele of ApoE [20]. Children of parents with AD have a six-fold greater risk of developing the disease compared with those without a family history [21].

ApoE is a multi-function protein; it is polymorphic and has three isoforms (ϵ 2, ϵ 3, and ϵ 4). This protein is highly expressed in the liver, brain, and retina [22,23], where the retinal pigmented epithelium (RPE)/choroid complex has significant levels of ApoE mRNA [23]. The ϵ 2, ϵ 3, and ϵ 4 isoforms exhibit differences in lipid binding and confer genetic risks for several diseases of aging, including atherosclerosis, AD, and age-related macular degeneration (AMD) [24]. A single ϵ 4 allele increases the risk of developing AD [20], whereas it is associated with a protective effect against AMD [25]. In AD, the ϵ 4 allele alters the way that neurons process the amyloid precursor protein (APP) through a cholesterol-mediated pathway [24]. Carriers of two copies of ApoE ϵ 4 have shown reduced C-reactive protein (CRP) levels compared with non-carriers, suggesting that the ApoE isoform plays a mediating role in the inflammatory response involved in AMD etiology [26].

In addition, the role of ϵ 2, which is protective against AD [20], has been extensively studied in AMD [24,25]. It is associated with a slightly increased risk of developing late AMD, and female ϵ 2 carriers have a higher risk of progression compared with female ϵ 3 carriers [27].

AMD is a degenerative disorder of the central retina. This pathology has a higher prevalence in patients over 65 years of age and is the main cause of blindness in this age group [28]. In early stages, the pathological changes are characterized by the presence of drusen and changes in the RPE. Drusen are focal deposits composed mainly of extracellular matrix deposits and inflammatory components located between the basal lamina of the RPE and the inner collagenous layer of Bruch's membrane. The formation of these deposits is due to the continuous phagocytosis and deposition of photoreceptor outer segment components, resulting in an imbalance between the production and clearance of lipid material [29]. AD and AMD share environmental risk factors and histopathological features, particularly the deposition of $A\beta$ in ocular drusen and in senile brain plaques [30]. Analysis of the eyes of aging individuals with AMD by electron microscopy revealed that the basement membranes of retinal capillaries were considerably thicker compared with those of younger individuals. In addition, advanced cases of AMD were associated with a higher

proportion of acellular capillaries, which were non-functional, predisposing these patients to ischemia in the inner retina [31]. Changes in the choroid and choroidal microcirculation have been reported in AD [32–34] and play an important role in the pathogenesis of AMD [35].

The aim of the present study was to analyze differences in choroidal thickness and the retinal foveal avascular zone (FAZ) and assess whether the findings were associated with ApoE gene expression, AD family history, and the presence or absence of hard drusen in cognitively healthy subjects.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

This study is part of the project “The cognitive and neurophysiological characteristics of subjects at high risk of developing dementia: a multidimensional approach” (COGDEM study) conducted by the Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmic Research (IIORC) of the Complutense University of Madrid (UCM), the Centre for Biomedical Technology (CBT), and the Hospital Clínico San Carlos (HCSC), Madrid, among others. All participants provided written informed consent, and the research followed the tenets of the declaration of Helsinki. This study was approved by the local Ethics Committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS.

The inclusion of patients is summarized in Figure 1. We analyzed two major groups:

- Group 1 is a control group, which consisted of middle-aged subjects without a first-degree family history of AD (FH−).
- Group 2 comprises subjects with a family history of AD (FH+). Subjects were middle-aged with at least one parent with sporadic AD. To verify the AD diagnoses of parents, a review of their medical records was conducted by a multidisciplinary diagnostic consensus panel. Only diagnoses that were made under internationally accepted criteria were included. Because autopsies were not performed in most AD patients, postmortem reports were welcome but were not used as the basis of inclusion. Relatives with known autosomal dominant mutations (i.e., preseniline-1 or 2) were not included.

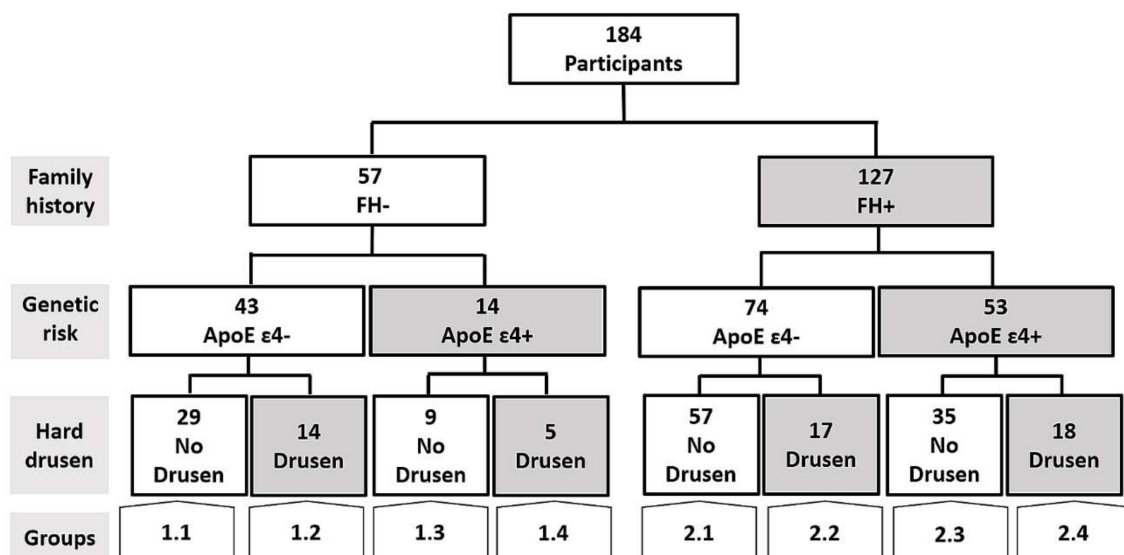


Figure 1. Flow diagram of the patients included in the present work. FH+: subjects with a family history of Alzheimer’s disease (AD); FH−: Subjects without a family history of AD.

Both groups were matched in terms of age, socioeconomic status, and other demographic characteristics and had no history of neurological or psychiatric disorders or serious

medical conditions. Both groups had normal scores on the Mini-Mental State Examination (MMSE) (above 26) and normal MRIs, with no evidence of brain lesions or pathology.

The two main groups were each subdivided into four subgroups. First, carriers and non-carriers of ApoE $\epsilon 4$ were assigned to different groups, which were then subdivided into groups with and without hard drusen in the retina.

The groups are represented as follows:

- 1.1. FH−; ApoE $\epsilon 4$ −; No Drusen (FH−, $\epsilon 4$ −, HD−).
- 1.2. FH−; ApoE $\epsilon 4$ −; Drusen (FH−, $\epsilon 4$ −, HD+).
- 1.3. FH−; ApoE $\epsilon 4$ +; No Drusen (FH−, $\epsilon 4$ +, HD−).
- 1.4. FH−; ApoE $\epsilon 4$ +; Drusen (FH−, $\epsilon 4$ +, HD+).
- 2.1. FH+; ApoE $\epsilon 4$ −; No Drusen (FH+, $\epsilon 4$ −, HD−).
- 2.2. FH+; ApoE $\epsilon 4$ −; Drusen (FH+, $\epsilon 4$ −, HD+).
- 2.3. FH+; ApoE $\epsilon 4$ +; No Drusen (FH+, $\epsilon 4$ +, HD−).
- 2.4. FH+; ApoE $\epsilon 4$ +; Drusen (FH+, $\epsilon 4$ +, HD+).

2.2. Subjects

In this prospective study, we included participants from COGDEM's Database, which consists of 251 subjects. The participants had to be free of ophthalmological pathology, which we confirmed through phone screening.

The participants were examined in the clinic of IIORC. The phone screening questions, visual exams, and inclusion criteria are described in Table 1.

Table 1. Ophthalmological evaluation of COGDEM participants.

Ophthalmological Evaluation		
Screening Questions	Visual Exam	Inclusion Criteria
Do you use glasses? Yes/no		±5 Spherocylindrical refractive
Do you know if you have myopia, hypermetropia, or astigmatism? Yes/no	Refraction	>0.5 dec
Do you know your diopter measurements? Yes/no	Visual acuity	<21 mmHg
Do you have any ocular pathologies? Yes/no	Biomicroscopy	Free of ocular disease
Do you receive any type of ocular treatment? Yes/no	Intraocular pressure	Free of congenital malformation
Have you undergone any type of ocular surgery? Yes/no	OCT/OCTA	Free of known or suspected glaucoma

OCT: optical coherence tomography; OCTA: OCT angiography; dec: decimal scale.

We included 57 and 127 participants with and without a family history of AD, respectively. In addition, we classified participants on the basis of whether they carried the ApoE $\epsilon 4$ allele and whether they had hard drusen.

Figure 1 shows a flow diagram that illustrates the different study groups included in the present work.

2.3. ApoE Genotyping

Genomic DNA was extracted from whole blood in EDTA using standard DNA isolation methods (DNAzol[®]; Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA) from FH+ and FH− subjects. Two single-nucleotide polymorphisms (SNPs), rs7412 and rs429358, were genotyped using TaqMan Genotyping Assays on an Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR instrument (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). APOE haplotypes were accordingly established. Sample controls for each genotype and negative sample controls were included in each assay. Several intra- and interplate duplicates of DNA samples were included.

2.4. Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (OCT) Imaging: Choroidal Thickness and FAZ Measurement

The choroidal thickness and the foveal avascular zone (FAZ) were measured by OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). High-quality scans were

defined by a minimum signal-to-noise ratio of 25 and an average of 16 B-scans. The choroidal thickness was delimited manually and perpendicularly to the retina by the same examiner using the measurement function in Heidelberg software (Heidelberg, Germany, version 1.10.4.0). The choroidal thickness was measured from the outer hyper-reflective line to the sclerochoroidal interface of the RPE. These measurements were made in the subfoveal choroid and superior, inferior, nasal, and temporal sectors at 500, 1000, and 1500 μm from the center of the fovea (Figure 2A,B).

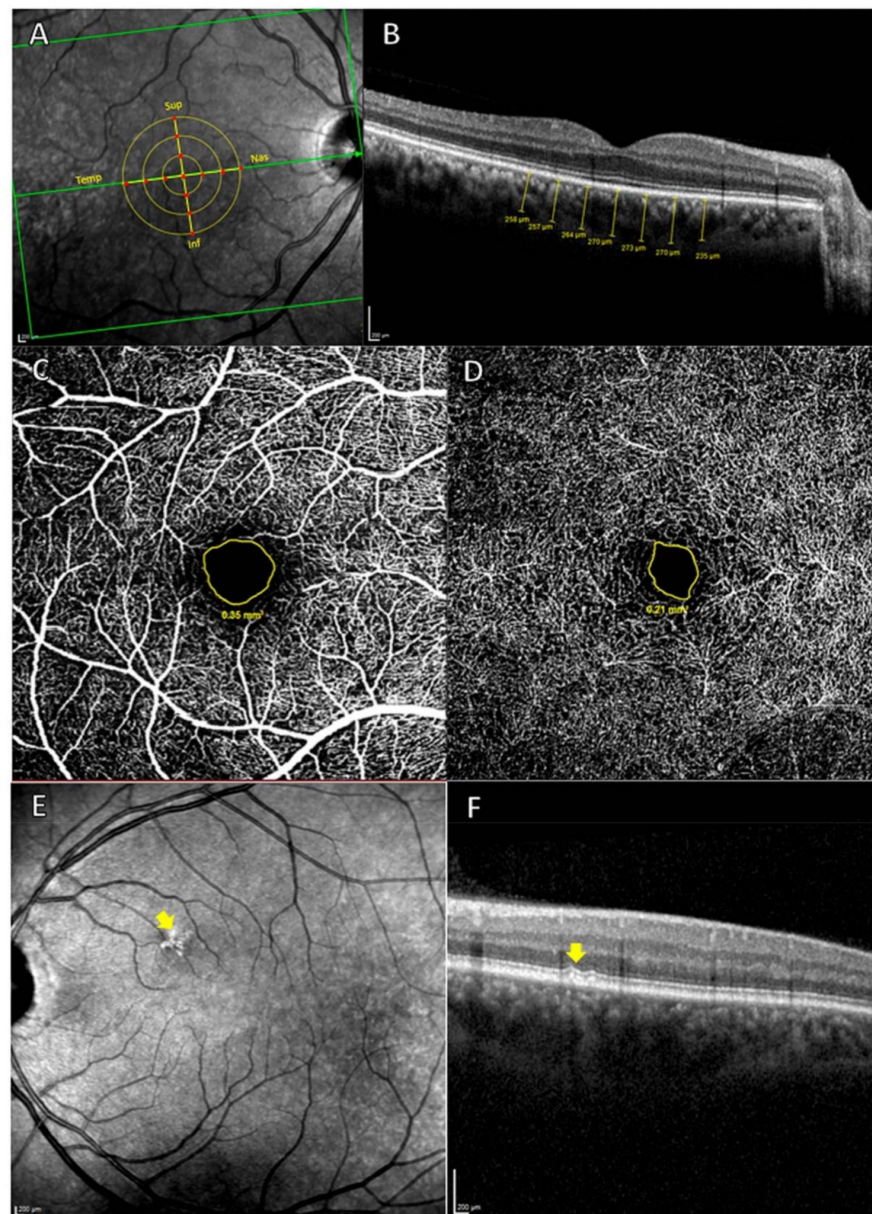


Figure 2. (A,B) measurement of the choroidal thickness. (A) Retinal zone analyzed. The 13 red points indicate where the choroidal thickness measurements were carried out. Sup: superior; Nas: Nasal; Inf: Inferior; Temp: Temporal. (B) Choroidal thickness measurements (μm). (C,D), measurement of FAZ. (C) OCTA of superficial vascular plexus, with the avascular area outlined in yellow. (D) OCTA of deep vascular plexus, with the avascular area outlined in yellow and, (E) and (F), hard drusen analysis by OCT. (E) The yellow arrow shows hyper-reflective shapes in the HRA fundus image. (F) Cross-Sectional OCT. The yellow arrow indicates hard drusen localized between the basal lamina of the RPE and the inner collagen layer of Bruch's membrane.

The Spectralis OCT angiography (OCTA) module was used to measure the superficial and deep FAZ. The avascular area of each plexus was delimited manually with the area measurement tool in Heidelberg software (Figure 2C,D).

Hard drusen were identified as hyper-reflective shapes on high-reflectance acquisition (HRA) fundus images and as hyper-reflective material located between the basal lamina of the RPE and the inner collagen layer of Bruch's membrane on cross-sectional OCT scans (Figure 2E,F). All OCT scans were analyzed by the same ophthalmologist who determined the type of deposit.

Both the measurements that were performed manually and the classification of the deposits were carried out blindly to avoid the possibility that the information from the participants could influence the measurements carried out by the professionals.

2.5. Statistical Analysis

SPSS 25.0 (SPSS Inc., Inc., Chicago, IL, USA) was used to perform the statistical analysis. The differences between study groups were analyzed using the Mann–Whitney test. Data are reported as the median (interquartile range). The chi-square test was used for the analysis of qualitative variables. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Demographic Data

Eight study groups were included in this work. The demographic data are shown in Table 2.

Table 2. Demographic data on the participants in the different study groups.

Demographic/ MMSE Data	FH−				FH+			
	ApoE ε4−		ApoE ε4+		ApoE ε4−		ApoE ε4+	
	No HD	HD	No HD	HD	No HD	HD	No HD	HD
	Group 1.1	Group 1.2	Group 1.3	Group 1.4	Group 2.1	Group 2.2	Group 2.3	Group 2.4
N	29	14	9	5	57	17	35	18
Age	59.0 (54.0–65.0)	62.5 (56.0–69.0)	63.0 (54.0–70.0)	63.0 (58.0–76.5)	58.0 (53.0–62.0)	63.0 (56.5–68.5)	57.0 (57.0–65.0)	55.5 (51.0–63.0)
Sex Male/Female	12/17	6/8	3/6	0/5	22/35	6/11	11/24	9/9
MMSE	29.0 (28.0–29.0)	29.0 (29.0–29.0)	29.0 (28.0–30.0)	29.0 (29.0–30.0)	29.0 (28.5–29.0)	29.0 (28.0–29.0)	29.0 (29.0–29.0)	29.0 (28.0–30.0)

Median (interquartile range); FH+, subjects with a family history of Alzheimer's disease (AD); FH−, subjects without a family history of AD; ApoE, Apolipoprotein E.

Groups 1.1, 1.2, 1.3, and 1.4 consisted of individuals without a family history of AD. Group 1.1 (FH−, ε4−, HD−) was formed by 29 subjects (12 males) with a mean age of 59.0 (54.0–65.0) and mean MMSE score of 29.0 (28.0–29.0). Group 1.2 (FH−, ε4−, HD+) was formed by 14 participants (6 males) with a mean age of 62.5 (56.0–69.0) and mean MMSE score of 29.0 (29.0–29.0). Group 1.3 (FH−, ε4+, HD−) had 9 subjects (3 males) with a mean age of 63.0 (54.0–70.0) and mean MMSE score of 29.0 (28.0–30.0), and Group 1.4 (FH−, ε4+, HD+) had 5 participants (0 males) with a mean age of 63.0 (58.0–76.5) and mean MMSE score of 29.0 (29.0–30.0).

Groups 2.1, 2.2, 2.3, and 2.4 included individuals with a family history of AD. Group 2.1 (FH+, ε4−, HD−) comprised 57 participants (22 males) with a mean age of 58.0 (53.0–62.0) and mean MMSE of 29.0 (28.5–29.0). Group 2.2 (FH+, ε4−, HD+) had 17 subjects (6 males) with a mean age of 63.0 (56.5–68.5) and mean MMSE score of 29.0 (28.0–29.0). Group 2.3 (FH+, ε4+, HD−) included 35 subjects (11 males) with a mean age of 57.0 (57.0–65.0) and mean MMSE score of 29.0 (29.0–29.0), and Group 2.4 (FH+, ε4+, HD+) had 18 subjects (9 males) with a mean age of 55.5 (51.0–63.0) and mean MMSE score of 29.0 (28.0–30.0).

3.2. Choroidal Thickness

The choroidal thickness of Group 1.2 (FH−, ε4−, HD+) was statistically different ($p < 0.05$) from that of (i) Group 1.1 (FH−, ε4−, HD−) in the superior and inferior points at 1500 μm, (ii) Group 2.2 (FH+, ε4−, HD+) in the superior point at 1500 μm, and (iii) Group 2.4 (FH+, ε4+, HD+) in the superior and inferior points at 1500 μm (Tables 3 and 4).

Table 3. Median and interquartile range of the FAZ and choroidal thickness in the study groups.

Vascular Areas Analyzed		FH−				FH+			
		ApoE ε4−		ApoE ε4+		ApoE ε4−		ApoE ε4+	
		No HD	HD	No HD	HD	No HD	HD	No HD	HD
		Group 1.1	Group 1.2	Group 1.3	Group 1.4	Group 2.1	Group 2.2	Group 2.3	Group 2.4
FAZ	Superficial	0.47 (0.39–0.62)	0.45 (0.42–0.68)	0.47(0.37–0.84)	0.47 (0.37–0.82)	0.51 (0.39–0.62)	0.67 (0.62–0.80)	0.54 (0.44–0.68)	0.59 (0.43–0.83)
	Deep	0.23 (0.18–0.31)	0.22 (0.16–0.34)	0.24 (0.2–0.359)	0.23 (0.12–0.34)	0.26 (0.39–0.33)	0.29 (0.24–0.38)	0.28 (0.23–0.33)	0.29 (0.21–0.41)
Subfoveal		268.0 (213.5–307.5)	249.5 (176.8–268.0)	257.0 (234.0–318.0)	252.5 (164.5–279.8)	273.0 (231.0–309.5)	255.0 (215.5–287.0)	263.0 (212.0–302.0)	241.0 (224.5–296.5)
500 μm		260.0 (210.5–325.0)	234.0 (159.8–259.0)	266.0 (231.5–316.0)	256.5 (173.3–296.3)	263.0 (220.5–302.0)	252.0 (199.5–292.0)	256.0 (228.0–295.0)	252.0 (222.8–297.3)
1000 μm		248.0 (207.5–316.0)	219.5 (161.8–267.50)	276.0 (202.5–300.0)	256.5 (176.5–310.3)	263.0 (218.5–288.5)	248.0 (195.5–292.0)	253.0 (219.0–287.0)	247.5 (217.5–282.0)
1500 μm		232.0 (202.0–296.0)	222.5 (157.5–255.3)	254.0 (186.5–343.0)	255.0 (189.8–292.5)	255.0 (216.0–288.5)	251.0 (202.5–282.0)	250.0 (215.0–280.0)	265.0 (214.5–291.0)
500 μm		261.0 (204.5–313.5)	230.5 (177.0–252.5)	238.0 (228.0–302.5)	256.5 (180.3–292.3)	267.0 (220.5–295.0)	234.0 (198.5–285.5)	249.0 (199.0–297.0)	244.0 (224.0–286.2)
1000 μm		233.0 (195.5–303.5)	206.0 (150.8–282.0)	223.0 (204.5–291.5)	257.0 (173.3–295.8)	255.0 (190.5–299.0)	225.0 (191.0–274.5)	240.0 (182.0–281.0)	248.5 (198.8–268.0)
1500 μm		221 (175.50–278.5)	182.5 (140.5–269.3)	217.0 (171.0–278.0)	271.0 (134.0–300.0)	228.0 (183.5–274.5)	205.0 (170.5–242.0)	218.0 (174.0–265.0)	252.0 (179.8–263.0)
500 μm		262.0 (218.0–301.0)	222.0 (170.8–273.5)	260.0 (228.5–311.5)	265.5 (182.8–292.8)	265.0 (228.0–299–0)	262.0 (219.5–282.5)	257.0 (209.0–309.0)	252.5 (222.0–284.0)
1000 μm		255.0 (218.5–297.0)	227.0 (170.8–263.8)	256.0 (227.5–308.5)	272.5 (180.8–281.8)	271.0 (228.5–302.0)	259.0 (217.5–289.0)	267.0 (223.0–299.0)	252.5 (234.3–288.0)
1500 μm		259.0 (209.5–306.5)	223.0 (147.0–253.3)	250.0 (225.5–319.0)	269.0 (174.0–298.0)	261.0 (224.5–305.5)	261.0 (206.0–286.0)	262.0 (226.0–300.0)	257.5 (233.3–290.3)
500 μm		262.0 (209.5–311.5)	222.5 (172.8–274.3)	256.0 (222.0–308.5)	272.0 (179.5–284.3)	270.0 (231.5–304.0)	252.0 (208.5–276.5)	265.0 (216.0–310.0)	251.5 (216.3–301.3)
1000 μm		266.0 (217.0–306.5)	219.0 (165.0–270.8)	267.0 (229.5–308.5)	267.5 (171.0–296.5)	271.0 (227.5–295.5)	252.0 (211.5–268.0)	270.0 (216.0–322.0)	243.0 (219.8–287.3)
1500 μm		264.0 (213.5–312.0)	217.0 (169.0–257.25)	262.0 (218.5–300.5)	271.5 (183.0–276.0)	268.0 (224.0–304.0)	257.0 (211.0–266.5)	250.0 (214.0–317.0)	269.0 (216.0–309.5)

Median (interquartile range); FH+, subjects with a family history of Alzheimer's disease (AD); FH, subjects without a family history of AD; HD, hard drusen; ApoE, Apolipoprotein E; FAZ, Foveal avascular zone.

Table 4. Significant *p*–values for differences between groups in the FAZ and choroidal thickness. *p*–values are in parentheses.

Study Groups		FH–				FH+			
		ApoE ε4–		ApoE ε4+		ApoE ε4–		ApoE ε4+	
		No HD	HD	No HD	HD	No HD	HD	No HD	HD
		Group 1.1	Group 1.2	Group 1.3	Group 1.4	Group 2.1	Group 2.2	Group 2.3	Group 2.4
FH–	ApoE ε4–	No HD	1.1	Choroid: Sup 1500 (0.030), Inf 1500 (0.028)					
		HD	1.2			Choroid: Sup 1500 (0.039)		Choroid: Sup 1500 (0.019), Inf 1500 (0.040)	
	ApoE ε4+	No HD	1.3						
		HD	1.4						
FH+	ApoE ε4–	No HD	2.1			Superficial FAZ (<0.001)			
		HD	2.2				Superficial FAZ (0.013)		
	ApoE ε4+	No HD	2.3						
		HD	2.4						

p–values are in parentheses. FH+, subjects with a family history of Alzheimer’s disease (AD); FH–, subjects without a family history of AD; HD, hard drusen; ApoE, Apolipoprotein E; FAZ, Foveal avascular zone.

3.3. Foveal Avascular Zone (FAZ)

There were statistically significant differences in the superficial FAZ between Group 2.1 (FH+, ε4–, HD–) (0.51 (0.39–0.62)) and Group 2.2 (FH+, ε4–, HD+) (0.67 (0.62–0.80)) (Tables 3 and 4). In addition, there were significant differences (*p* < 0.05) in the superficial FAZ between Group 2.2 (FH+, ε4–, HD+) (0.67 (0.62–0.80)) and Group 2.3 (FH+, ε4+, HD–) (0.54 (0.44–0.68)) (Tables 3 and 4).

4. Discussion

The present study demonstrates that ocular vascular changes are not yet evident in participants with a genetic risk of developing AD, while in participants without genetic risk for developing AD who have HD, changes in choroidal thickness are presented. In addition, superficial FAZ also showed small changes between the (FH+, ε4–, HD+) group and the (FH+, ε4–, HD–) and the (FH+, ε4+, HD–) groups.

Changes in the retinal vasculature have been identified as potential biomarkers of AD [36–38]. One of the most important ocular vascular layers is the choroid, whose flow is supplied by the posterior ciliary arteries, which are branches of the ophthalmic artery [39]. The choroid has one of the highest blood flows of any tissue in the body, and its primary function is to provide nutrients and oxygen to the outer retina, including the RPE and photoreceptors [40,41]. The choroidal circulation is controlled mainly by autonomic and sensory innervation and not by a self-regulatory mechanism [39,42]. Nerve fibers that

regulate choroidal vascularization are predominantly located in the submacular region, where most NPY+ and TH+ ganglion cells are also concentrated [43]. This neuronal distribution in the submacular region suggests the possibility that vascular conditions of certain eye diseases, such as diabetic macular edema or AMD, may be related to the dysfunction of these cells [44]. Some authors have correlated AD with AMD, so it is not surprising that choroidal vascular changes appear before retinal changes in AD [30].

A decrease in choroidal thickness has been reported in patients with AD compared with healthy older subjects [15,33,34,45–49]. These changes have also been observed in early stages of the disease [32], including in patients with preclinical and prodromal AD [49] and those with mild cognitive impairment (MCI) [41]. Choroidal thinning may indicate abnormal choroidal blood supply associated with hypoperfusion or atrophic changes related to various pathological events, with cerebral A β accumulation being the main trigger [33]. Capillary occlusion detected in imaging studies provides a possible explanation for hypoperfusion in AD brains [50,51].

In the present study, no differences were observed between groups with a high genetic risk of developing AD (subjects with a family history and carriers of ApoE ϵ 4) and control groups (participants without a family history and non-carriers of ApoE ϵ 4). One possible explanation is that our participants are cognitively healthy people, and it is unknown whether they will develop the disease in the future. Although genetic factors play an important role in determining a person's risk of developing the disease [52], there are other contributing factors, such as the influence of the environment or modifiable risk factors, including physical activity, diet, and alcohol consumption, all of which can modify the course or even the onset of the disease [53].

The statistically significant differences found in our study are in groups that have hard drusen. In addition, the thinnest choroids correspond to subjects who have no family history of the disease and are non-carriers of ApoE ϵ 4 (Group 1.2; FH–, ϵ 4–, HD+). ApoE ϵ 4 is known to be a protective factor for AMD, and the risk of late (end-stage) AMD in individuals of Caucasian descent is 20–50% lower than that of carriers of the ϵ 3 allele [54,55], while the ϵ 2 allele is associated with increased disease progression in women [27]. However, the association between ApoE ϵ 4 and protection is stronger than that between ϵ 2 and risk [25].

The allelic variants of the ApoE gene represent one of the most important genetic risk factors for developing AMD [55]. ApoE plays a role in cell-membrane remodeling and is essential for the normal function and maintenance of the retina [54]. Lipid transport across Bruch's membrane is easier in carriers of the ϵ 4 allele compared with ϵ 2 and ϵ 3 allele carriers. The positive charges in proteins coded by ϵ 4 alleles account for their improved ability to clear debris because they interact with the hydrophobic barrier generated by the accumulation of neutral lipids [56].

The formation of drusen is not random but is influenced by the anatomy of the choroid, and the mechanisms leading to the formation of these deposits in intercapillary areas or areas devoid of capillary lumens are unknown [57]. Drusen are associated with decreased choriocapillaris density and decreased choroid flow [57–59]. Similarly, reduced blood flow to the choriocapillaris can lead to dysfunction of the RPE, promoting further accumulation of debris in the form of drusen or basal lamellar deposits [58]. In early AMD, choroidal thickness already tends to be thinner than in normal eyes [60]. The exact cause of this thinning is unknown; it may be a response to choroidal atrophy or hypoxia, or it may be a secondary response to the accumulation of deposits or damage to the RPE [60].

Numerous studies with different imaging techniques have shown choroidal changes in AMD, but no consensus has been reached. Previous studies with fluorescein angiography have reported abnormalities in choroidal perfusion, such as decreased blood flow, increased fluorescein blockage [61,62], and areas of delayed choroidal perfusion, which were associated with decreased visual function [63]. In another study, slow choroidal filling on fluorescein angiography was reported to be a significant risk factor for developing geographic RPE atrophy, suggesting the importance of ischemia in this etiology [64]. In

addition, in another study in subjects with dry AMD, an increase in arterial filling time was found, suggesting a decrease in choroidal blood flow [65].

In a recent study using color Doppler imaging, AMD patients showed decreased blood velocity and increased pulsatility in the central retinal artery and posterior short ciliary arteries [66]. In other neurodegenerative diseases, such as AD or previous stages such as MCI, the accumulation of vascular deposits in the retina ($A\beta_{40}$ and $A\beta_{42}$) is also associated with vascular changes [67]. The accumulation of $A\beta$ was shown to reduce the expression of LDL receptor-related protein-1 (LRP1), leading to a decrease in the expression of vascular platelet-derived growth factor receptor- β (PDGFR β) and an increase in pericyte death by apoptosis [12]. Brain pericytes and vascular smooth muscle cells are critical in regulating blood flow and the integrity of the blood–brain barrier [68]. Because of its similarity to the blood-retinal barrier, damage at this level is implicated in pathologies such as AMD and diabetic retinopathy [12]. Although drusen are one of the first signs to appear in AMD, the subjects in our study do not have AMD, so we cannot claim that the changes in choroidal thickness are comparable to those found in patients with AMD. The vascular changes in the choroid in our patients may be a very early sign secondary to altered blood flow.

On the other hand, retinal circulation is characterized by low blood flow, high perfusion pressure [39], and three distinct structures: radial peripapillary capillaries, superficial vascular, and deep vascular plexus [15]. In the foveal zone, in both the deep and superficial plexus, there is a capillary-free zone called the FAZ [69]. The enlargement of the FAZ is a sign of ischemia and is detected in cases of diabetic retinopathy and macular vein branch occlusion [70]. This parameter has received interest as a biomarker for the monitoring and follow-up of pathologies such as AD [15]. For this reason, the FAZ has been studied at different stages of the disease using OCTA.

In our study, among the participants without drusen, we found no statistically significant differences between those with a high genetic risk of AD (group 2.3) and those without a genetic risk of AD (group 1.1). Our results are similar to those of a previous study in preclinical AD, in which no differences in the FAZ were found between $A\beta+$ patients and controls ($A\beta-$), who had lower vascular density [71]. However, in a previous study, the FAZ of cognitively healthy individuals who had preclinical AD and positive biomarkers for AD, such as PET scanning for PiB or ^{18}F -AV-45 and $A\beta_{42+}$ levels in the cerebrospinal fluid (CSF), was increased in comparison with participants without these biomarkers. However, information about the family histories of the participants and results of genetic testing (ApoE $\epsilon 4$ status) were not collected [72]. In our analysis of the FAZ, the only statistically significant differences were in the superficial FAZ in Group 2.2 (FH+, $\epsilon 4-$, HD+) in comparison with both Groups 2.1 (FH+, $\epsilon 4-$, HD-) and 2.3 (FH+, $\epsilon 4+$, HD-). These changes are consistent with those found in studies of patients with MCI, who showed a decrease in vascular density and, therefore, an increase in the FAZ area [38,73,74]. In a recent study in patients with MCI, an increased deep FAZ was observed compared with controls. The same study analyzed the influence of ApoE $\epsilon 4$ on vascularization in people with and without MCI and found no significant differences [75].

The results obtained in FAZ analyses in AD patients are quite diverse. Some studies have found no statistically significant differences between the FAZ of AD patients and healthy controls [32,76]. However, others have found differences in both the superficial [15,77] and deep FAZ [78] compared with controls. An increased FAZ is attributed to reduced angiogenesis, a consequence of decreased vascular endothelial growth factor (VEGF), which binds to $A\beta$ protein plaques [15], as well as the competitive binding of $A\beta$ to the VEGF-2 receptor [79,80].

These discrepancies in the results of different studies may be explained by the degree of cognitive impairment of the participants. However, our participants were cognitively healthy, so the increased area of the superficial FAZ could reflect compromised blood perfusion, which may trigger the deposition of drusenoid material.

One of the strengths of this study is the strict selection of participants. Only young, cognitively healthy participants with a family history of Alzheimer's disease were included

in the study. Another strength is the knowledge of the genetic characterization of the subjects. However, among the main limitations of the study are the small sample size in some of the study groups (there are groups with only 9 and 5 participants) and its retrospective character. Longitudinal studies will be necessary to know the evolution of all participants.

5. Conclusions

In conclusion, in this study, ocular vascular changes are not yet evident in healthy cognitive participants at high genetic risk of developing AD. The statistically significant differences in our study are in subjects who have hard drusen who should be evaluated periodically. In addition, the thinnest choroids correspond to subjects who have no family history of AD and are non-carriers of ApoE ϵ 4.

Author Contributions: Conceptualization, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; data curation, I.L.-C., C.A.-R., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A., A.B., F.R.-T. and J.d.F.-L.; formal analysis, I.L.-C., R.d.H., C.A.-R., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A., F.R.-T. and J.d.F.-L.; funding acquisition, R.d.H., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; investigation, I.L.-C., R.d.H., C.A.-R., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A. and J.M.R.; methodology, I.L.-C., E.S.-G., L.E.-H., A.B., F.R.-T., J.d.F.-L. and A.I.R.; project administration, R.d.H., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; resources, R.d.H.; supervision, R.d.H., J.J.S. and J.M.R.; validation, I.L.-C., E.S.-G., A.B., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; visualization, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., J.A.F.-A., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; writing—original draft, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., A.I.R. and J.M.R.; writing—review and editing, I.L.-C., R.d.H., C.A.-R., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A., A.B., F.R.-T., J.d.F.-L., J.J.S., A.I.R. and J.M.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ophthalmological Network OFTARED (RD16/0008/0005) of the Institute of Health of Carlos III of the Spanish Ministry of Science and Innovation; the Research Network RETIBRAIN (RED2018-102499-T) of the Spanish Ministry of Science and Innovation; and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Grant PSI2015-68793-C3-1-R). I.L.-C. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT42/18-CT43/18) from the Complutense University of Madrid. J.A.F.-A. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (FPU17/01023) from the Spanish Ministry of Science, Innovation, and Universities. The sponsor or funding organization had no role in the design or conduct of this research. Approval date: 17 December 2018.

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the local ethics committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS (accepted 17 December 2018).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Savva, G.M.; Wharton, S.B.; Ince, P.G.; Forster, G.; Matthews, F.E.; Brayne, C. Age, Neuropathology, and Dementia. *N. Engl. J. Med.* **2009**, *360*, 2302–2309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Sperling, R.A.; Aisen, P.S.; Beckett, L.A.; Bennett, D.A.; Craft, S.; Fagan, A.M.; Iwatsubo, T.; Jack, C.R.; Kaye, J.; Montine, T.J.; 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*, 280–292. [[CrossRef](#)]
3. Perl, D.P. Neuropathology of Alzheimer's Disease. *Mt. Sinai J. Med. A J. Transl. Pers. Med.* **2010**, *77*, 32–42. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Glenner, G.G.; Wong, C.W. Alzheimer's disease: Initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1984**, *120*, 885–890. [[CrossRef](#)]
5. Thal, D.R.; Griffin, W.S.T.; de Vos, R.A.I.; Ghebremedhin, E. Cerebral amyloid angiopathy and its relationship to Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol.* **2008**, *115*, 599–609. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Roher, A.E.; Lowenson, J.D.; Clarke, S.; Woods, A.S.; Cotter, R.J.; Gowing, E.; Ball, M.J. β -amyloid-(1-42) is a major component of cerebrovascular amyloid deposits: Implications for the pathology of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, *90*, 10836–10840. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]








7. Namba, Y.; Tomonaga, M.; Kawasaki, H.; Otomo, E.; Ikeda, K. Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res.* **1991**, *541*, 163–166. [[CrossRef](#)]
8. Tekirian, T.L.; Saido, T.C.; Markesbery, W.R.; Russell, M.J.; Wekstein, D.R.; Patel, E.; Geddes, J.W. N-terminal heterogeneity of parenchymal and cerebrovascular A β deposits. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **1998**, *57*, 76–94. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Louveau, A.; Plog, B.A.; Antila, S.; Alitalo, K.; Nedergaard, M.; Kipnis, J. Understanding the functions and relationships of the glymphatic system and meningeal lymphatics. *J. Clin. Investig.* **2017**, *127*, 3210–3219. [[CrossRef](#)]
10. Kimbrough, I.F.; Robel, S.; Roberson, E.D.; Sontheimer, H. Vascular amyloidosis impairs the gliovascular unit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain* **2015**, *138*, 3716–3733. [[CrossRef](#)]
11. Koronyo, Y.; Salumbides, B.C.; Sheyn, J.; Pelissier, L.; Li, S.; Ljubimov, V.; Moyseyev, M.; Daley, D.; Fuchs, D.T.; Pham, M.; et al. Therapeutic effects of glatiramer acetate and grafted CD115+ monocytes in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain* **2015**, *138*, 2399–2422. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Shi, H.; Koronyo, Y.; Rentsendorj, A.; Regis, G.C.; Sheyn, J.; Fuchs, D.T.; Kramerov, A.A.; Ljubimov, A.V.; Dumitrescu, O.M.; Rodriguez, A.R.; et al. Identification of early pericyte loss and vascular amyloidosis in Alzheimer's disease retina. *Acta Neuropathol.* **2020**, *139*, 813–836. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Arvanitakis, Z.; Leurgans, S.E.; Wang, Z.; Wilson, R.S.; Bennett, D.A.; Schneider, J.A. Cerebral amyloid angiopathy pathology and cognitive domains in older persons. *Ann. Neurol.* **2011**, *69*, 320–327. [[CrossRef](#)]
14. Boyle, P.A.; Yu, L.; Nag, S.; Leurgans, S.; Wilson, R.S.; Bennett, D.A.; Schneider, J.A. Cerebral amyloid angiopathy and cognitive outcomes in community-based older persons. *Neurology* **2015**, *85*, 1930–1936. [[CrossRef](#)]
15. Bulut, M.; Kurtulus, F.; Gözkaya, O.; Erol, M.K.; Cengiz, A.; Akldan, M.; Yaman, A. Evaluation of optical coherence tomography angiographic findings in Alzheimer's type dementia. *Br. J. Ophthalmol.* **2018**, *102*, 233–237. [[CrossRef](#)]
16. Williams, M.A.; McGowan, A.J.; Cardwell, C.R.; Cheung, C.Y.; Craig, D.; Passmore, P.; Silvestri, G.; Maxwell, A.P.; McKay, G.J. Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2015**, *1*, 229–235. [[CrossRef](#)]
17. Frost, S.; Kanagasingam, Y.; Sohrabi, H.; Vignarajan, J.; Bourgeat, P.; Salvado, O.; Villemagne, V.; Rowe, C.C.; Lance MacAulay, S.; Szoek, C.; et al. Retinal vascular biomarkers for early detection and monitoring of Alzheimer's disease. *Transl. Psychiatry* **2013**, *3*, e233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Ramírez, J.M.; Rojas, B.; Gallego, B.I.; García-Martín, E.S.; Triviño, A.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; de Hoz, R. Glia and blood retinal barrier: Effects of ocular hypertension. In *Cardiovascular Disease II*; iConcept Press Ltd.: Hong Kong, China, 2014; pp. 123–162.
19. Donix, M.; Small, G.W.; Bookheimer, S.Y. Family history and APOE-4 genetic risk in Alzheimer's disease. *Neuropsychol. Rev.* **2012**, *22*, 298–309. [[CrossRef](#)]
20. Bendlin, B.B.; Carlsson, C.M.; Gleason, C.E.; Johnson, S.C.; Sodhi, A.; Gallagher, C.L.; Puglielli, L.; Engelman, C.D.; Ries, M.L.; Xu, G.; et al. Midlife predictors of Alzheimer's disease. *Maturitas* **2010**, *65*, 131–137. [[CrossRef](#)]
21. Jayadev, S.; Steinbart, E.J.; Chi, Y.Y.; Kukull, W.A.; Schellenberg, G.D.; Bird, T.D. Conjugal Alzheimer disease: Risk in children when both parents have Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **2008**, *65*, 373–378. [[CrossRef](#)]
22. Ribalta, J.; Vallvé, J.C.; Girona, J.; Masana, L. Apolipoprotein and apolipoprotein receptor genes, blood lipids and disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2003**, *6*, 177–187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Anderson, D.H.; Ozaki, S.; Nealon, M.; Neitz, J.; Mullins, R.F.; Hageman, G.S.; Johnson, L.V. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: Implications for the process of drusen formation. *Am. J. Ophthalmol.* **2001**, *131*, 767–781. [[CrossRef](#)]
24. Toops, K.A.; Tan, L.X.; Lakkaraju, A. Apolipoprotein E isoforms and AMD. *Adv. Exp. Med. Biol.* **2016**, *854*, 3–9. [[PubMed](#)]
25. McKay, G.J.; Patterson, C.C.; Chakravarthy, U.; Dasari, S.; Klaver, C.C.; Vingerling, J.R.; Ho, L.; de Jong, P.T.V.M.; Fletcher, A.E.; Young, I.S.; et al. Evidence of association of APOE with age-related macular degeneration—A pooled analysis of 15 studies. *Hum. Mutat.* **2011**, *32*, 1407–1416. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. März, W.; Scharnagl, H.; Hoffmann, M.M.; Boehm, B.O.; Winkelmann, B.R. The apolipoprotein E polymorphism is associated with circulating C-reactive protein (the Ludwigshafen risk and cardiovascular health study). *Eur. Heart J.* **2004**, *25*, 2109–2119. [[CrossRef](#)]
27. Baird, P.N.; Richardson, A.J.; Robman, L.D.; Dimitrov, P.N.; Tikellis, G.; McCarty, C.A.; Guymer, R.H. Apolipoprotein (APOE) gene is associated with progression of age-related macular degeneration (AMD). *Hum. Mutat.* **2006**, *27*, 337–342. [[CrossRef](#)]
28. De Jong, P.T.V.M. Age-Related Macular Degeneration. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 1474–1485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Boon, C.J.F.; van de Ven, J.P.H.; Hoyng, C.B.; den Hollander, A.I.; Klevering, B.J. Cuticular drusen: Stars in the sky. *Prog. Retin. Eye Res.* **2013**, *37*, 90–113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Kaarniranta, K.; Salminen, A.; Haapasalo, A.; Soinen, H.; Hiltunen, M. Age-related macular degeneration (AMD): Alzheimer's disease in the eye? *J. Alzheimer's Dis.* **2011**, *24*, 615–631. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Ramírez, J.M.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; de Hoz, R.; Triviño, A. Changes of astrocytes in retinal ageing and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **2001**, *73*, 601–615. [[CrossRef](#)]
32. Salobarra-García, E.; Méndez-Hernández, C.; de Hoz, R.; Ramírez, A.I.; López-Cuenca, I.; Fernández-Albarral, J.A.; Rojas, P.; Wang, S.; García-Feijoo, J.; Gil, P.; et al. Ocular Vascular Changes in Mild Alzheimer's Disease Patients: Foveal Avascular Zone, Choroidal Thickness, and ONH Hemoglobin Analysis. *J. Pers. Med.* **2020**, *10*, 231. [[CrossRef](#)]

33. Gharbiya, M.; Trebbastoni, A.; Parisi, F.; Manganiello, S.; Cruciani, F.; D'Antonio, F.; De Vico, U.; Imbriano, L.; Campanelli, A.; De Lena, C. Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer's Disease: Evidence from enhanced depth imaging spectral domain Optical Coherence Tomography. *J. Alzheimer's Dis.* **2014**, *40*, 907–917. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Cheung, C.Y.; Chan, V.T.T.; Mok, V.C.; Chen, C.; Wong, T.Y. Potential retinal biomarkers for dementia: What is new? *Curr. Opin. Neurol.* **2019**, *32*, 82–91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Koh, L.H.L.; Agrawal, R.; Khandelwal, N.; Sai Charan, L.; Chhablani, J. Choroidal vascular changes in age-related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* **2017**, *95*, e597–e601. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Feke, G.T.; Hyman, B.T.; Stern, R.A.; Pasquale, L.R. Retinal blood flow in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2015**, *1*, 144–151. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Teja, K.V.R.; Berendschot, T.J.M.T.; Steinbusch, H.; Webers, A.B.C.; Murthy, R.P.; Mathuranath, P.S. Cerebral and Retinal Neurovascular Changes: A Biomarker for Alzheimer's Disease. *J. Gerontol. Geriatr. Res.* **2017**, *6*, 447.
38. Jiang, H.; Liu, Y.; Wei, Y.; Shi, Y.; Wright, C.B.; Sun, X.; Rundek, T.; Baumel, B.S.; Landman, J.; Wang, J. Impaired retinal microcirculation in patients with Alzheimer's disease. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0192154.
39. Delaey, C.; Van de Voorde, J. Regulatory mechanisms in the retinal and choroidal circulation. *Ophthalmic Res.* **2000**, *32*, 249–256. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Nickla, D.L.; Wallman, J. The multifunctional choroid. *Prog. Retin. Eye Res.* **2010**, *29*, 144–168. [[CrossRef](#)]
41. Bulut, M.; Yaman, A.; Erol, M.K.; Kurtulus, F.; Toslak, D.; Dogan, B.; Turgut Coban, D.; Kaya Basar, E. Choroidal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's type dementia. *J. Ophthalmol.* **2016**, *2016*, 7291257. [[CrossRef](#)]
42. Triviño, A.; de Hoz, R.; Salazar, J.J.; Ramírez, A.I.; Rojas, B.; Ramírez, J.M. Distribution and organization of the nerve fiber and ganglion cells of the human choroid. *Anat. Embryol.* **2002**, *205*, 417–430. [[CrossRef](#)]
43. Triviño, A.; de Hoz, R.; Rojas, B.; Salazar, J.J.; Ramirez, A.I.; Ramirez, J.M. NPY and TH innervation in human choroidal whole-mounts. *Histol. Histopathol.* **2005**, *20*, 393–402. [[PubMed](#)]
44. Ramírez, J.M.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; de Hoz, R.; Rojas, B.; Triviño, A. Anatomofisiología de la úvea posterior: Coroides. In *Degeneracion Macular Asociada a la Edad*; Mones, J., Gómez-Ulla, F., Eds.; Probus Science: Barcelona, Spain, 2005; pp. 1–28.
45. Bayhan, H.A.; 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*, 145–151. [[CrossRef](#)]
46. Cunha, J.P.J.P.; Proença, R.; Dias-Santos, A.; Melancia, D.; Almeida, R.; Águas, H.; Santos, B.O.; Alves, M.; Ferreira, J.; Papoila, A.L.L.; et al. Choroidal thinning: Alzheimer's disease and aging. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2017**, *8*, 11–17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Trebbastoni, A.; Marcelli, M.; Mallone, F.; D'Antonio, F.; Imbriano, L.; Campanelli, A.; de Lena, C.; Gharbiya, M. Attenuation of choroidal thickness in patients with Alzheimer Disease: Evidence from an Italian Prospective Study. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* **2016**, *31*, 128–134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Wylęgała, A. Principles of OCTA and Applications in Clinical Neurology. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **2018**, *18*, 96. [[CrossRef](#)]
49. 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.; et al. Evaluation of choroidal thickness in prodromal Alzheimer's disease defined by amyloid PET. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0239484. [[CrossRef](#)]
50. Foster, N.L.; Chase, T.N.; Mansi, L.; Brooks, R.; Fedio, P.; Patronas, N.J.; Di Chiro, G. Cortical abnormalities in Alzheimer's disease. *Ann. Neurol.* **1984**, *16*, 649–654. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Johnson, N.A.; Jahng, G.H.; Weiner, M.W.; Miller, B.L.; Chui, H.C.; Jagust, W.J.; Gorno-Tempini, M.L.; Schuff, N. Pattern of cerebral hypoperfusion in Alzheimer disease and mild cognitive impairment measured with arterial spin-labeling MR imaging: Initial experience. *Radiology* **2005**, *234*, 851–859. [[CrossRef](#)]
52. Bertram, L.; Lill, C.M.; Tanzi, R.E. The genetics of alzheimer disease: Back to the future. *Neuron* **2010**, *68*, 270–281. [[CrossRef](#)]
53. Edwards, G.A.; Gamez, N.; Escobedo, G.; Calderon, O.; Moreno-Gonzalez, I. Modifiable risk factors for Alzheimer's disease. *Front. Aging Neurosci.* **2019**, *11*, 146. [[CrossRef](#)]
54. Klaver, C.C.W.; Kliffen, M.; Van Duijn, C.M.; Hofman, A.; Cruys, M.; Grobbee, D.E.; Van Broeckhoven, C.; De Jong, P.T.V.M. Genetic association of apolipoprotein E with age-related macular degeneration. *Am. J. Hum. Genet.* **1998**, *63*, 200–206. [[CrossRef](#)]
55. Zareparsy, S.; Reddick, A.C.; Branham, K.E.H.; Moore, K.B.; Jessup, L.; Thoms, S.; Smith-Wheelock, M.; Yashar, B.M.; Swaroop, A. Association of apolipoprotein E alleles with susceptibility to age-related macular degeneration in a large cohort from a single center. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2004**, *45*, 1306–1310. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Souied, E.H.; Benlian, P.; Amouyel, P.; Feingold, J.; Lagarde, J.P.; Munnich, A.; Kaplan, J.; Coscas, G.; Soubrane, G. The $\epsilon 4$ allele of the Apolipoprotein E gene as a potential protective factor for exudative age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* **1998**, *125*, 353–359. [[CrossRef](#)]
57. Mullins, R.F.; Johnson, M.N.; Faidley, E.A.; Skeie, J.M.; Huang, J. Choriocapillaris vascular dropout related to density of drusen in human eyes with early age-related macular degeneration. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2011**, *52*, 1606–1612. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Lutty, G.A.; McLeod, D.S.; Bhutto, I.A.; Edwards, M.M.; Seddon, J.M. Choriocapillaris dropout in early age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **2020**, *192*, 107939. [[CrossRef](#)]
59. Berenberg, T.L.; Metelitsina, T.I.; Madow, B.; Dai, Y.; Ying, G.S.; Dupont, J.C.; Grunwald, L.; Brucker, A.J.; Grunwald, J.E. The association between drusen extent and foveolar choroidal blood flow in age-related macular degeneration. *Retina* **2012**, *32*, 25–31. [[CrossRef](#)]

60. Chung, S.E.; Kang, S.W.; Lee, J.H.; Kim, Y.T. Choroidal thickness in polypoidal choroidal vasculopathy and exudative age-related macular degeneration. *Ophthalmology* **2011**, *118*, 840–845. [[CrossRef](#)]
61. Pauleikhoff, D.; Chen, J.C.; Chisholm, I.H.; Bird, A.C. Choroidal perfusion abnormality with age-related Bruch's membrane change. *Am. J. Ophthalmol.* **1990**, *109*, 211–217. [[CrossRef](#)]
62. Böker, T.; Fang, T.; Steinmetz, R. Refractive error and choroidal perfusion characteristics in patients with choroidal neovascularization and age-related macular degeneration. *Ger. J. Ophthalmol.* **1993**, *2*, 10–13.
63. Chen, J.C.; Fitzke, F.W.; Pauleikhoff, D.; Bird, A.C. Functional loss in age-related Bruch's membrane change with choroidal perfusion defect. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **1992**, *33*, 334–340.
64. Holz, F.G.; Wolfensberger, T.J.; Piguet, B.; Gross-Jendroska, M.; Wells, J.A.; Minassian, D.C.; Chisholm, I.H.; Bird, A.C. Bilateral Macular Drusen in Age-related Macular Degeneration: Prognosis and Risk Factors. *Ophthalmology* **1994**, *101*, 1522–1528. [[CrossRef](#)]
65. Prünte, C.; Niesel, P. Quantification of choroidal blood-flow parameters using indocyanine green video-fluorescence angiography and statistical picture analysis. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **1988**, *226*, 55–58. [[CrossRef](#)]
66. Friedman, E.; Ivry, M.; Ebert, E.; Glynn, R.; Gragoudas, E.; Seddon, J. Increased Scleral Rigidity and Age-related Macular Degeneration. *Ophthalmology* **1989**, *96*, 104–108. [[CrossRef](#)]
67. 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*, 1201–1209. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Smyth, L.C.D.; Rustenhoven, J.; Scotter, E.L.; Schweder, P.; Faull, R.L.M.; Park, T.I.H.; Dragunow, M. Markers for human brain pericytes and smooth muscle cells. *J. Chem. Neuroanat.* **2018**, *92*, 48–60. [[CrossRef](#)]
69. Snodderly, D.M.; Weinhaus, R.S.; Choi, J.C. Neural-vascular relationships in central retina of macaque monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Neurosci.* **1992**, *12*, 1169–1193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
70. Conrath, J.; Giorgi, R.; Raccach, D.; Ridings, B. Foveal avascular zone in diabetic retinopathy: Quantitative vs. qualitative assessment. *Eye* **2005**, *19*, 322–326. [[CrossRef](#)]
71. Van De Kreeke, J.A.; Nguyen, H.T.; Konijnenberg, E.; Tomassen, J.; Den Braber, A.; Ten Kate, M.; Yaqub, M.; Van Berckel, B.; Lammertsma, A.A.; Boomsma, D.I.; et al. Optical coherence tomography angiography in preclinical Alzheimer's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **2019**, *104*, 157–161. [[CrossRef](#)]
72. O'bryhim, B.; Apte, R.; Kung, N.; Coble, D.; Van Starven, G.P. Association of preclinical Alzheimer disease with optical coherence tomographic angiography findings. *JAMA Ophthalmol.* **2018**, *136*, 1242–1248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Chua, J.; Hu, Q.; Ke, M.; Tan, B.; Hong, J.; Yao, X.; Hilal, S.; Venketasubramanian, N.; Garhöfer, G.; Cheung, C.; et al. Retinal Microvascular Alterations in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Alzheimers. Res. Ther.* **2020**, *12*, 161. [[CrossRef](#)]
74. Zhang, Y.S.; Zhou, N.; Knoll, B.M.; Samra, S.; Ward, M.R.; Weintraub, S.; Fawzi, A.A. 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*, e0214685. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Shin, J.Y.; Choi, E.Y.; Kim, M.; Lee, H.K.; Byeon, S.H. Changes in retinal microvasculature and retinal layer thickness in association with apolipoprotein E genotype in Alzheimer's disease. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1847. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Wang, X.; Zhao, Q.; Tao, R.; Lu, H.; Xiao, Z.; Zheng, L.; Ding, D.; Ding, S.; Ma, Y.; Lu, Z.; et al. Decreased Retinal Vascular Density in Alzheimer's Disease (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI): An Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA) Study. *Front. Aging Neurosci.* **2021**, *12*, 295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Grewal, D.S.; Polascik, B.W.; Hoffmeyer, G.C.; Fekrat, S. Assessment of differences in retinal microvasculature using OCT angiography in Alzheimer's disease: A twin discordance report. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retin.* **2018**, *49*, 440–444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
78. Zabel, P.; Kaluzny, J.J.; Wilkosc-Debczynska, M.; Gebaska-Toloczek, M.; Suwala, K.; Zabel, K.; Zaron, A.; Kucharski, R.; Araszkiwicz, A. Comparison of Retinal Microvasculature in Patients with Alzheimer's Disease and Primary Open-Angle Glaucoma by Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, 3447. [[CrossRef](#)]
79. Yoon, S.P.; Grewal, D.S.; Thompson, A.C.; Polascik, B.W.; Dunn, C.; Burke, J.R.; Fekrat, S. Retinal Microvascular and Neurodegenerative Changes in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment Compared with Control Participants. *Ophthalmol. Retin.* **2019**, *3*, 489–499. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Brown, W.R.; Thore, C.R. Review: Cerebral microvascular pathology in ageing and neurodegeneration. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **2011**, *37*, 56–74. [[CrossRef](#)]

Review

The Value of OCT and OCTA as Potential Biomarkers for Preclinical Alzheimer's Disease: A Review Study

Inés López-Cuenca ^{1,2,†}, Elena Salobar-García ^{1,2,3,†}, Lorena Elvira-Hurtado ¹, José A. Fernández-Albarral ^{1,2}, Lidia Sánchez-Puebla ¹, Juan J. Salazar ^{1,2,3}, José M. Ramírez ^{1,2,4}, Ana I. Ramírez ^{1,2,3,*} and Rosa de Hoz ^{1,2,3,*}

¹ Ramón Castroviejo Eye Research Institute, Complutense University of Madrid, IdISSC, 28040 Madrid, Spain; inelopez@ucm.es (I.L.-C.); elenasalobar@med.ucm.es (E.S.-G.); marelvir@ucm.es (L.E.-H.); joseaf08@ucm.es (J.A.F.-A.); lidsan02@ucm.es (L.S.-P.); jjsalazar@med.ucm.es (J.J.S.); ramirez@med.ucm.es (J.M.R.)

² OFTARED-ISCIH, 28029 Madrid, Spain

³ Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Faculty of Optics and Optometry, Complutense University of Madrid, 28037 Madrid, Spain

⁴ Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain

* Correspondence: airamirez@med.ucm.es (A.I.R.); rdehoz@med.ucm.es (R.d.H.)

† These authors (I.L.-C. and E.S.-G.) contributed equally to this work.



Citation: López-Cuenca, I.; Salobar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Fernández-Albarral, J.A.; Sánchez-Puebla, L.; Salazar, J.J.; Ramírez, J.M.; Ramírez, A.I.; de Hoz, R. The Value of OCT and OCTA as Potential Biomarkers for Preclinical Alzheimer's Disease: A Review Study. *Life* **2021**, *11*, 712. <https://doi.org/10.3390/life11070712>

Academic Editor: Arianna Di Stadio

Received: 30 June 2021

Accepted: 17 July 2021

Published: 19 July 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Preclinical Alzheimer's disease (AD) includes cognitively healthy subjects with at least one positive biomarker: reduction in cerebrospinal fluid A β ₄₂ or visualization of cerebral amyloidosis by positron emission tomography imaging. The use of these biomarkers is expensive, invasive, and not always possible. It has been shown that the retinal changes measured by optical coherence tomography (OCT) and OCT-angiography (OCTA) could be biomarkers of AD. Diagnosis in early stages before irreversible AD neurological damage takes place is important for the development of new therapeutic interventions. In this review, we summarize the findings of different published studies using OCT and OCTA in participants with preclinical AD. To date, there have been few studies on this topic and they are methodologically very dissimilar. Moreover, these include only two longitudinal studies. For these reasons, it would be interesting to unify the methodology, make the inclusion criteria more rigorous, and conduct longer longitudinal studies to assess the evolution of these subjects. If the results were consistent across repeated studies with the same methodology, this could provide us with insight into the value of the retinal changes observed by OCT/OCTA as potential reliable, cost-effective, and noninvasive biomarkers of preclinical AD.

Keywords: Alzheimer's disease; preclinical; optical coherence tomography; optical coherence tomography-angiography; retina; biomarker

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease that causes the most common type of dementia in the world [1,2], characterized by a progressive decline in memory, learning, and executive functions [3]. The neuropathological hallmarks of AD are extracellular plaques of amyloid-beta (A β), cerebral amyloid angiopathy, and intracellular neurofibrillary tangles of hyperphosphorylated tau located mainly in the cerebral cortex [4,5]. There is still no definitive diagnosis for AD before death; however, the pathophysiology of AD can begin decades before the symptoms and the diagnosis of the disease [6]. Thus, new biomarkers are being searched for to enable diagnosis at the preclinical stage of AD. The concept "asymptomatic at-risk patients" was included in the International Working Group criteria, where it was proposed as a state of preclinical AD. This term includes subjects without clinical symptoms or signs, but with biomarkers of Alzheimer's pathology [7]. Currently, the two standard biomarkers for the diagnosis of preclinical AD are cerebrospinal

fluid (CSF) analysis and A β positron emission tomography (PET) imaging. However, both diagnostic techniques have their disadvantages: CSF analysis requires a lumbar puncture, an invasive procedure that requires a specialist, and PET is an invasive technique that is very expensive and not always available [8]. Therefore, the discovery of new early biomarkers that are more accessible, cost-effective, and non-invasive to identify people at high risk of developing AD who are cognitively normal would be highly significant. The diagnosis of AD before irreversible neurological damage occurs is important for the development of new therapeutic interventions [9].

The retina is an extension of the central nervous system (CNS), providing a window through which to observe both neuronal and vascular changes in the brain [10]. The importance of monitoring retinal changes in various neurodegenerative diseases has become evident in the last few decades [11–17], suggesting that the data collected may be useful as biomarkers for the diagnosis and treatment of these diseases [18]. Ophthalmologists now use in vivo imaging techniques that can detect and quantify findings compatible with the histopathologic changes reported in the retinas of AD patients many years ago [19]. Among these imaging techniques, optical coherence tomography (OCT) is a reliable and non-invasive technique commonly used in ophthalmology practices that allows for the visualization and quantification of the retinal layers. This technique allows the observation of the anatomic features of pathological changes in the retina, optic nerve, and choroidal thickness. In the eye, in addition to neural tissue, the retinal vasculature can be analyzed by obtaining non-invasive optical images using OCT-angiography (OCTA).

Both OCT and OCTA are used to monitor retinal changes in the preclinical stages of AD in order to demonstrate whether these changes could be used as biomarkers for the early diagnosis of AD [20–24].

Future research will focus on understanding the pathophysiological process of dementia based on retinal imaging to determine individuals at high risk of developing dementia and evaluate possible treatments for it [10]. This review analyzes the main findings of OCT and OCTA in the preclinical stage of the disease as well as the value of these diagnostic imaging techniques as a contribution to the early diagnosis of subjects at high risk of developing AD.

2. Materials and Methods

2.1. Search Strategy

We performed a search of the medical literature using the “MESH” terms in PubMed up to April 2021. The search terms were: “optical coherence tomography”, “optical coherence tomography-angiography”, “Alzheimer’s disease”, “preclinical Alzheimer’s disease”, “presymptomatic Alzheimer’s disease”, and “asymptomatic Alzheimer’s disease” as well as their possible combinations. We found 375 articles with the combinations of terms above-mentioned.

2.2. Inclusion and Exclusion Criteria

The terms had to be in the title, in the abstract, or in the text of the article. The articles selected were written in English or Spanish and published in the last 10 years. All of them had to relate to the relationship between OCT and OCTA and preclinical AD; we also included articles defining the concept of preclinical Alzheimer’s disease or generalizations about OCT/OCTA as the main topic. Fifty-three articles were considered, while 322 articles did not meet the selection criteria. In Figure 1, we summarize the article selection process.

Inclusion criteria: We considered studies in which participants had one of the two standard biomarkers for the diagnosis of preclinical AD through CSF analysis, and A β PET imaging and studies performed with OCT or OCTA.

Exclusion criteria: We excluded studies focused on AD or mild cognitive impairment. We also excluded those that did not use OCT or OCTA in the study. Studies carried out in animal models were also excluded.

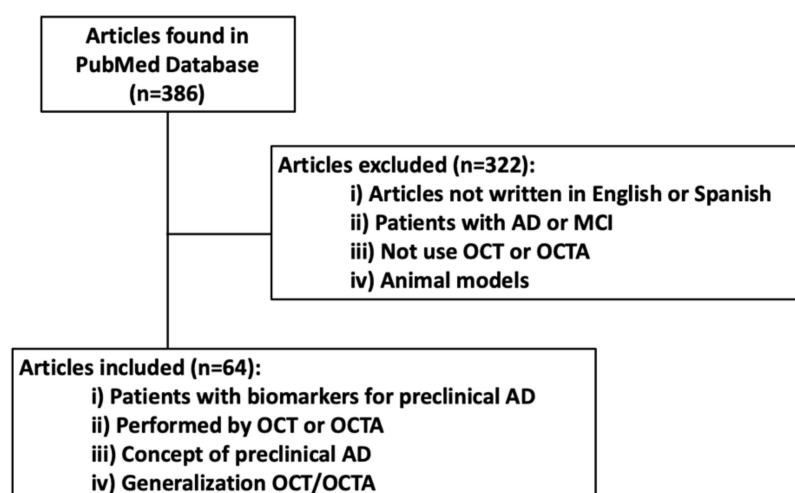


Figure 1. Flow chart of selected articles.

3. Preclinical AD Definition

The concept of preclinical AD is relatively recent, emerging in the late 20th century [25]. Advances in neuroimaging, cerebrospinal fluid analysis, and other biomarkers have made it possible to detect the pathological process of AD in vivo before clinical manifestations appear in cognitively healthy patients [26].

There are currently two types of biomarkers that determine whether a patient is at asymptomatic risk of developing AD. These are pathophysiological markers and topographical biomarkers. Pathophysiological markers indicate the presence of amyloid pathology (CSF $A\beta_{42}$ or PET amyloid) and Tau pathology (CSF or PET Tau). Topographical markers are volume changes determined by MRI or measured by fluorodeoxyglucose hypometabolism (FDG-PET) in specific brain structures. The biomarkers that are considered diagnostic for defining preclinical AD are the pathophysiological biomarkers CSF $A\beta_{42}$ and amyloid PET. Reference measurement procedures for CSF $A\beta_{42}$ and the first automatic electrochemiluminescence method for the determination of $A\beta_{42}$ in CSF have been established [27–29]. Amyloid positivity increases from age 50 onward and correlates very strongly with the presence of the ApoE $\epsilon 4$ allele [25]. Furthermore, amyloids in CSF can be the first positive marker [30]; the appearance of $A\beta$ deposits starts 20–30 years before the onset of dementia and is therefore the best marker to determine those at high risk of developing AD [31]. Beta-amyloid deposition can be established using both CSF and PET; CSF has higher sensitivity for detecting amyloid deposition in early stages of AD while amyloid PET may be more specific for detecting individuals who are really on a trajectory of AD. Thus, CSF may be more sensitive for the onset of amyloid deposition, while amyloid PET may be more specific for reporting subjects who will develop AD [25]. For these reasons, one of the two markers is considered sufficient for the diagnosis of preclinical AD.

4. Optical Coherence Tomography (OCT)

OCT is a diagnostic technique that provides high-resolution images (micron-precision) of retinal microstructure based on interferometry. This technique is routinely used in ophthalmic diagnostics because it allows quantitative measurements of retinal thickness, choroidal thickness, and retinal sublayer thickness [32,33]. In recent years, the ability of OCT to give high-resolution images has progressively improved; initially, time-domain OCT was rapidly used by neurologists to study retinal nerve fiber layer (RNFL) changes in AD [34]. Subsequently, more advanced spectral domain OCT was used to lengthen the initial findings.

When reviewing the different studies in which retinal damage caused by neurodegenerative disease has been analyzed with OCT, some factors must be taken into account.

Numerous OCT systems are available, with segmentation algorithms, scan patterns, and outcome measures varying significantly between different manufacturers [35,36]. Furthermore, even if an OCT from the same manufacturer is used, segmentation algorithms may vary over the course of time and, therefore, measurements obtained with different generations of the same OCT may vary slightly but significantly [36]. Therefore, when making comparisons between different studies, it is very important to take into account the OCT system and scanning parameters used. In addition, most OCT images are of a small area of the retina, with a variation of between 3 mm × 3 mm and 6 mm × 6 mm regions of the optic disc region or central macula. Therefore, most of the retinal tissue is not analyzed with standard OCT imaging protocols. Recently, wide-field systems have allowed 12 mm × 12 mm (or larger) images to be acquired, but they are very expensive, not yet available in all practices, and have a lower resolution. Additionally, all studies reported up to the present time have used bidimensional representations of retinal characteristics; however, these two-dimensional (2D) representations of three-dimensional (3D) biological structures have their limitations. An analysis of 3D versus 2D algorithms would allow retinal findings to be used in the future to study neurodegenerative diseases from a different clinical perspective [37]. Finally, it is noteworthy that the reproducibility of OCT measurements depends on the experience and qualifications of users. In trained hands, the reproducibility of retinal thickness measurements can be very good (intraclass correlation coefficient = 1.0 [38]) and the coefficient of variation very low (between 0.5% [38] and 0.4% [39]).

5. Optical Coherence Tomography-Angiography (OCTA)

OCTA is a very recent imaging diagnostic technique based on OCT that is mainly used for the evaluation of the retinal vascularization. This technique is used both for the diagnosis of retinal vascular diseases and for the study of vascularization in pathologies of the optic nerve [40–42]. The OCTA information is based on the detection of the movement of hematies inside the retinal capillaries, and the OCTA results are shown as a static map of the retinal capillary density, thus indicating the state of perfusion of the capillaries. OCTA allows the imaging of the retinal vasculature at a near-histological resolution that is superior to imaging with fluorescein angiography, which is an invasive technique [43,44]. In addition, patients with OCTA do not receive intravenous injections of a dye contrast, thus avoiding most of the side effects that occur with conventional angiography (anaphylaxis, nausea, vomiting rash, etc.) [45]. However, OCTA does not provide the information on vascular dynamics that angiography does. Therefore, in those pathologies in which there is an alteration of the blood–retinal barrier with increased vascular permeability, it is preferable to use angiography with different dyes depending on whether we want to analyze the retina (fluorescein) or the choroid (indocyanine green). With OCTA, retinal capillaries are observed in two plexuses, called the superficial and deep retinal plexus. In addition, in the peripapillary region OCTA allows the observation of the peripapillary radial capillaries plexus [43,46]. This technique is suitable for observing changes in retinal microcirculation, which, as discussed above, could correlate with changes in brain microcirculation. The cerebral and retinal vasculature show similarities [47,48]. Both derive from the internal carotid artery and have barrier function (blood–retinal barrier and blood–brain barrier) [49]. In AD patients, it has been suggested that retinal vascular changes share pathogenic mechanisms with those of the cerebral vessels [9,50,51]. Several studies have shown that this correlation exists in patients with AD [23,37].

When analyzing the different studies performed with OCTA, some limitations of this diagnostic technique should be considered. Images obtained by OCTA can have various artifacts, the most frequent being those caused by eye movements relative to the OCT during image acquisition. Motion correction technologies are available, but they also create other artifacts such as stretching, filling, and duplication artifacts. Other artifacts such as loss of signal detection are due to signal blockage by media opacities that affect quantitative OCTA measurements. Flicker artifacts due to eye-tracking technology allow

rescanning the area properly. Other problems include segmentation errors, which are more frequent in eyes where the layer limits are irregular. The reproducibility of quantitative measurements can be significantly affected by image decentering, which can be classified according to the distance between the center of the foveal avascular zone (FAZ) and the center of the *en face* image. Finally, projection artifacts are produced when light crossing the superficial vessels is modified by reflection or absorption by hematies and the surrounding tissue. This light is reflected by the retinal pigment epithelium (RPE), creating the false impression that hematies are moving in the RPE vessels and thereby overestimating the perfusion density. Although these projection artifacts are observed very frequently, there are commercially available algorithms for their removal that greatly diminish the impact of these artifacts on the images [37,44,52]. This new modality, due to the need for new equipment and processing techniques, the current limitations of imaging capability, and the rapid advances in both imaging and our understanding of the applicable pathophysiology of the retina and choroid, necessitates a long learning curve. Therefore, the reproducibility of the measurements will depend on the experience of the users and the quality of image control [37,52].

6. OCT and OCTA Studies in Preclinical AD

The first study including patients with preclinical AD as participants was performed in patients with a family history of AD and memory complaints. In this cross-sectional study carried out with 63 participants, a non-significant thickening of the inner retinal plexiform layer (IPL) in the macular area of $A\beta+$ patients was observed in comparison to the control participants ($A\beta-$). In addition, the increase in the volume of this layer was associated with the surface area of the retinal inclusion bodies, which may contain deposits of fibrillar $A\beta$ [53]. These inclusion bodies appear as faint white spots with poor border demarcation in SD-OCT imaging. These inclusion bodies should not be confused with the drusen that occur in age-related macular degeneration and usually accumulate between Bruch's membrane and the RPE [54–56]. In the RNFL, an increase in volume that was non-significant with respect to the $A\beta$ -group was also observed. Furthermore, they studied the number and area of the surface inclusion retinal bodies, finding that their surface area increased as a consequence of the neocortical accumulation of $A\beta$. The authors suggest that the IPL volume increase may reflect an early inflammatory process related to the disruption of cholinergic transmission that is caused by $A\beta$ deposition in the neocortex and/or may be the result of these inclusion bodies occupying space within (and adjacent to) this retinal layer [54]. Table 1 summarizes the characteristics of the included studies.

In a subsequent study conducted in a cohort of patients with biomarkers positive for $A\beta$ and subjective memory complaints, the authors found no differences in RNFL thickness between people with preclinical AD and the healthy controls. They also found no significant differences in RNFL thickness between the groups, nor any association between retinal structural measurements and $A\beta$ determination by PET in the neocortex [57].

In a transversal study where the preclinical AD group was compared with the control healthy group, a thinning of the macular RNFL (mRNFL) was found in the nasal sector in the preclinical AD group. Furthermore, while the inferior sector showed a decrease in thickness, the superior sector showed a thickening, both of which were not statistically significant. The predominant thinning of the mRNFL within the nasal sector is consistent with previous OCT studies in patients with established AD. The nasal fibers follow the papillomacular bundle, which has the highest energy requirement and is therefore more susceptible to degenerative damage [58]. In contrast, in a longitudinal study with a 27 month follow-up, a significant decrease in volume was found in the mRNFL, accompanied by a decrease in volume and thickness in the inner nuclear layer (INL) and outer nuclear layer (ONL) in the inferior sectors. While RNFL thinning is associated with neocortical $A\beta$ accumulation, in preclinical AD, it does not yet relate to the subjects' episodic memory performance or problem-solving ability. However, this axonal loss appears to be slightly related to decreased audiovisual integration, which has been proposed as a marker of

mild cognitive impairment [20]. In another 22-month longitudinal study of 145 healthy monozygotic twins, no differences in retinal thickness changes were found between $A\beta+$ and $A\beta-$ individuals. In addition, the authors reported that there was less thinning of the IPL over time with a greater bonding of $A\beta$ in the PET, suggesting that this could be due to the presence of deposits or an inflammatory process [59].

In another study carried out with 165 participants, most of them monozygotic twins (75 twin pairs and 15 incomplete twin pairs), the authors reported no differences in total retinal thickness in the inner retinal layers in the macular area and peripapillary RNFL thickness (pRNFL) in the $A\beta+$ group with respect to the $A\beta-$ participants. In addition, they found a positive correlation between the $A\beta$ measurement on PET and the total macular thickness in the inner ring that was not statistically significant [22]. The same authors performed a study with OCTA in preclinical AD twins. The $A\beta+$ group showed a significant higher vessel density in comparison to $A\beta-$ subjects in both the inner and outer macular rings and pRNFL, with ROC curves that demonstrated the high sensitivity and specificity of the analysis of vascular density in the peripapillary region, showing that this could be used as a reliable biomarker. However, the FAZ showed no significant differences between the study groups. The authors postulated that the increased vascular density could be due to an inflammatory state of the retina in the early stages of amyloid accumulation, as in the brain, the accumulation of $A\beta$ is usually inflammatory in nature. If this also occurs in the retina at the same time, it may be that in the preclinical stage of the disease, the inflammatory reaction could lead to vasodilatation, allowing the microvessels to be detected by OCTA. After this phase, the accumulation of $A\beta$ would continue to cause damage, leading to a decrease in vascular density, as has already been reported in patients with established AD. This study also found a positive association between $A\beta$ cerebral deposition and vessel density for all regions of the retina, while $A\beta$ binding on PET tended to be related to higher vascular density in the retinal inner ring. In addition, the correlations between OCTA vascular parameters between twin pairs were moderate to high, except for the vascular density around the optic nerve [60].

In contrast to these findings, in a case-control study involving 30 participants—14 with positive AD biomarkers and 16 participants without AD biomarkers—the authors reported increased FAZ in patients with positive biomarkers compared to participants without AD biomarkers. One possible explanation is that, in the brain, deposits of $A\beta$ and collagen that accumulate within the capillaries cause cell apoptosis and retinal vessel closure during disease progression. Another possible explanation could be the accumulation of $A\beta$ in the inner retinal layers. These findings suggest that, in individuals with preclinical AD, vascular and structural changes occur in the retina even before clinical signs of the disease appear [23].

In the last study performed with participants with preclinical AD where the $A\beta_{42}$ /Tau ratio in cerebrospinal fluid was analyzed, it was reported that there were no significant differences between groups in terms of RNFL, ganglion cell-inner plexiform layer complex (GC-IPL), or total macular thickness, according to SD-OCT. However, the retinal function showed statistical differences, with photopic negative response, as a measure of inner retinal function, being significantly diminished in the preclinical AD group in comparison to the control group. These results are consistent with previous work by the same group of patients with severe AD, where a more pronounced atrophy of the inner retinal layers affecting the GCL early in the disease was reported [61].

Table 1. Included studies that analyze preclinical AD participants using OCT and OCTA.

Study	Study-Design, Sample Size	Participant's Status, (M/F), Years	Biomarker Preclinical AD	Neurological Test	OCT/OCT-A Model	OCT-OCT-A Parameters	Significant Parameters
Snyder et al., 2016	Cross-sectional ($n = 63$)	$n = 10$ Preclinical AD, (2/8), 62.28 (5.15) $n = 53$ Controls; (22/31), 65.50 (5.87)	Mean A β SUVR ratio 1.27 (0.22)	GDS DASS MAC-Q MMSE GMLT ISLT	Heidelberg Spectralis SD-OCT	pRNFL, mRNFL, GCL, IPL, INL, OPL, ONL	\uparrow IPL
Golzan et al., 2017	Cross-sectional ($n = 73$)	$n = 50$ Elderly control group, (14/36), 79 ± 5 $n = 23$ Preclinical AD group (9/14) 80 ± 4	Mean A β , SURVr 1.75 ± 0.24	MAC-Q MoCA	Nidek SD-OCT	pRNFL Macular RGCL complex	None
O'Bryhim et al., 2018	Observational case-control ($n = 32$)	$n = 14$ Preclinical AD. (8/6), 73.5 (4,7) $n = 18$ Control, 8/10, 75,2 (6,6)	A β + CSF and/or PET (PiB or F-AV-45)	CDR	Optovue OCT-A System	Total and Temporal RNFL thickness; GCL thickness; Macular Volume; Inner, outer and total foveal thickness; total macular, foveal, paravfoveal vascular density and FAZ	\uparrow FAZ
Santo et al., 2018	Longitudinal 27 months follow-up ($n = 56$)	$n = 15$ Preclinical AD, (4/11), 68.25 (5.81) $n = 41$ Controls, (17/24), 64.56 (5.26)	Mean A β SUVR ratio 1.32 (0.18)	MMSE MAC-Q ISLT GMLT	Heidelberg Spectralis SD-OCT	pRNFL, mRNFL, CGL, IPL, INL, OPL, ONL	\downarrow mRNFL \downarrow INL and ONL inferior sector
van de Kreeke et al., 2019	Observational case-control ($n = 124$)	$n = 13$ preclinical AD $n = 111$ controls Overall (58/66), 66.6 ± 6.3	Global BP _{ND} of A β 0.122 (0.095–0.177)	MMSE	Zeiss Cirrus 5000 OCT-A	Retinal vessel density in inner and outer ring macula and around ONH. FAZ	\uparrow Retinal vessel density in inner and outer ring macula and around ONH

Table 1. Cont.

Study	Study-Design, Sample Size	Participant's Status, (M/F), Years	Biomarker Preclinical AD	Neurological Test	OCT/OCT-A Model	OCT-OCT-A Parameters	Significant Parameters
van de Kreeke et al., 2019	Cross-sectional (<i>n</i> = 165)	<i>n</i> = 18 Preclinical AD <i>n</i> = 147 control Overall (70/95), 69.5 (6.9)	Mean BPND of A β 0.120 (0.87–0.177)	MMSE	Heidelberg Spectralis SD-OCT	pRNFL, mRNFL, GCL, IPL	None
van de Kreeke et al., 2020	Longitudinal 22 months follow-up (<i>n</i> = 145)	<i>n</i> = 16 Preclinical AD <i>n</i> = 129 Controls Overall (67/78), 68.6 \pm 6.3–70.5 \pm 6.2	Mean BPND of A β 0.120 (0.088–0.174)	MMSE	Heidelberg Spectralis SD-OCT	pRNFL, mRNFL, GCL, IPL	None
López-Cuenca et al., 2020	Cross sectional (<i>n</i> = 64)	<i>n</i> = 35 FH+ Carriers of ApoE ϵ 4, (11/24), 57.00(54.00–61.00) <i>n</i> = 29 FH-Non-Carriers of ApoE ϵ 4, (12/17), 59.00 (54.00–65.00)	None	MMSE	Heidelberg Spectralis SD-OCT	pRNFL, Total retinal thickness, mRnfl, GCL, IPL, INL, OPL, ONL, RPE	\downarrow mRNFL central sector, \downarrow IPL inferior and nasal sectors, \downarrow INL central and inferior sectors, \downarrow OPL inferior sector
Asanad et al., 2021	Cross sectional (<i>n</i> = 29)	<i>n</i> = 15 Preclinical AD, (3/12), 76.5 \pm 6.6 <i>n</i> = 14 Controls (4/10), (79.9 \pm 8.5)	A β 42/Tau ratio in CSF (1.3 \pm 0.4)	Uniform Data Set-3 criteria of the NACC	Zeiss Cirrus SD-OCT	RNFL, GCL-IPL, Total macular thickness	None

M, males; F, Females; OCT, Optical Coherence Tomography; OCT-A, Optical Coherence Tomography-Angiography, SD-OCT, Spectral Domain Optical Coherence Tomography; A β +, A β Amyloid positive; AD, Alzheimer's disease; SUVR, Standardized Uptake Value Ratio; BPND, Non-displaceable Binding Potential; CSF, Cerebrospinal Fluid; GDS, Geriatric Depression Scale; DASS, Depression, Anxiety, and Stress Scale; MAC-Q, Memory Complaints Questionnaire; MMSE, Mini Mental State Examination; GMLT, Groton Maze Learning Test; ISLT, International Shopping List Task; MoCA, Montreal Cognitive Assessment, CDR, Clinical Dementia Rating; NACC, National Alzheimer's Coordinating Center; FH+, subjects with a family history of AD; ApoE, Apolipoprotein E; FH-, subject without a family history of AD; pRNFL, Peripapillary Retinal Nerve Fiber Layer; mRNFL, Macular Retinal Nerve Fiber Layer; GCL, Ganglion Cell Layer; IPL, Inner Plexiform Layer; INL, Inner Nuclear Layer; OPL; Outer Plexiform Layer; ONL, Outer Nuclear Layer; RPE, Retinal Pigment Epithelium.

A recent study analyzed the structural differences that appear in the retina of subjects at high genetic risk of the development of sporadic AD using OCT. The authors reported a statistical thinning in different sectors of the mRNFL, IPL, INL, and OPL in participants with a family history and carriers of the ApoE ϵ 4 allele in comparison to the control group (without a family history and non-carriers of the ApoE ϵ 4 allele). This thinning may correspond to early degenerative changes in these layers. These structural changes have been reported in other studies that included participants with preclinical AD and subjective memory complaints. However, in the present study, both groups were made up of cognitively healthy participants with no memory problems, so the changes that appear could be related to very early stages of AD and should be followed to know if they evolve into an preclinical form of AD [24].

There is no consensus regarding the criteria for the inclusion of participants in preclinical AD studies. Although preclinical stages require the presence of at least one biomarker of AD pathology (either Tau pathology (CSF or PET Tau) or amyloid pathology (CSF A β ₄₂ or PET amyloid)) and the absence of clinical signs and symptoms [25], several studies have included participants with subjective memory complaints [20,54,57]. Patients with subjective memory complaints have no objective pathology but achieve worse scores on neuropsychological tests, have a higher incidence of developing future cognitive impairment, and show a pattern of hippocampal atrophy similar to that of amnesic mild cognitive impairment in MRI. In addition, they show an increased activation of cognitive tasks that may represent a compensation for the loss of function analyzed with functional MRI [62].

Another factor to take into account is the wide age range of the subjects. There are studies in which there is a variability of more than 30 years of age between participants from the same sample [60]. In addition, almost all participants are over 60 years old. Advanced age is the greatest risk factor for the development of AD, and after the age of 65, the risk of AD doubles every five years [63], so it is important that preclinical studies are conducted in younger participants, thus identifying which group of individuals could be candidates for early intervention. In parallel, more longitudinal studies are necessary (currently only two are available [20,59]), as these would also allow us to know the evolution of the participants as well as the reliability of OCT in detecting changes in preclinical AD stages.

The ophthalmological inclusion criteria in some studies are not very rigorous, allowing the inclusion of pathologies that may alter OCT measurements. Other pathologies such as hypertension and diabetes may alter OCTA results [57].

The methodological differences between studies make it difficult to define the characteristics and evolution of these patients. An example of this is the variety of ways in which the retina has been studied by OCT. Four studies have analyzed each retinal layer separately [20,22,24,54], while other authors have performed layer complexes or total retinal analysis. Retinal changes in AD can go undetected when the total retinal thickness is analyzed. This is because there are compensatory mechanisms between adjacent retinal layers that can mask both thinning and thickening when the total retinal volume is studied [64]. Therefore, a segmentation and analysis of each layer is necessary to know what is really happening in the preclinical stages of AD.

7. Conclusions

In conclusion, there are very few studies that analyze patients with preclinical AD and very few of a longitudinal nature. Moreover, these studies include participants with memory problems, at very advanced ages, and with ocular and systemic pathologies that could modify the results obtained in OCT and OCTA. Of these studies, only one assessed the genetic risk of the development of Alzheimer-type dementia, with age being one of the most important risk factors. The very low number of participants means that the preclinical AD group is very small, because only 20% of the population had these positive biomarkers. This means that the results found cannot be applied to a general population.

For all these reasons, it would be interesting in future research to increase the number of participants, be more rigorous in the inclusion criteria, include genetic risk parameters

at earlier ages, and exclude ocular and systemic pathologies. Furthermore, it is necessary to carry out longitudinal studies with longer follow-up times to assess the evolution of these subjects. This could provide us, if the results were consistent in repeated studies with the same methodology, with an understanding of the value of the retinal changes observed by OCT/OCTA as possible reliable, cost-effective, and non-invasive biomarkers of preclinical AD.

Author Contributions: Conceptualization, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; Data curation, I.L.-C., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A. and L.S.-P.; Formal analysis, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A. and L.S.-P.; Funding acquisition, R.d.H., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; Investigation, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A. and J.M.R.; Methodology, I.L.-C., E.S.-G., L.E.-H.; Project administration, R.d.H., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; Resources, R.d.H. and A.I.R.; Supervision, R.d.H., A.I.R. and J.M.R.; Validation, I.L.-C. and E.S.-G.; Visualization, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., J.A.F.-A., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; Writing—original draft, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., A.I.R. and J.M.R.; Writing—review and editing, I.L.-C., R.d.H., E.S.-G., L.E.-H., J.A.F.-A., L.S.-P., J.J.S., A.I.R. and J.M.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ophthalmological Network OFTARED (RD16/0008/0005) of the Institute of Health of Carlos III of the Spanish Ministry of Science and Innovation; the Research Network RETIBRAIN (RED2018-102499-T) of the Spanish Ministry of Science and Innovation. I.L.-C. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT42/18-CT43/18) from the Complutense University of Madrid. J.A.F.-A. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (FPU17/01023) from the Spanish Ministry of Science, Innovation, and Universities. The sponsor or funding organization had no role in the design or conduct of this research.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

- Hirtz, D.; Thurman, D.J.; Gwinn-Hardy, K.; Mohamed, M.; Chaudhuri, A.R.; Zalutsky, R. How common are the “common” neurologic disorders? *Neurology* **2007**, *68*, 326–337. [[CrossRef](#)]
- Brookmeyer, R.; Johnson, E.; Ziegler-Graham, K.; Arrighi, H.M. Forecasting the global burden of Alzheimer’s disease. *Alzheimer’s Dement.* **2007**, *3*, 186–191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ghiso, J.A.; Doudevski, I.; Ritch, R.; Rostagno, A.A. Alzheimer’s Disease and Glaucoma: Mechanistic Similarities and Differences. *J. Glaucoma* **2013**, *22*, 36–38. [[CrossRef](#)]
- Cummings, J.L.; Cole, G. Alzheimer disease. *J. Am. Med. Assoc.* **2002**, *287*, 2335–2338. [[CrossRef](#)]
- Serrano-Pozo, A.; Frosch, M.P.; Masliah, E.; Hyman, B.T. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2011**, *1*. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Sperling, R.; Mormino, E.; Johnson, K. The evolution of preclinical Alzheimer’s disease: Implications for prevention trials. *Neuron* **2014**, *84*, 608–622. [[CrossRef](#)]
- Dubois, B.; Feldman, H.H.; Jacova, C.; Hampel, H.; Molinuevo, J.L.; Blennow, K.; Dekosky, S.T.; Gauthier, S.; Selkoe, D.; Bateman, R.; et al. Advancing research diagnostic criteria for Alzheimer’s disease: The IWG-2 criteria. *Lancet Neurol.* **2014**, *13*, 614–629. [[CrossRef](#)]
- Alber, J.; Goldfarb, D.; Hernandez, K.; Cheng, D.; Cordeiro, F.; Van Stavern, G.P.; Snyder, P.J.; Thompson, L.I.; Debuc, D.C.; Arthur, E.; 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 Dement.* **2020**, *16*, 229–243. [[CrossRef](#)]
- Frost, S.; Kanagasigam, Y.; Sohrabi, H.; Vignarajan, J.; Bourgeat, P.; Salvado, O.; Villemagne, V.; Rowe, C.C.; Lance MacAulay, S.; Szoek, C.; et al. Retinal vascular biomarkers for early detection and monitoring of Alzheimer’s disease. *Transl. Psychiatry* **2013**, *3*, e233. [[CrossRef](#)]
- Cheung, C.Y.; Chan, V.T.T.; Mok, V.C.; Chen, C.; Wong, T.Y. Potential retinal biomarkers for dementia: What is new? *Curr. Opin. Neurol.* **2019**, *32*, 82–91. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Aaker, G.D.; Myung, J.S.; Ehrlich, J.R.; Mohammed, M.; Henchcliffe, C.; Kiss, S. Detection of retinal changes in Parkinson’s disease with spectral-domain optical coherence tomography. *Clin. Ophthalmol.* **2010**, *4*, 1427–1432. [[CrossRef](#)]








12. Burkholder, B.M.; Osborne, B.; Loguidice, M.J.; Bisker, E.; Frohman, T.C.; Conger, A.; Ratchford, J.N.; Warner, C.; Markowitz, C.E.; Jacobs, D.A.; et al. Macular volume determined by optical coherence tomography as a measure of neuronal loss in multiple sclerosis. *Arch. Neurol.* **2009**, *66*, 1366–1372. [[CrossRef](#)]
13. Rojas, P.; Ramírez, A.I.; de Hoz, R.; Cadena, M.; Ferreras, A.; Monsalve, B.; Salobar-García, E.; Muñoz-Blanco, J.L.; Urcelay-Segura, J.L.; Salazar, J.J.; et al. Ocular involvement in Friedreich ataxia patients and its relationship with neurological disability, a follow-up study. *Diagnostics* **2020**, *10*, 75. [[CrossRef](#)]
14. Rojas, P.; de Hoz, R.; Ramírez, A.I.; Ferreras, A.; Salobar-García, E.; Muñoz-Blanco, J.L.; Urcelay-Segura, J.L.; Salazar, J.J.; Ramírez, J.M. Changes in retinal OCT and their correlations with neurological disability in early ALS patients, a follow-up study. *Brain Sci.* **2019**, *9*, 337. [[CrossRef](#)]
15. Salobar-García, E.; de Hoz, R.; Ramírez, A.I.; López-Cuenca, I.; Rojas, P.; Vazirani, R.; Amarante, C.; Yubero, R.; Gil, P.; Pinazo-Durán, M.D.; et al. Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0220535. [[CrossRef](#)]
16. Salobar-García, E.; Hoyas, I.; Leal, M.; de Hoz, R.; Rojas, B.; Ramirez, A.I.; Salazar, J.J.; Yubero, R.; Gil, P.; Triviño, A.; et al. Analysis of Retinal Peripapillary Segmentation in Early Alzheimer's Disease Patients. *BioMed Res. Int.* **2015**, *2015*, 636548. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Garcia-Martin, E.S.; Rojas, B.; Ramirez, A.I.; de Hoz, R.; Salazar, J.J.; Yubero, R.; Gil, P.; Triviño, A.; Ramirez, J.M. Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer's disease. *Ophthalmology* **2014**, *121*, 1149–1151.e3. [[CrossRef](#)]
18. Ramirez, A.I.; de Hoz, R.; Salobar-García, E.; Salazar, J.J.; Rojas, B.; Ajoy, D.; López-Cuenca, I.; Rojas, P.; Triviño, A.; Ramírez, J.M. The role of microglia in retinal neurodegeneration: Alzheimer's disease, Parkinson, and glaucoma. *Front. Aging Neurosci.* **2017**, *9*, 214. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Hinton, D.R.; Sadun, A.A.; Blanks, J.C.; Miller, C.A. Optic-Nerve Degeneration in Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* **1986**, *315*, 485–487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Santos, C.Y.; Johnson, L.N.; Sinoff, S.E.; Festa, E.K.; Heindel, W.C.; Snyder, P.J. Change in retinal structural anatomy during the preclinical stage of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2018**, *10*, 196–209. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Asanad, S.; Fantini, M.; Sultan, W.; Nassisi, M.; Felix, C.M.; Wu, J.; Karanjia, R.; Ross-Cisneros, F.N.; Sagare, A.P.; Zlokovic, B.V.; et al. Retinal nerve fiber layer thickness predicts CSF amyloid/tau before cognitive decline. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0232785. [[CrossRef](#)]
22. Kreeke, J.A.; Nguyen, H.; Haan, J.; Konijnenberg, E.; Tomassen, J.; Braber, A.; Kate, M.; Collij, L.; Yaqub, M.; Berckel, B.; et al. Retinal layer thickness in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **2019**, *97*, 798–804. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. O'bryhim, B.; Apte, R.; Kung, N.; Coble, D.; Van Starven, G.P. Association of preclinical Alzheimer disease with optical coherence tomographic angiography findings. *JAMA Ophthalmol.* **2018**, *136*, 1242–1248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. López-Cuenca, I.; de Hoz, R.; Salobar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Rojas, P.; Fernández-Albarral, J.A.; Barabash, A.; Salazar, J.J.; Ramírez, A.I.; Ramírez, J.M. Macular Thickness Decrease in Asymptomatic Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease: An OCT Study. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 1728. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Dubois, B.; Hampel, H.; Feldman, H.H.; Scheltens, P.; Aisen, P.; Andrieu, S.; Bakardjian, H.; Benali, H.; Bertram, L.; Blennow, K.; et al. Preclinical Alzheimer's disease: Definition, natural history, and diagnostic criteria. *Alzheimer's Dement.* **2016**, *12*, 292–323. [[CrossRef](#)]
26. Sperling, R.A.; Aisen, P.S.; Beckett, L.A.; Bennett, D.A.; Craft, S.; Fagan, A.M.; Iwatsubo, T.; Jack, C.R.; Kaye, J.; Montine, T.J.; 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*, 280–292. [[CrossRef](#)]
27. Mattsson, N.; Andreasson, U.; Persson, S.; Carrillo, M.C.; Collins, S.; Chalbot, S.; Cutler, N.; Dufour-Rainfray, D.; Fagan, A.M.; Heegaard, N.H.H.; et al. CSF biomarker variability in the Alzheimer's Association quality control program. *Alzheimer's Dement. J. Alzheimer's Assoc.* **2013**, *9*, 251. [[CrossRef](#)]
28. Leinenbach, A.; Pannee, J.; Dülffer, T.; Huber, A.; Bittner, T.; Andreasson, U.; Gobom, J.; Zetterberg, H.; Koblod, U.; Portelius, E.; et al. Mass Spectrometry-Based Candidate Reference Measurement Procedure for Quantification of Amyloid- β in Cerebrospinal Fluid. *Clin. Chem.* **2014**, *60*, 987–994. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Bittner, T.; Zetterberg, H.; Teunissen, C.E.; Ostlund, R.E.; Militello, M.; Andreasson, U.; Hubeek, I.; Gibson, D.; Chu, D.C.; Eichenlaub, U.; et al. Technical performance of a novel, fully automated electrochemiluminescence immunoassay for the quantitation of β -amyloid (1–42) in human cerebrospinal fluid. *Alzheimer's Dement.* **2016**, *12*, 517–526. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Jack, C.R.; Wiste, H.J.; Weigand, S.D.; Knopman, D.S.; Lowe, V.; Vemuri, P.; Mielke, M.M.; Jones, D.T.; Senjem, M.L.; Gunter, J.L.; et al. Amyloid-first and neurodegeneration-first profiles characterize incident amyloid PET positivity. *Neurology* **2013**, *81*, 1732–1740. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Jansen, W.J.; Ossenkoppele, R.; Knol, D.L.; Tijms, B.M.; Scheltens, P.; Verhey, F.R.J.; Visser, P.J.; Aalten, P.; Aarsland, D.; Alcolea, D.; et al. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: A meta-analysis. *JAMA* **2015**, *313*, 1924–1938. [[CrossRef](#)]
32. Asanad, S.; Ross-Cisneros, F.N.; Barron, E.; Nassisi, M.; Sultan, W.; Karanjia, R.; Sadun, A.A. The retinal choroid as an oculo-vascular biomarker for Alzheimer's dementia: A histopathological study in severe disease. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2019**, *11*, 775–783. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Asanad, S.; Ross-Cisneros, F.N.; Nassisi, M.; Barron, E.; Karanjia, R.; Sadun, A.A. The retina in Alzheimer's disease: Histomorphometric analysis of an ophthalmologic biomarker. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, 1491–1500. [[CrossRef](#)]

34. den Haan, J.; Verbraak, F.D.; Visser, P.J.; Bouwman, F.H. Retinal thickness in Alzheimer's disease: A systematic review and meta-analysis. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2017**, *6*, 162–170. [[CrossRef](#)]
35. Satue, M.; Seral, M.; Otin, S.; Alarcia, R.; Herrero, R.; Bambo, M.P.; Fuertes, M.I.; Pablo, L.E.; Garcia-Martin, E. Retinal thinning and correlation with functional disability in patients with Parkinson's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **2014**, *98*, 350–355. [[CrossRef](#)]
36. Chan, V.T.T.; Sun, Z.; Tang, S.; Chen, L.J.; Wong, A.; Tham, C.C.; Wong, T.Y.; Chen, C.; Ikram, M.K.; Whitson, H.E.; et al. Spectral-Domain OCT Measurements in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Ophthalmology* **2019**, *126*, 497–510. [[CrossRef](#)]
37. Kashani, A.H.; Asanad, S.; Chen, J.; Singer, M.B.; Zhang, J.; Sharifi, M.; Khansari, M.M.; Abdolahi, F.; Shi, Y.; Biffi, A.; et al. Past, present and future role of retinal imaging in neurodegenerative disease. *Prog. Retin. Eye Res.* **2021**. [[CrossRef](#)]
38. Hu, J.; Gottlieb, C.B.; Barajas, D.J.; Barnett, C.J.; Schoenholz, T.; Sadda, S.V.R. Improved repeatability of retinal thickness measurements using line-scan ophthalmoscope image-based retinal tracking. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retin.* **2015**, *46*, 310–314. [[CrossRef](#)]
39. Obis, J.; Garcia-Martin, E.; Orduna, E.; Vilades, E.; Alarcia, R.; Rodrigo, M.J.; Pablo, L.E.; Polo, V.; Larrosa, J.M.; Satue, M. Reproducibility of retinal and choroidal measurements using swept-source optical coherence tomography in patients with Parkinson's disease. *Reprodutibilidade das medições da retina e da coróideia utilizando a tomografia de coerência ótica Swept-Source em pacientes com a doença de Parkinson.* *Arq. Bras. Oftalmol.* **2020**, *83*, 19–27. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Roisman, L.; Goldhardt, R. OCT Angiography: An Upcoming Non-invasive Tool for Diagnosis of Age-Related Macular Degeneration. *Curr. Ophthalmol. Rep.* **2017**, *5*, 136–140. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Coscas, F.; Glacet-Bernard, A.; Miere, A.; Caillaux, V.; Uzzan, J.; Lupidi, M.; Coscas, G.; Souied, E.H. Optical Coherence Tomography Angiography in Retinal Vein Occlusion: Evaluation of Superficial and Deep Capillary Plexa. *Am. J. Ophthalmol.* **2016**, *161*, 160–171.e2. [[CrossRef](#)]
42. Spaide, R.F. Volume-Rendered Optical Coherence Tomography of Diabetic Retinopathy Pilot Study. *Am. J. Ophthalmol.* **2015**, *160*, 1200–1210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Matsunaga, D.; Yi, J.; Puliafito, C.A.; Kashani, A.H. OCT angiography in healthy human subjects. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retin.* **2014**, *45*, 510–515. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Spaide, R.F.; Klancnik, J.M.; Cooney, M.J. Retinal Vascular Layers Imaged by Fluorescein Angiography and Optical Coherence Tomography Angiography. *JAMA Ophthalmol.* **2015**, *133*, 45–50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Tsokolas, G.; Tsaousis, K.T.; Diakonis, V.F.; Matsou, A.; Tyradellis, S. Optical Coherence Tomography Angiography in Neurodegenerative Diseases: A Review. *Eye Brain* **2020**, *12*, 73–87. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Campbell, J.P.; Zhang, M.; Hwang, T.S.; Bailey, S.T.; Wilson, D.J.; Jia, Y.; Huang, D. Detailed Vascular Anatomy of the Human Retina by Projection-Resolved Optical Coherence Tomography Angiography. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 1–11. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Bulut, M.; Kurtuluş, F.; Gözkaya, O.; Erol, M.K.; Cengiz, A.; Akldan, M.; Yaman, A. Evaluation of optical coherence tomography angiographic findings in Alzheimer's type dementia. *Br. J. Ophthalmol.* **2018**, *102*, 233–237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Patton, N.; Aslam, T.; MacGillivray, T.; Pattie, A.; Deary, I.J.; Dhillon, B. Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: A rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. *J. Anat.* **2005**, *206*, 319–348. [[CrossRef](#)]
49. Ramírez, J.M.; Rojas, B.; Gallego, B.I.; García-Martín, E.S.; Triviño, A.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; de Hoz, R. Glia and blood retinal barrier: Effects of ocular hypertension. In *Cardiovascular Disease II*; iConcept Press Ltd.: Hong Kong, China, 2014; pp. 123–162.
50. Berisha, F.; Feke, G.T.; Trempe, C.L.; McMeel, J.W.; Schepens, C.L. Retinal abnormalities in early Alzheimer's Disease. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2007**, *48*, 2285. [[CrossRef](#)]
51. Williams, M.A.; McGowan, A.J.; Cardwell, C.R.; Cheung, C.Y.; Craig, D.; Passmore, P.; Silvestri, G.; Maxwell, A.P.; McKay, G.J. Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2015**, *1*, 229–235. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Spaide, R.F.; Fujimoto, J.G.; Waheed, N.K.; Sadda, S.R.; Staurengi, G. Optical coherence tomography angiography. *Prog. Retin. Eye Res.* **2018**, *64*, 1–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Isas, J.M.; Luitl, V.; Johnson, L.V.; Kaye, R.; Wetzell, R.; Glabe, C.G.; Langen, R.; Chen, J. Soluble and Mature Amyloid Fibrils in Drusen Deposits. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2010**, *51*, 1304–1310. [[CrossRef](#)]
54. Snyder, P.J.; Johnson, L.N.; Lim, Y.Y.; Santos, C.Y.; Alber, J.; Maruff, P.; Fernández, B. Nonvascular retinal imaging markers of preclinical Alzheimer's disease. *Alzheimer's Dement.* **2016**, *4*, 169–178. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Dentchev, T.; Milam, A.H.; Lee, V.M.Y.; Trojanowski, J.Q.; Dunaief, J.L. Amyloid- β is found in drusen from some age-related macular degeneration retinas, but not drusen from normal retinas. *Mol. Vis.* **2003**, *9*, 184–190. [[PubMed](#)]
56. Johnson, L.V.; Leitner, W.P.; Rivest, A.J.; Staples, M.K.; Radeke, M.J.; Anderson, D.H. The Alzheimer's A β -peptide is deposited at sites of complement activation in pathologic deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 11830. [[CrossRef](#)]
57. Golzan, S.M.; Goozee, K.; Georgevsky, D.; Avolio, A.; Chatterjee, P.; Shen, K.; Gupta, V.; Chung, R.; Savage, G.; Orr, C.F.; 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*, 13. [[CrossRef](#)]

58. Asanad, S.; Nassisi, M.; Ross-Cisneros, F.N.; Harrington, M.; Sadun, A.A. Retinal nerve fiber layer thinning in preclinical Alzheimer's disease using in vivo optical coherence tomography: An investigation of early detection ocular biomarkers. *Alzheimer's Dement.* **2018**, *14*, P214–P215. [[CrossRef](#)]
59. Van de Kreeke, J.A.; Nguyen, H.T.; Konijnenberg, E.; Tomassen, J.; den Braber, A.; ten Kate, M.; Yaqub, M.; van Berckel, B.; Lammertsma, A.A.; Boomsma, D.I.; et al. Longitudinal retinal layer changes in preclinical Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol.* **2020**. [[CrossRef](#)]
60. Kreeke, J.A.; Nguyen, H.T.; Konijnenberg, E.; Tomassen, J.; Den Braber, A.; Ten Kate, M.; Yaqub, M.; Van Berckel, B.; Lammertsma, A.A.; Boomsma, D.I.; et al. Optical coherence tomography angiography in preclinical Alzheimer's disease. *Br. J. Ophthalmol.* **2019**, *104*, 157–161. [[CrossRef](#)]
61. Asanad, S.; Felix, C.M.; Fantini, M.; Harrington, M.G.; Sadun, A.A.; Karanjia, R. Retinal ganglion cell dysfunction in preclinical Alzheimer's disease: An electrophysiologic biomarker signature. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 6344. [[CrossRef](#)]
62. Garcia-Ptacek, S.; Eriksson, M.; Jelic, V.; Porta-Etessam, J.; Kåreholt, I.; Manzano Palomo, S. Subjective cognitive impairment: Towards early identification of Alzheimer disease. *Neurología* **2016**, *31*, 562–571. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Guerreiro, R.; Bras, J. The age factor in Alzheimer's disease. *Genome Med.* **2015**, *7*, 1–3. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Jáñez-Escalada, L.; Jáñez-García, L.; Salobrar-García, E.; Santos-Mayo, A.; de Hoz, R.; Yubero, R.; Gil, P.; Ramírez, J.M. Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 1–14. [[CrossRef](#)]

Article

Characterization of Retinal Drusen in Subjects at High Genetic Risk of Developing Sporadic Alzheimer's Disease: An Exploratory Analysis

Inés López-Cuenca ^{1,†} , Elena Salobar-García ^{1,2,†} , Inés Gil-Salgado ¹, Lidia Sánchez-Puebla ¹, Lorena Elvira-Hurtado ¹, José A. Fernández-Albarral ¹ , Federico Ramírez-Toraño ^{3,4}, Ana Barabash ^{5,6,7}, Jaisalmer de Frutos-Lucas ^{3,4,8,9}, Juan J. Salazar ^{1,2} , José M. Ramírez ^{1,10} , Ana I. Ramírez ^{1,2}  and Rosa de Hoz ^{1,2,*} 

- ¹ Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmologic Research, Group UCM 920105, Health Research Institute of the Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain; inelopez@ucm.es (I.L.-C.); elenasalobar@med.ucm.es (E.S.-G.); inegil01@ucm.es (I.G.-S.); lidsan02@ucm.es (L.S.-P.); marelvir@ucm.es (L.E.-H.); joseaf08@ucm.es (J.A.F.-A.); jjsalazar@med.ucm.es (J.J.S.); ramirezsm@med.ucm.es (J.M.R.); airamirez@med.ucm.es (A.I.R.)
 - ² Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Faculty of Optics and Optometry, Complutense University of Madrid, 28037 Madrid, Spain
 - ³ Laboratory of Cognitive and Computational Neuroscience, Center for Biomedical Technology, Technical University of Madrid, 28233 Madrid, Spain; federami@ucm.es (F.R.-T.); jaisamer.defrutos@ctb.upm.es (J.d.F.-L.)
 - ⁴ Department of Experimental Psychology, Universidad Complutense de Madrid, 28223 Madrid, Spain
 - ⁵ Department of Endocrinology and Nutrition, IdISSC, 28040 Madrid, Spain; ana.barabash@gmail.com
 - ⁶ Diabetes and Associated Metabolic Diseases Networking Biomedical Research Centre, Carlos III Health Institute, 28029 Madrid, Spain
 - ⁷ Department of Medicine II, School of Medicine, Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain
 - ⁸ Centre for Precision Health, Edith Cowan University, Joondalup, WA 6027, Australia
 - ⁹ Department of Psychology, Faculty of Life and Nature Sciences, Antonio de Nebrija University, 28015 Madrid, Spain
 - ¹⁰ Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain
- * Correspondence: rdehoz@med.ucm.es
† These authors contributed equally to this work.



Citation: López-Cuenca, I.; Salobar-García, E.; Gil-Salgado, I.; Sánchez-Puebla, L.; Elvira-Hurtado, L.; Fernández-Albarral, J.A.; Ramírez-Toraño, F.; Barabash, A.; de Frutos-Lucas, J.; Salazar, J.J.; et al. Characterization of Retinal Drusen in Subjects at High Genetic Risk of Developing Sporadic Alzheimer's Disease: An Exploratory Analysis. *J. Pers. Med.* **2022**, *12*, 847. <https://doi.org/10.3390/jpm12050847>

Academic Editors: Yousif Subhi and Chiara Villa

Received: 19 April 2022

Accepted: 19 May 2022

Published: 23 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Having a family history (FH+) of Alzheimer's disease (AD) and being a carrier of at least one $\epsilon 4$ allele of the ApoE gene are two of the main risk factors for the development of AD. AD and age-related macular degeneration (AMD) share one of the main risk factors, such as age, and characteristics including the presence of deposits (A β plaques in AD and drusen in AMD); however, the role of apolipoprotein E isoforms in both pathologies is controversial. We analyzed and characterized retinal drusen by optical coherence tomography (OCT) in subjects, classifying them by their AD FH (FH- or FH+) and their allelic characterization of ApoE $\epsilon 4$ (ApoE $\epsilon 4$ - or ApoE $\epsilon 4$ +) and considering cardiovascular risk factors (hypercholesterolemia, hypertension, and diabetes mellitus). In addition, we analyzed the choroidal thickness by OCT and the area of the foveal avascular zone with OCTA. We did not find a relationship between a family history of AD or any of the ApoE isoforms and the presence or absence of drusen. Subjects with drusen show choroidal thinning compared to patients without drusen, and thinning could trigger changes in choroidal perfusion that may give rise to the deposits that generate drusen.

Keywords: Alzheimer's disease; ApoE $\epsilon 4$; family history; hard drusen; OCT; retina; AMD; hypercholesterolemia; hypertension; diabetes mellitus; choroid

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease characterized by cognitive and functional impairment, in which age and genetic predisposition are two of the most important risk factors for its development [1]. One of the pathological features is the formation of extracellular beta-amyloid (A β) plaques and intracellular neurofibrillary tangles in the brains of AD patients [2].

Age-related macular degeneration (AMD) is retinal neurodegeneration that is one of the leading causes of visual impairment and blindness worldwide [3], and it is characterized by abnormal extracellular deposits known as drusen. Hard phenotypes of such deposits are common in older individuals [4] and do not represent a significant risk for developing this eye disease [5].

The prevalence of Alzheimer's increases significantly between the ages of 65 and 85 [6]; coincidentally, AMD is the leading cause of visual impairment after the age of 65 in developed countries [7].

Although both pathologies share one of the main risk factors such as age and features including the presence of deposits (A β plaques in AD and waste substances in AMD) [8], genes such as apolipoprotein E (ApoE) seem to present opposite behaviors in the development of these pathologies. The ApoE gene, which has been implicated in modulating the metabolism and aggregation of A β [9], seems to have completely different responses in AD and AMD. This multifunction protein has three isoforms: ϵ 2, ϵ 3, and ϵ 4. Thus, while the ApoE ϵ 4 allele increases the risk of developing an AD [10], it appears to confer on its carriers a protective effect for the development of AMD [11]. This protective factor seems to act only in the advanced and wet forms of this retinal degeneration [12]. On the contrary, other authors did not find this protective effect for the ϵ 4 allele, even suggesting that the presence of this allele is a risk factor for the development of AMD [13].

The ApoE ϵ 2 allele has been associated with a slightly increased risk of developing late AMD, and an increased risk of disease progression when compared with ϵ 3 carriers [14,15]. However, in a meta-analysis, there is no evidence to support the relationship between ApoE ϵ 2 and AMD [16], and another recent study shows that the ϵ 2 isoform has a protective role in wet forms of the disease [17].

Regarding the ϵ 3 allele, it has been shown in the ApoE ϵ 3 Leiden (E3L) mouse model that it has a hyperlipidemic phenotype with a prominent increase in very-low-density lipoprotein (VLDL) and low-density lipoprotein (LDL) [18], being more sensitive to lipid-lowering drugs than ApoE $^{-/-}$ and LDLr $^{-/-}$ mice [19]. In addition, it has previously been shown that hyperlipidemia alone can cause structural changes in the choroidal and retinal vascular system, which may eventually lead to retinal dysfunction [20]. In fact, in previous work, we have shown that the presence of hard drusen (HD) in subjects without ApoE ϵ 4 carriers and without a family history of AD causes a statistically significant reduction in choroidal thickness when compared with cognitively healthy subject carriers of ApoE ϵ 4 with FH+ [21]. This reduction in choroidal thickness could mean a reduction in blood flow, which is also found in pathologies such as AMD, glaucoma, or diabetic retinopathy [22–24].

The importance of cardiovascular risk factors in the AD onset, including hypertension, hypercholesterolemia, diabetes mellitus [25], obesity, compromised cardiac function, cerebral arterial disease, and physical inactivity, is now well-known [26]. These comorbidities cause thickening and loss of elasticity of the arterial wall and stiffening of the arterial intima leading to lipid accumulation in the artery [27]. In addition, it has been suggested that retinal lesions may reflect persistent small vessel damage due to hypertension and possibly inflammation and endothelial dysfunction [24].

Although some studies have classified drusen according to their morphology or according to their content in relation to other neurodegenerative diseases [4,28,29], to our knowledge, this is the first study that makes a morphological classification of drusen that appears in subjects with high genetic risk of developing AD, i.e., who are carriers of at least one ϵ 4 allele for the ApoE gene and have a family member affected by sporadic AD,

classifying them by the presence of comorbidities such as hypercholesterolemia, arterial hypertension, and diabetes.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

As described in previous works [21,30], this study is part of the project entitled “The cognitive and neurophysiological characteristics of subjects at high risk of developing dementia: a multidimensional approach” (COGDEM study).

Written informed consent was signed by all participants, which followed the principles of the Declaration of Helsinki. The local Ethics Committee of Hospital Clínico San Carlos approved this study with the internal code 18/422-E_BS.

The classification of the subjects is detailed in Figure 1. Firstly, we classified the participants into two study groups: those subjects who had no history of AD (FH-) and those who had at least one parent affected by the disease (FH+) (Figure 1).

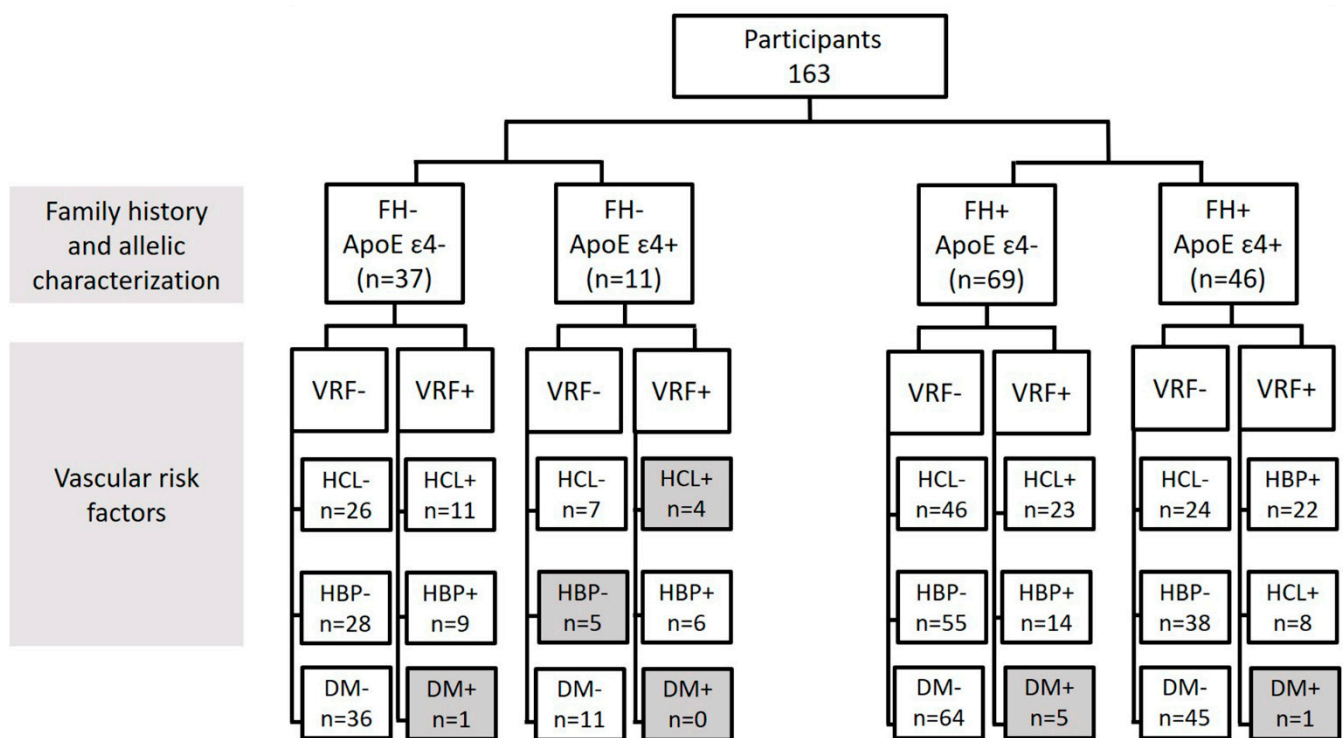


Figure 1. Flow chart of the subjects included in the study according to the different characteristics. (FH, family history; ApoE, apolipoprotein E; VRF, vascular risk factors, HCL, hypercholesterolemia, HBP, high blood pressure; and DM, diabetes mellitus). In gray, the groups discarded for having an $n < 6$ are shown.

Secondly, groups were subdivided according to the genotype for the ApoE gene (ApoE ε4- and ApoE ε4+). In addition, we analyzed the groups, taking into account both alleles to the ApoE gene, with the following groups: ApoE ε2ε2, ApoE ε2ε3, ApoE ε2ε4, ApoE ε3ε3, ApoE ε3ε4, and ApoE ε4ε4 (Figure 1).

Finally, it was further subdivided by also taking into account the vascular risk factors (hypercholesterolemia (HCL), high blood pressure (HBP), and diabetes) (Figure 1). Information on the cardiovascular status of the patients was extracted from a complete anamnesis. Participants were asked if they had and were being treated for HCL, HBP, or diabetes. Due to the detailed classification of the participants, no statistics were performed for groups with fewer than six subjects.

All subjects had a normal score on the Mini-Mental State Examination (MMSE) (above 26), no evidence of brain lesion or pathology, and a normal magnetic resonance image (MRI).

2.2. Ophthalmological Examination

Participants were scheduled by telephone to perform a complete ophthalmological examination in the clinic of the IIORC. During this call, they were screened to check their ophthalmological status. This included questions such as whether they wear glasses and if they know their approximate prescription, if they were under ophthalmic treatment, or if they had had previous eye surgeries. The visual examination included refraction, visual acuity measurement, biomicroscopy, intraocular pressure (IOP) and retinal analysis by optical coherence tomography (OCT), and OCT angiography (OCTA).

Ophthalmological inclusion criteria included a refraction less of ± 5 spherocylindrical diopters, visual acuity > 0.5 dec, IOP < 21 mmHg. In addition, the participants were free of retinal pathology (as hypertensive or diabetic retinopathy) or congenital ocular malformations and did not have glaucoma or were not suspected of having it.

2.3. Drusen Characterization by OCT

OCT images were acquired with a Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). To be included in the study, scans had to be of high quality with a minimum signal-to-noise ratio of 25 and a mean of 16 B-scans.

In these images, drusen were identified as hyperreflective shapes on high reflectance fundus images (HRA) (Figure 2A) and as hyperreflective material located between the basal lamina of the retinal pigment epithelium (RPE) and the inner collagen layer of Bruch's membrane on cross-sectional OCT scans.

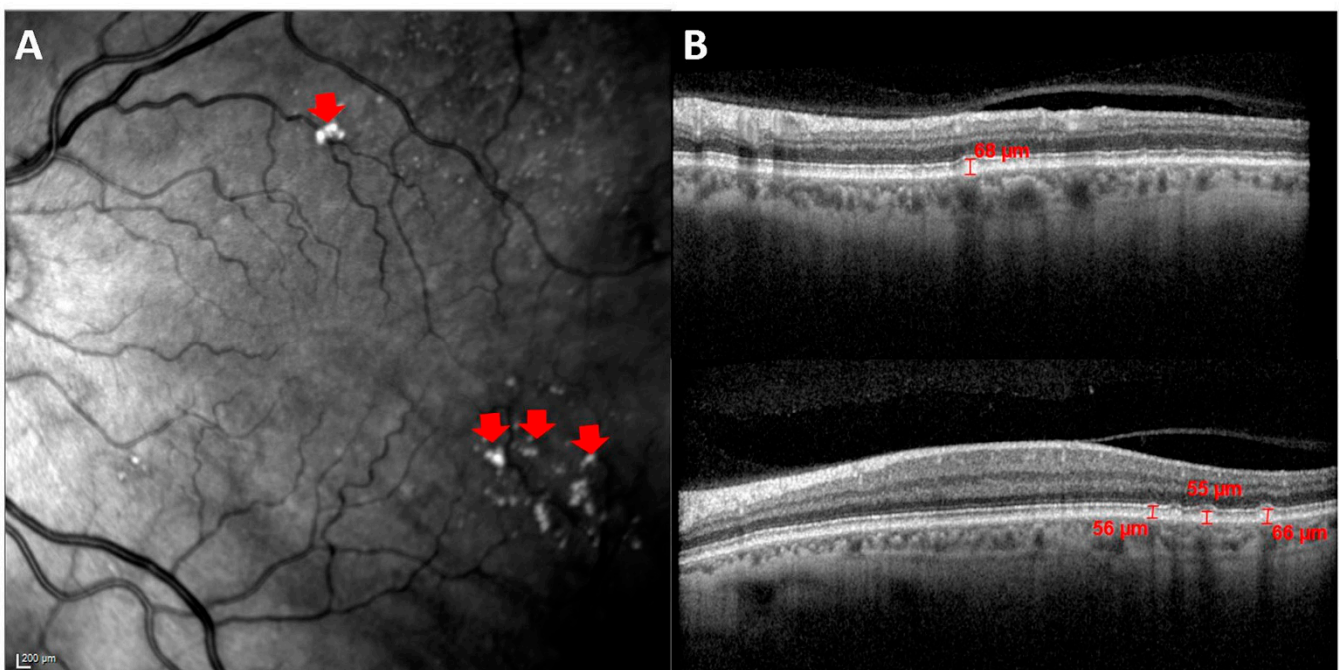


Figure 2. Analysis of drusen by OCT. (A) HRA fundus image. The red arrows show hyperreflective shapes. (B) Cross-sectional OCT scans showing drusen measurements in μm . This accumulation of hyperreflective material is located between the basal lamina of the RPE and the inner collagen layer of Bruch's membrane.

The drusen measurement was carried out with the OCT software. As can be seen in Figure 2B, a vertical line was drawn between the basal lamina of the RPE and the

highest point of the drusen cupule, which coincides with the inner collagen layer of Bruch's membrane.

The classification of these drusen was carried out based on the guidelines of the Protocol for diagnosis, follow-up, and general recommendations in early and intermediate age-related degeneration (AMD): consensus of a panel of experts [31]. Following these guidelines, drusen can be classified according to their arrangement, location, size, and type. A summary of the criteria for the classification of drusen is given in Table 1.

Table 1. Classification of drusen according to the protocol of Ruiz et al. 2016.

Distribution	Location	Drusen Size	Drusen Type
Unilateral	Foveal: located below the fovea	Small ($\leq 63 \mu\text{m}$)	Hard ($< 125 \mu\text{m}$)
Bilateral	Macular: located in the macular area between the vascular arcades	Median (> 65 and $\leq 125 \mu\text{m}$)	Soft ($> 125 \mu\text{m}$)
	Peripheral: located outside the vascular arcades	Large ($> 125 \mu\text{m}$)	
	Macular+peripheral: combination of the above locations		

In all participants we counted the total number of drusen, and the mean measurement was taken as the average of the measurement of different drusen up to a maximum of 10.

We also analyzed the choroidal thickness at 10 points around the fovea with OCT and the foveal avascular zone (FAZ) with OCTA. The choroidal thickness was manually delimited from the outer hyperreflective line to the sclerochoroidal interface of the RPE; for the FAZ, it was also delimited manually. These procedures have been developed and explained in detail in previous works [21,32].

The classification and measurement of drusen, choroidal thickness, and FAZ were performed by the same trained researcher, who is blind to the subject FH or genotype to avoid influence in the measurements.

The colorimetric representation of the choroidal thickness between study groups was created with the color scale function in Microsoft Excel. The values were normalized for this scale. Value 1, in white, was where there was no difference, -0.5 in the blue tone, for thinning of the choroid, and 1.5 with the red tone, when the choroid was thickened. The software provides the color tone directly according to the thickness variation.

2.4. ApoE Genotyping

Genomic DNA was extracted from whole blood in EDTA using standard DNA isolation methods (DNAzol[®]; Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA) from FH+ and FH- subjects. Two single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs7412 and rs429358, were genotyped using TaqMan genotyping assays on an Applied Biosystems 7500 rapid real-time PCR instrument (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Accordingly, ApoE haplotypes were established. Negative sample controls and sample controls for each genotype were included in each assay. Several intra- and interplate duplicates of DNA samples were included.

2.5. Statistical Analysis

Statistical analysis was performed using SPSS 27.0 (SPSS Inc., Inc., Chicago, IL, USA). The differences between study groups were analyzed using the Mann–Whitney U test. Data are expressed as mean \pm standard deviation (SD). A p value < 0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Demographic Data

The patients were aged between 45 and 80, were Caucasian, and had a mean MMSE score of 29.00 ± 0.73 .

Regarding the drusen type, none of the patients presented soft drusen, and only hard drusen were present in the retina of these patients. No patient presented large drusen ($>125 \mu\text{m}$).

Subgroups with $n < 6$ were discarded from the statistical study.

3.2. Characterization of Drusen by Family History

In the FH- group, 63.79% of participants presented hard drusen, while in the FH+ group it was 61.53%. Characteristics of distribution, location, and size of drusen can be observed in Table 2.

Table 2. Characterization of drusen in subjects according to family history of AD and ApoE genotype.

Variables Analyzed	Study Groups	FH-	FH+	p-Value FH- vs. FH+	ApoE $\epsilon 4^-$	ApoE $\epsilon 4^+$	p-Value ApoE $\epsilon 4^-$ vs. ApoE $\epsilon 4^+$	FH- ApoE $\epsilon 4^-$	FH- ApoE $\epsilon 4^+$	FH+ ApoE $\epsilon 4^-$	FH+ ApoE $\epsilon 4^+$
		(n = 58)	(n = 130)		(n = 117)	(n = 58)		(n = 37)	(n = 11)	(n = 69)	(n = 46)
Existence of drusen	YES	37 (63.79%)	80 (61.54%)		72 (61.53%)	36 (62.07%)		22 (59.45%)	7 (63.64%)	44 (63.76%)	28 (60.87%)
	NO	21 (36.21%)	50 (38.46%)		45 (38.47%)	22 (37.95%)		15 (40.55%)	4 (36.36%)	25 (36.24%)	18 (39.13%)
Distribution	Unilateral	11 (29.73%)	41 (50.25%)		33 (45.83%)	15 (41.67%)		5 (22.73%)	1 (14.28%)	24 (54.55%)	13 (46.43%)
	Bilateral	26 (70.27%)	39 (48.75%)		39 (51.17%)	21 (58.33%)		17 (77.27%)	6 (85.72%)	20 (45.45%)	15 (53.57%)
Location	Foveal	0	1 (1.25%)		0	1 (2.77%)		0	0	0	1 (3.57%)
	Macular	5 (13.51%)	17 (21.25%)		13 (18.05%)	8 (22.22%)		2 (9.09%)	1 (14.28%)	10 (22.73%)	6 (21.43%)
	Peripheral	14 (37.83%)	28 (35.00%)		29 (40.27%)	8 (22.22%)		8 (36.36%)	1 (14.28%)	17 (38.64%)	7 (25.00%)
	Macular + Peripheral	18 (48.64%)	34 (42.50%)		30 (41.66%)	19 (52.77%)		12 (54.54%)	5 (71.42%)	17 (38.64%)	14 (50.00%)
Drusen number \pm SD		10.86 \pm 18.24	11.38 \pm 25.14	0.077 ‡	9.99 \pm 20.13	11.36 \pm 22.28	0.950 ‡	8.36 \pm 8.98	24.14 \pm 37.79	11.55 \pm 24.89	8.54 \pm 16.48
Drusen size \pm SD (μm)		59.98 \pm 7.95	61.94 \pm 11.43	0.783 ‡	61.08 \pm 10.40	60.76 \pm 11.05	0.764 ‡	58.42 \pm 7.66	59.31 \pm 6.22	62.00 \pm 11.02	61.22 \pm 12.15
Drusen size classification	Small ($\leq 63 \mu\text{m}$)	26 (70.27%)	52 (65.00%)		48 (66.66%)	26 (72.22%)		17 (77.27%)	5 (71.42%)	27 (61.36%)	20 (71.43%)
	Medium (>65 and $\leq 125 \mu\text{m}$)	11 (29.73%)	18 (35.00%)		24 (33.33%)	10 (27.77%)		5 (22.72%)	2 (28.57%)	17 (38.64%)	8 (28.57%)

Mean \pm SD; ‡ Mann-Whitney U Test, (FH, family history; ApoE, apolipoprotein E; SD, standard deviation).

When we compared the drusen number and size between groups, we found no statistically significant differences ($p > 0.05$) (Table 2).

3.3. Characterization of Drusen by ApoE Genotype

The presence of hard drusen in the ApoE $\epsilon 4^-$ group was detected in 61.53% of the subjects and in the ApoE $\epsilon 4^+$ group in 62.07%. There is no difference in drusen number and size between groups. Details of drusen distribution, location, number, and size can be found in Table 2.

When we analyzed the two alleles for the ApoE gene, we classified the subjects into the following groups: ApoE $\epsilon 2\epsilon 2$ ($n = 1$), ApoE $\epsilon 2\epsilon 3$ ($n = 9$), ApoE $\epsilon 2\epsilon 4$ ($n = 2$), ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$ ($n = 107$), ApoE $\epsilon 3\epsilon 4$ ($n = 51$), and ApoE $\epsilon 4\epsilon 4$ ($n = 6$).

The presence of drusen according to the allelic characterization was: (i) 64.48% in ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$ and (ii) 62.74% in ApoE $\epsilon 3\epsilon 4$. Details of drusen distribution, location, number, and size can be found in Table 3.

When we compared the mean number and size of drusen between the ApoE $\epsilon 3\epsilon 3$ vs. ApoE $\epsilon 3\epsilon 4$ groups, we found no statistically significant differences ($p > 0.05$) (Table 3).

Table 3. Characterization of drusen in subjects according to ApoE genotype.

Variables Analyzed	Study Groups	ApoE ε3ε3	ApoE ε3ε4	p-Value
		(n = 107)	(n = 51)	
Existence of drusen	YES	69 (64.48%)	32 (62.74%)	
	NO	38 (35.52%)	19 (37.26%)	
Distribution	Unilateral	32 (46.37%)	16 (50.00%)	
	Bilateral	37 (53.62%)	16 (50.00%)	
Location	Foveal	0	1 (3.13%)	
	Macular	13 (18.84%)	8 (25.00%)	
	Peripheral	27 (39.13%)	8 (25.00%)	
	Macular + Peripheral	29 (42.03%)	15 (46.88%)	
Drusen number ± SD		10.30 ± 20.51	10.94 ± 23.32	0.438
Drusen size ± SD (µm)		60.76 ± 10.32	61.77 ± 11.99	0.949
Drusen size classification	Small (≤63 µm)	47 (98.12%)	22 (68.75%)	
	Medium (>65 and ≤125 µm)	22 (31.88%)	10 (32.25%)	

Mean ± SD; (ApoE, apolipoprotein E; SD, standard deviation).

3.4. Characterization of Drusen by Family History and ApoE Genotype

No statistically significant differences ($p > 0.05$) were found in the mean number of drusen or the mean size of drusen when compared between the study groups (Supplementary Materials Table S1).

3.5. Characterization of Drusen by Family History, ApoE Genotype, and Vascular Risk Factors

Taking into account the classification of FH and ApoE genotype, the following vascular risk factors were analyzed: (i) HCL; (ii) HPB; (iii) diabetes mellitus.

3.5.1. Hypercholesterolemia (HCL)

We found no statistically significant differences ($p > 0.05$) in the presence, distribution, and location of drusen within these study groups (Table 4).

Table 4. Characterization of drusen by FH, ApoE genotype, and HCL.

		FH- ApoE ε4- HCL-	FH- ApoE ε4- HCL+	FH- ApoE ε4+ HCL-	FH+ ApoE ε4- HCL-	FH+ ApoE ε4+ HCL+	FH+ ApoE ε4+ HCL-	FH+ ApoE ε4+ HCL+
		(n = 26)	(n = 11)	(n = 7)	(n = 46)	(n = 23)	(n = 24)	(n = 22)
Existence of drusen	YES	17 (65.38%)	5 (45.45%)	5 (71.43%)	29 (63.04%)	15 (65.22%)	15 (62.50%)	13 (59.09%)
	NO	9 (34.62%)	6 (54.55%)	2 (28.57%)	17 (36.96%)	8 (34.78%)	9 (37.5%)	9 (40.91%)
Distribution	Unilateral	5 (29.41%)	0	1 (20.00%)	15 (51.73%)	9 (60.00%)	8 (53.33%)	5 (38.46%)
	Bilateral	12 (70.59%)	5 (100%)	4 (80.00%)	14 (48.28%)	6 (40.00%)	7 (46.67%)	8 (61.54%)
Location	Foveal	0	0	0	0	0	0	1 (7.69%)
	Macular	1 (5.88%)	1 (20.00%)	1 (20.00%)	5 (17.24%)	5 (33.33%)	5 (33.33%)	1 (7.69%)
	Peripheral	8 (47.06%)	0	1 (20.00%)	12 (41.38%)	5 (33.33%)	4 (26.67%)	3 (23.08%)
	Macular + Peripheral	8 (47.06%)	4 (80.00%)	3 (60.00%)	12 (41.38%)	5 (33.33%)	6 (40.00%)	8 (61.54%)
Drusen number ± SD		12.53 ± 31.84	12.80 ± 11.99	24.60 ± 45.73	15.14 ± 30.00	4.60 ± 5.03	4.67 ± 3.44	13.00 ± 23.60
Drusen size ± SD (µm)		65.42 ± 10.74	61.59 ± 9.57	57.92 ± 7.30	61.73 ± 12.20	62.51 ± 8.64	59.05 ± 9.81	63.73 ± 14.38
Drusen size classification	Small (≤63 µm)	9 (52.94%)	3 (60.00%)	4 (80.00%)	19 (65.52%)	8 (53.33%)	12 (80.00%)	8 (61.54%)
	Medium (>65 and ≤125 µm)	8 (47.06%)	2 (40.00%)	1 (20.00%)	10 (34.48%)	7 (46.67%)	3 (20.00%)	5 (38.46%)

Mean ± SD; (FH, family history; ApoE: apolipoprotein E; HCL: hypercholesterolemia SD: standard deviation).

Although there were no significant differences, the group with the greatest drusen number was FH- ApoE ε4+ HCL- (71.43%), followed by FH- ApoE ε4- HCL- (65.38%), and the group with the lowest percentage of drusen was FH- ApoE ε4- HCL+, with 45.45% (Table 4).

In addition, when we compared the drusen number between groups, there was statistical significance ($p < 0.05$) between the FH- ApoE ε4- HCL+ group (12.80 ± 11.99) and (i) FH+ ApoE ε4- HCL+ (4.60 ± 5.03) (p -value = 0.038) and (ii) FH+ ApoE ε4+ HCL- (4.67 ± 3.44) (p -value = 0.025) (Table 5). When we compared the mean drusen size between groups, we found no statistically significant differences (Table 5).

Table 5. p -value of drusen number and size between study groups based on family history, ApoE ε4- or ApoE ε4+ genotype, and hypercholesterolemia. Based on Mann–Whitney U Test.

		Drusen Size						
		FH- ApoE ε4- HCL-	FH- ApoE ε4- HCL+	FH- ApoE ε4+ HCL-	FH+ ApoE ε4- HCL-	FH+ ApoE ε4- HCL+	FH+ ApoE ε4+ HCL-	FH+ ApoE ε4+ HCL+
Drusen number	FH- ApoE ε4- HCL-		0.481	0.845	0.509	0.113	0.895	0.451
	FH- ApoE ε4- HCL+	0.070		0.465	0.903	0.600	0.631	0.921
	FH- ApoE ε4+ HCL-	0.723	0.463		0.808	0.238	0.662	0.522
	FH+ ApoE ε4- HCL-	0.731	0.096	0.922		0.480	0.683	0.817
	FH+ ApoE ε4- HCL+	0.143	0.038 *	0.559	0.255		0.300	0.678
	FH+ ApoE ε4+ HCL-	0.447	0.025 *	0.930	0.708	0.556		0.765
	FH+ ApoE ε4+ HCL+	0.758	0.092	0.881	0.934	0.362	0.626	

Mann–Whitney U Test, * $p < 0.05$.

In these study groups, we had analyzed choroidal thickness and found statistically significant differences ($p < 0.05$) between FH+ ApoE ε4- HCL+ with hard drusen (HD+) and FH+ ApoE ε4- HCL+ without hard drusen (HD-) at different points of the choroid. Details can be seen in Figure 3.

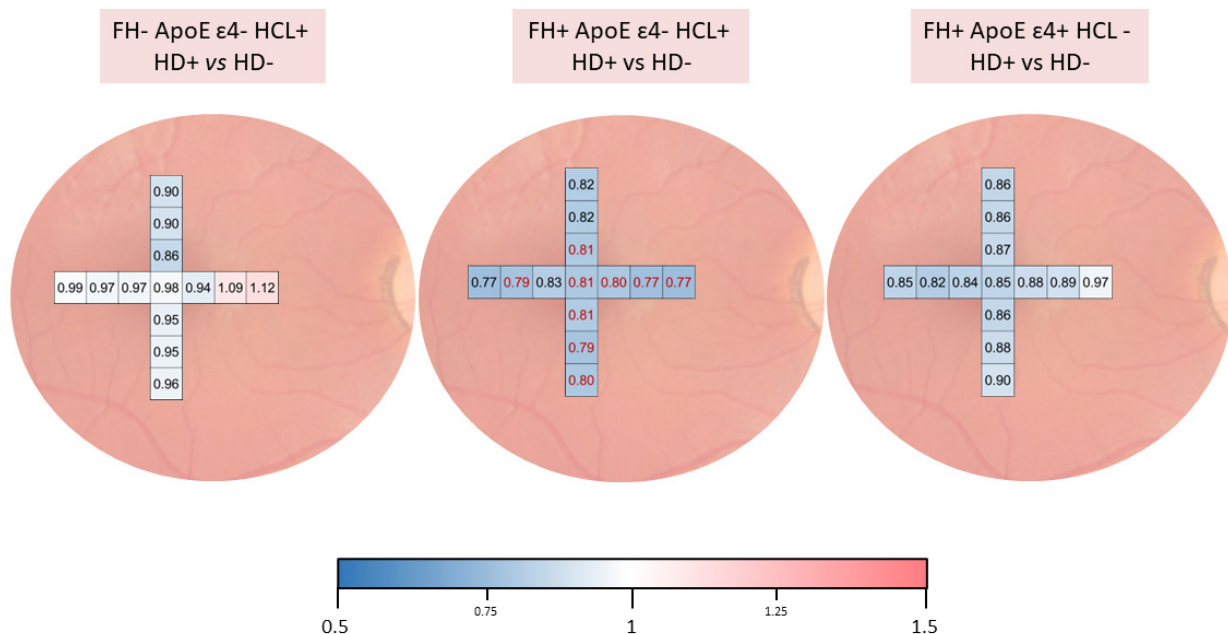


Figure 3. Colorimetric representation of choroidal thickness analysis at different points between participants with and without drusen in FH-ApoE ε4- HCL+, FH+ ApoE ε4- HCL+, and FH+ ApoE ε4+ HCL-. Thinning is shown in shades of blue, while thickening is shown in red tones.

When we analyzed the FAZ, both superficial and deep plexus, we found no statistically significant differences.

3.5.2. Hypertension

The characteristics of the study groups are shown in Table 6.

Table 6. Characterization of drusen by FH, ApoE genotype, and HBP.

		FH- ApoE ε4- HBP-	FH- ApoE ε4- HBP+	FH- ApoE ε4+ HBP+	FH+ ApoE ε4- HBP-	FH+ ApoE ε4- HBP+	FH+ ApoE ε4+ HBP-	FH+ ApoE ε4+ HBP+
		(n = 28)	(n = 9)	(n = 6)	(n = 55)	(n = 14)	(n = 38)	(n = 8)
Existence of drusen	YES	17 (47.22%)	5 (55.55%)	4 (66.67%)	34 (61.82%)	10 (71.43%)	22 (57.89%)	6 (75%)
	NO	11 (52.78%)	4 (44.45%)	2 (33.33%)	21 (38.18%)	4 (28.57%)	16 (42.11%)	2 (25%)
Distribution	Unilateral	5 (29.41%)	0	1 (25.00%)	20 (58.82%)	4 (40.00%)	10 (45.45%)	3 (50.00%)
	Bilateral	12 (70.59%)	5 (100%)	3 (75.00%)	14 (41.17%)	6(60.00%)	12 (54.55%)	3 (50.00%)
Location	Foveal	0	0	0	0	0	0	1 (16.67%)
	Macular	1 (5.88%)	1 (20.00%)	1 (25.00%)	7 (20.59%)	3 (30.00%)	5 (22.73%)	1 (16.67%)
	Peripheral	8 (47.06%)	0	0	14 (41.18%)	3 (30.00%)	5 (22.73%)	2 (33.33%)
	Macular + Peripheral	8 (47.06%)	4 (80.00%)	3 (75.00%)	13 (38.24%)	4 (40.00%)	12 (54.55%)	2 (33.33%)
Drusen number ± SD		5.59 ± 3.69	17.80 ± 15.00	38.25 ± 47.06	12.24 ± 27.49	9.20 ± 13.44	10.14 ± 18.24	2.67 ± 1.37
Drusen size ± SD (µm)		58.42 ± 8.43	58.44 ± 4.89	61.15 ± 7.55	61.76 ± 12.24	62.81 ± 5.38	62.19 ± 12.34	57.68 ± 11.74
Drusen size classification	Small (≤63 µm)	13 (76.47%)	4 (80.88%)	2 (50.00%)	23 (67.65%)	4 (40.00%)	16 (72.73%)	4 (66.67%)
	Medium (>65 and ≤125 µm)	4 (23.53%)	1 (20.00%)	2 (50.00%)	11 (32.35%)	6 (60.00%)	6 (27.27%)	2 (33.33%)

Mean ± SD; (FH, family history; ApoE, apolipoprotein E; HCL, hypercholesterolemia; HBP, high blood pressure; SD, standard deviation).

There were no significant differences between drusen presence distribution and location between groups. The groups with a greater number of subjects with drusen were FH+ ApoE ε4+ HBP+ (75%), and FH+ ApoE ε4- HBP+ (71.43%) and the group with less presence of drusen was FH- ApoE ε4- HBP- (47.22%) (Table 6).

Comparing the drusen number between the study groups, we found statistically significant differences when comparing the FH- ApoE ε4- HBP- group (5.59 ± 3.69) and the FH+ ApoE ε4+ HBP+ group (2.67 ± 1.37) (*p* = 0.041). We also found statistically significant differences in the number of drusen when comparing the FH- ApoE ε4- HBP+ group (17.80 ± 15.00) with: (i) FH+ ApoE ε4- HBP- group (12.24 ± 27.49) (*p*-value 0.040); and (ii) FH+ ApoE ε4+ HBP+ group (2.67 ± 1.37) (*p*-value 0.016) (Tables 6 and 7). When we compared the drusen size between the study groups we found no statistically significant differences (*p* > 0.05) (Table 7).

Table 7. *p*-value of the number of drusen between the study groups according to FH, ApoE ε4- or ApoE ε4+ genotype, and HBP. Mann Whitney U test.

		Drusen Size					
		FH- ApoE ε4- HBP-	FH- ApoE ε4- HBP+	FH+ ApoE ε4- HBP-	FH+ ApoE ε4- HBP+	FH+ ApoE ε4+ HBP-	FH+ ApoE ε4+ HBP+
Drusen number	FH- ApoE ε4- HBP-		0.969	0.617	0.113	0.479	0.529
	FH- ApoE ε4- HBP+	0.054		0.867	0.086	0.901	0.584
	FH+ ApoE ε4- HBP-	0.268	0.040 *		0.287	0.775	0.363
	FH+ ApoE ε4- HBP+	0.820	0.139	0.543		0.329	0.233
	FH+ ApoE ε4+ HBP-	0.989	0.079	0.314	0.790		0.240
	FH+ ApoE ε4+ HBP+	0.041 *	0.016 *	0.420	0.249	0.080	

Mann-Whitney U Test, * *p* < 0.05.

3.5.3. Diabetes Mellitus

The characteristics of the study groups are shown in Table 8. When we compared the groups in terms of size and number of drusen, no statistically significant differences were found (*p* > 0.05) (Supplementary Materials Table S2).

Table 8. Characterization of drusen by family history, ApoE genotype, and diabetes mellitus.

		FH- ApoE ε4- DM-	FH- ApoE ε4+ DM-	FH+ ApoE ε4- DM-	FH+ ApoE ε4+ DM-
		(n = 36)	(n = 11)	(n = 64)	(n = 45)
Existence of drusen	YES	21 (58.33%)	7 (63.64%)	41 (64.06%)	27 (60.00%)
	NO	15 (41.67%)	4 (36.36%)	23 (35.94%)	18 (30%)
Distribution	Unilateral	5 (23.81%)	1 (14.29%)	22 (53.66%)	13 (48.15%)
	Bilateral	16 (76.19%)	6 (85.71%)	19 (46.34%)	14 (51.85%)
Location	Foveal	0	0	0	1 (3.70%)
	Macular	1 (4.76%)	1 (14.29%)	9 (21.95%)	6 (22.22%)
	Peripheral	8 (38.10%)	1 (14.29%)	16 (39.02%)	7 (25.93%)
	Macular + Peripheral	12 (57.14%)	5 (71.43%)	16 (39.02%)	13 (48.15%)
Drusen number ± SD		7.14 ± 7.09	24.14 ± 37.78	12.10 ± 25.70	8.63 ± 16.79
Drusen size ± SD (µm)		58.34 ± 7.84	59.31 ± 6.62	61.89 ± 11.30	60.83 ± 12.20
Drusen size classification	Small (≤63 µm)	16 (76.19%)	5 (71.43%)	26 (63.41%)	20 (74.07%)
	Medium (>65 and ≤125 µm)	5 (23.81%)	2 (28.57%)	15 (36.59%)	7 (25.93%)

Mean ± SD; (FH, family history; ApoE, apolipoprotein E; DM, diabetes mellitus; SD, standard deviation).

4. Discussion

In this study of subjects at high genetic risk of developing AD, we carried out a strict characterization of retinal drusen, considering different classifications in relation to the different risk factors of the subjects under study: family history of AD; genetic characterization for ApoE; and cardiovascular risk factors such as HCL, arterial hypertension, and diabetes mellitus.

The first thing to note in this study population is that none of the participants had soft drusen. This is due to the strict selection of the study population and the inclusion criteria of the study, in which the subjects should not present macular structural modifications. The presence of drusen and AMD has been associated with AD in previous studies [33,34]. This is because the pathogenesis of both chronic neurodegenerative disorders shows some striking similarities, such as their relationship with aging, their unknown etiology, and, more specifically, the presence of senile plaques (extracellular with an inner core of Aβ peptide fibers) in both the cerebral grey matter and the retina [35]. Drusen may contain a large number of Aβ structures, with diameters varying between 0.25 and 10 µm and highly organized concentric layers when viewed under an electron microscope, or none at all [28]. In addition, Aβ is involved in complement activation in the drusen formation [5]. Aβ oligomers found in drusen are toxic to human retinal pigment epithelium and cultured SH-SY5Y human neuroblastoma cells [29], and these findings are consistent with studies in patients with early AD, where large amounts of these highly toxic oligomers are found in the brain, causing neuronal dysfunction and synaptic disruption [36]. This could explain the possible alterations found in both the retina and choroid of subjects at high genetic risk of developing AD, who are also part of this study, and which we have reported in a previous work [21,30]. We have also demonstrated these alterations in the retina of a murine model of preclinical AD [37]. All these findings support the idea that the changes produced by AD may appear early in the retina, even before the onset of brain alterations [38].

The high heritability of AD is well known [39], and first-degree family history is associated with an increased risk of developing this disease [40–43]. Although a relationship between AD and the presence of drusen has been reported [44,45], in the present study, there does not seem to be a relationship between family history of AD and the presence or absence of drusen. Furthermore, when we compared the number of drusen and their size between FH- and FH+, we found no significant differences.

A protective role of ApoE ε4 in relation to the development of AMD has been suggested. There are two hypotheses to explain this effect. The first is the absence of disulfide bridges in ApoE ε4, which makes it smaller in size and more easily transportable across Bruch’s membrane. The second hypothesis is that ApoE ε4 has a positive charge, which

decreases the hydrophobicity of Bruch's membrane and facilitates debris removal [46]. We found no statistically significant differences in the presence or absence of drusen, with respect to ApoE allelic characterization. However, our participants have hard drusen, and we do not know if they will develop AMD in the future, despite having at least one $\epsilon 4$ allele.

Non-genetic risk factors have been shown to play an important role in the development of AD, and it is likely that the interaction between genetic and environmental factors triggers the onset of pathophysiological events that ultimately lead to the development of this neurodegenerative disease [34]. There seems to be a relationship between the accumulation of cardiovascular risk factors, such as HCL, HBP, and diabetes, with age [47] and the risk of developing AD [25,26].

When analyzing the drusen's features by family history, ApoE alleles, and the presence or absence of HCL, we found that there were statistically significant differences in the drusen number between the groups. In addition, when we studied the choroidal thickness, we found that participants with drusen have thinner choroids than subjects without drusen, which was statistically significant in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ - HCL+ HD+ group. This suggests that the presence of HCL along with the absence of $\epsilon 4$ in ApoE characterization could produce a decrease in choroidal thickness possibly caused by decreased perfusion and could ultimately lead to drusen formation. This may be because the increased risk conferred by the $\epsilon 2$ and, to a lesser extent, $\epsilon 3$ alleles, is compounded by the formation of atheroma plaques and accumulation of lipid deposits in the eye caused by high levels of VLDL in the blood. It is not known whether the formation of these drusen is caused by changes in the outer retina due to metabolic stress associated with fatty acid metabolism or from perfusion changes in the choroid due to arteriosclerosis [48]. Changes in Bruch's membrane, the RPE, and retinal layers, as well as vascular alterations, would be responsible for chronic ischemia [7], which could increase the concentration of extracellular glutamate, leading to oxidative damage by a neuronal cytotoxic mechanism [49,50].

On the other hand, lipid deposits in a disrupted Bruch's membrane create a hydrophobic barrier which obstructs the metabolic exchange between the choriocapillaris and the RPE [7,51]. This situation may contribute to the reduced supply of nutrients and oxygen to the retina, a situation that may play a pathogenic role in the development of AMD [52]. Previous studies have also shown that RPE cells secrete ApoE in response to various hormones and that it is related to HDL. This suggests a possible role for ApoE in AMD pathology related to retinal lipid trafficking [53]. Although the HCL subjects were treated pharmacologically, we know from previous studies that normalization of lipid levels is not followed by complete recovery of normal retinal histology [22] and that the remaining retinal changes are mainly due to chronic sustained ischemia caused by alterations in retinal vessels, Bruch's membrane, and the RPE [51]. These ischemic situations have a detrimental impact on the retinal neurons [51].

In addition, we found no statistically significant differences in the FAZ in the different study groups. These findings support those presented in a previous work, where no alterations in retinal vascular flow were found in subjects at high genetic risk of developing AD [21]. In patients with established AD, but in early stages of AD, no changes were found in the FAZ or in the percentage of oxyhemoglobin measured in the optic nerve head, demonstrating that the choroidal vascular plexus is affected early, even preclinically, in AD and the retinal plexus is affected in advanced stages of the disease [32].

When we analyzed subjects in relation to HBP, we found that subjects of the FH- ApoE $\epsilon 4$ - HBP- group had a higher number of drusen than the FH+ ApoE $\epsilon 4$ + HBP+ group. Thus, there does not appear to be a relationship between drusen and the blood pressure level of the participants, which again highlights the importance of the presence of $\epsilon 2$ and $\epsilon 3$ alleles with the presence of drusen in the retina. One possible explanation is that the study subjects had their blood pressure levels controlled by drug treatment and were, therefore, at normal levels.

We could not associate the presence of diabetes mellitus with the presence of drusen due to the small number of subjects with this pathology in our study groups.

The present work has limitations and strengths. It is the first study to characterize drusen in cognitively healthy participants with two well-defined risk factors for the development of AD. In addition, these patients are carefully classified based on family history, characterization for ApoE, and cardiovascular risk factors that may influence the development of retinal ischemia.

Because this is one of the first exploratory examinations in this healthy population at high genetic risk for the development of sporadic AD, we decided to be more flexible with the problem of multiple comparisons. We believe that these results may serve as a first step or guide for new hypotheses and future studies that validate our results and may reveal new biomarkers for AD.

5. Conclusions

In conclusion, there does not seem to be a relationship between FH of AD or any of the ApoE isoforms and the presence or absence of drusen. Subjects with drusen show choroidal thinning compared to patients without drusen, reaching statistical significance in the group of participants with an FH of AD, without ApoE ϵ 4, and with HCL. This thinning could trigger changes in choroidal perfusion that may give rise to the deposits that generate drusen.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jpm12050847/s1>, Table S1: *p*-value of drusen number and size groups characterized by history family and ApoE ϵ 4 genotype. Mann–Whitney U test; Table S2: *p*-value of drusen number and size groups characterized by history family, ApoE ϵ 4 genotype, and diabetes mellitus. Mann–Whitney U test.

Author Contributions: Conceptualization, I.L.-C., E.S.-G., J.J.S., J.M.R., A.I.R. and R.d.H.; data curation, I.L.-C., E.S.-G., I.G.-S., L.S.-P., J.A.F.-A., L.E.-H., A.B., F.R.-T. and J.d.F.-L.; formal analysis, I.L.-C., E.S.-G., I.G.-S., L.S.-P., J.A.F.-A., L.E.-H., F.R.-T., J.d.F.-L. and R.d.H.; funding acquisition, J.J.S., J.M.R., A.I.R. and R.d.H.; investigation, I.L.-C., E.S.-G., I.G.-S., L.S.-P., J.A.F.-A., L.E.-H. and J.M.R.; methodology, I.L.-C., E.S.-G., L.S.-P., L.E.-H., A.B., F.R.-T., J.d.F.-L. and A.I.R.; project administration, R.d.H., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; resources, R.d.H. and A.I.R.; supervision, R.d.H., J.J.S. and J.M.R.; validation, I.L.-C., E.S.-G., A.B., J.J.S., J.M.R. and A.I.R.; visualization, I.L.-C., E.S.-G., J.A.F.-A., J.J.S., J.M.R.; A.I.R. and R.d.H., writing—original draft, I.L.-C., E.S.-G., J.M.R.; A.I.R. and R.d.H., writing—review and editing, I.L.-C., E.S.-G., I.G.-S., L.S.-P., L.E.-H., J.A.F.-A., A.B., F.R.-T., J.d.F.-L., J.J.S., J.M.R., R.d.H. and A.I.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ophthalmological Network OFTARED (RD16/0008/0005) of the Institute of Health of Carlos III of the Spanish Ministry of Science and Innovation; the Research Network RETIBRAIN (RED2018-102499-T) of the Spanish Ministry of Science and Innovation; and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Grant PSI2015-68793-C3-1-R). I.L.-C. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT42/18-CT43/18) from the Complutense University of Madrid. J.A.F.-A. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (FPU17/01023) from the Spanish Ministry of Science, Innovation, and Universities. L.S.-P. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT82/20-CT83/20) from the Complutense University of Madrid. The sponsor or funding organization had no role in the design or conduct of this research. Approval date: 17 December 2018.

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the local ethics committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS (accepted 17 December 2018).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Yadav, M.; Pandey, P.; Sharma, P. Understanding the Genetic, Molecular, and Cellular Basis of Ageing as the Biggest Risk Factor of Alzheimer's Disease. *Eur. J. Biol. Res.* **2022**, *12*, 62–76.
2. Su, L.; Li, R.; Zhang, Z.; Liu, J.; Du, J.; Wei, H. Identification of Altered Exosomal MicroRNAs and MRNAs in Alzheimer's Disease. *Ageing Res. Rev.* **2022**, *73*, 101497. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Li, J.Q.; Welchowski, T.; Schmid, M.; Mauschitz, M.M.; Holz, F.G.; Finger, R.P. Prevalence and Incidence of Age-Related Macular Degeneration in Europe: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Br. J. Ophthalmol.* **2020**, *104*, 1077–1084. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Mullins, R.F.; Hageman, G.S. Human Ocular Drusen Possess Novel Core Domains with a Distinct Carbohydrate Composition. *J. Histochem. Cytochem.* **1999**, *47*, 1533–1539. [[CrossRef](#)]
5. Johnson, L.V.; Leitner, W.P.; Rivest, A.J.; Staples, M.K.; Radeke, M.J.; Anderson, D.H. The Alzheimer's A β -Peptide Is Deposited at Sites of Complement Activation in Pathologic Deposits Associated with Aging and Age-Related Macular Degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 11830. [[CrossRef](#)]
6. Sloane, P.D.; Zimmerman, S.; Suchindran, C.; Reed, P.; Wang, L.; Boustani, M.; Sudha, S. The Public Health Impact of Alzheimer's Disease, 2000-2050: Potential Implication of Treatment Advances. *Annu. Rev. Public Health* **2002**, *23*, 213–231. [[CrossRef](#)]
7. Triviño, A.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; Rojas, B.; de Hoz, R.; Ramírez, J.M. Retinal Changes in Age-Related Macular Degeneration. In *Focus on Eye Research*; Ioseliani, O.R., Ed.; Nova Science Publishers: New York, NY, USA, 2005; pp. 1–37. ISBN 1594544344.
8. Ashok, A.; Singh, N.; Chaudhary, S.; Bellamkonda, V.; Kritikos, A.E.; Wise, A.S.; Rana, N.; McDonald, D.; Ayyagari, R. Retinal Degeneration and Alzheimer's Disease: An Evolving Link. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 7290. [[CrossRef](#)]
9. Poirier, J.; Bertrand, P.; Poirier, J.; Kogan, S.; Gauthier, S.; Poirier, J.; Gauthier, S.; Davignon, J.; Bouthillier, D.; Davignon, J. Apolipoprotein E Polymorphism and Alzheimer's Disease. *Lancet* **1993**, *342*, 697–699. [[CrossRef](#)]
10. Bendlin, B.B.; Carlsson, C.M.; Gleason, C.E.; Johnson, S.C.; Sodhi, A.; Gallagher, C.L.; Puglielli, L.; Engelman, C.D.; Ries, M.L.; Xu, G.; et al. Midlife Predictors of Alzheimer's Disease. *Maturitas* **2010**, *65*, 131–137. [[CrossRef](#)]
11. McKay, G.J.; Patterson, C.C.; Chakravarthy, U.; Dasari, S.; Klaver, C.C.; Vingerling, J.R.; Ho, L.; de Jong, P.T.V.M.; Fletcher, A.E.; Young, I.S.; et al. Evidence of Association of APOE with Age-Related Macular Degeneration—A Pooled Analysis of 15 Studies. *Hum. Mutat.* **2011**, *32*, 1407–1416. [[CrossRef](#)]
12. Viturino, M.G.M.; Neto, J.M.; Bajano, F.F.; Costa, S.M.S.; Roque, A.B.; Borges, G.F.S.; Ananina, G.; Rim, P.H.H.; Medina, F.M.; Costa, F.F.; et al. Evaluation of APOE Polymorphisms and the Risk for Age-Related Macular Degeneration in a Southeastern Brazilian Population. *Exp. Biol. Med.* **2021**, *246*, 1148–1155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Asensio-Sánchez, V.M.; Rodríguez-Martín, T.; Gala-Molina, I.; Rodríguez-Fernández, I. Age-Related Macular Degeneration: Its Association with the E4 Allele of the Apolipoprotein E Gene. *Arch. Soc. Esp. Ophthalmol.* **2006**, *81*, 9–12. [[PubMed](#)]
14. Baird, P.N.; Richardson, A.J.; Robman, L.D.; Dimitrov, P.N.; Tikellis, G.; McCarty, C.A.; Guymer, R.H. Apolipoprotein (APOE) Gene Is Associated with Progression of Age-Related Macular Degeneration (AMD). *Hum. Mutat.* **2006**, *27*, 337–342. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Shen, L.; Hoffmann, T.J.; Melles, R.B.; Sakoda, L.C.; Kvale, M.N.; Banda, Y.; Schaefer, C.; Risch, N.; Jorgenson, E. Differences in the Genetic Susceptibility to Age-Related Macular Degeneration Clinical Subtypes. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2015**, *56*, 4290–4299. [[CrossRef](#)]
16. Xiying, M.; Wenbo, W.; Wangyi, F.; Qinghuai, L. Association of Apolipoprotein E Polymorphisms with Age-Related Macular Degeneration Subtypes: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Arch. Med. Res.* **2017**, *48*, 370–377. [[CrossRef](#)]
17. Fernández-Vega, B.; García, M.; Olivares, L.; Álvarez, L.; González-Fernández, A.; Artime, E.; Fernández-Vega Cueto, A.; Cobo, T.; Coca-Prados, M.; Vega, J.A.; et al. The Association Study of Lipid Metabolism Gene Polymorphisms with AMD Identifies a Protective Role for APOE-E2 Allele in the Wet Form in a Northern Spanish Population. *Acta Ophthalmol.* **2020**, *98*, e282–e291. [[CrossRef](#)]
18. Van Vlijmen, B.J.M.; van den Maagdenberg, A.M.J.M.; Gijbels, M.J.J.; van der Boom, H.; HogenEsch, H.; Frants, R.R.; Hofker, M.H.; Havekes, L.M. Diet-Induced Hyperlipoproteinemia and Atherosclerosis in Apolipoprotein E3-Leiden Transgenic Mice. *J. Clin. Investig.* **1994**, *93*, 1403–1410. [[CrossRef](#)]
19. Zadelaar, S.; Kleemann, R.; Verschuren, L.; de Vries-van der Weij, J.; van der Hoorn, J.; Princen, H.M.; Kooistra, T. Mouse Models for Atherosclerosis and Pharmaceutical Modifiers. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2007**, *27*, 1706–1721. [[CrossRef](#)]
20. Klein, R.; Sharrett, A.R.; Klein, B.E.K.; Chambless, L.E.; Cooper, L.S.; Hubbard, L.D.; Evans, G. Are Retinal Arteriolar Abnormalities Related to Atherosclerosis? The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2000**, *20*, 1644–1650. [[CrossRef](#)]
21. López-Cuenca, I.; de Hoz, R.; Alcantara-Rey, C.; Salobar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Fernández-Albarral, J.A.; Barabash, A.; Ramírez-Toraño, F.; de Frutos-Lucas, J.; Salazar, J.J.; et al. Foveal Avascular Zone and Choroidal Thickness Are Decreased in Subjects with Hard Drusen and without High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease. *Biomedicines* **2021**, *9*, 638. [[CrossRef](#)]
22. Ramírez, J.M.; Salazar, J.J.; De, R.; Rojas, B.; Gallego, B.I.; Ramrez, A.I.; Trivio, A. Choroidal Vessel Wall: Hypercholesterolaemia-Induced Dysfunction and Potential Role of Statins. In *Current Basic and Pathological Approaches to the Function of Muscle Cells and Tissues—From Molecules to Humans*; Sugi, H., Ed.; InTech Open: Rijeka, Croatia, 2012; pp. 255–298.
23. Klein, R.; Klein, B.E.K.; Tomany, S.C.; Wong, T.Y. The Relation of Retinal Microvascular Characteristics to Age-Related Eye Disease: The Beaver Dam Eye Study. *Am. J. Ophthalmol.* **2004**, *137*, 435–444. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

24. Wong, T.Y.; McIntosh, R. Systemic Associations of Retinal Microvascular Signs: A Review of Recent Population-Based Studies. *Ophthalmic Physiol. Opt.* **2005**, *25*, 195–204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Jayaraman, A.; Pike, C.J. Alzheimer's Disease and Type 2 Diabetes: Multiple Mechanisms Contribute to Interactions. *Curr. Diab. Rep.* **2014**, *14*, 476. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Emrani, S.; Lamar, M.; Price, C.C.; Wasserman, V.; Matusz, E.; Au, R.; Swenson, R.; Nagele, R.; Heilman, K.M.; Libon, D.J. Alzheimer's/Vascular Spectrum Dementia: Classification in Addition to Diagnosis. *J. Alzheimer's Dis.* **2020**, *73*, 63–71. [[CrossRef](#)]
27. Peterson, E.D.; Gaziano, J.M. Cardiology in 2011—Amazing Opportunities, Huge Challenges. *JAMA J. Am. Med. Assoc.* **2011**, *306*, 2158–2159. [[CrossRef](#)]
28. Anderson, D.H.; Talaga, K.C.; Rivest, A.J.; Barron, E.; Hageman, G.S.; Johnson, L.V. Characterization of β Amyloid Assemblies in Drusen: The Deposits Associated with Aging and Age-Related Macular Degeneration. *Exp. Eye Res.* **2004**, *78*, 243–256. [[CrossRef](#)]
29. Luibl, V.; Isas, J.M.; Kayed, R.; Glabe, C.G.; Langen, R.; Chen, J. Drusen Deposits Associated with Aging and Age-Related Macular Degeneration Contain Nonfibrillar Amyloid Oligomers. *J. Clin. Investig.* **2006**, *116*, 378–385. [[CrossRef](#)]
30. López-Cuenca, I.; de Hoz, R.; Salobar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Rojas, P.; Fernández-Albarral, J.A.; Barabash, A.; Salazar, J.J.; Ramírez, A.I.; Ramírez, J.M. Macular Thickness Decrease in Asymptomatic Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease: An OCT Study. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 1728. [[CrossRef](#)]
31. Ruiz, J.M.; Francisco, M.; López, C.; García, A.; José, L.; Arumí, G.; Arias Barquet, L. *Protocolo de Diagnóstico, Seguimiento y Recomendaciones Generales en la Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) Precoz e Intermedia: Consenso de Un Panel de Expertos*; Esmón Publicidad: Barcelona, Spain, 2016; Volume 77.
32. Salobar-Garcia, E.; Méndez-Hernández, C.; de Hoz, R.; Ramírez, A.I.; López-Cuenca, I.; Fernández-Albarral, J.A.; Rojas, P.; Wang, S.; García-Feijoo, J.; Gil, P.; et al. Ocular Vascular Changes in Mild Alzheimer's Disease Patients: Foveal Avascular Zone, Choroidal Thickness, and ONH Hemoglobin Analysis. *J. Pers. Med.* **2020**, *10*, 231. [[CrossRef](#)]
33. Klaver, C.C.W.; Ott, A.; Hofman, A.; Assink, J.J.M.; Breteler, M.M.B.; de Jong, P.T.V.M. Is Age-Related Maculopathy Associated with Alzheimer's Disease? The Rotterdam Study. *Am. J. Epidemiol.* **1999**, *150*, 963–968. [[CrossRef](#)]
34. Kaarniranta, K.; Salminen, A.; Haapasalo, A.; Soininen, H.; Hiltunen, M. Age-Related Macular Degeneration (AMD): Alzheimer's Disease in the Eye? *J. Alzheimer's Dis.* **2011**, *24*, 615–631. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Roca-Santiago, H.M.; Lago-Bouza, J.R.; Millán-Calenti, J.C.; Gómez-Ulla-Irazazábal, F. Enfermedad de Alzheimer y Degeneración Macular Asociada a La Edad. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* **2006**, *81*, 73–78. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Busche, M.A.; Konnerth, A. Impairments of Neural Circuit Function in Alzheimer's Disease. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **2016**, *371*, 1700. [[CrossRef](#)]
37. Salobar-García, E.; López-Cuenca, I.; Sánchez-Puebla, L.; de Hoz, R.; Fernández-Albarral, J.A.; Ramírez, A.I.; Bravo-Ferrer, I.; Medina, V.; Moro, M.A.; Saino, T.C.; et al. Retinal Thickness Changes Over Time in a Murine AD Model APPNL-F/NL-F. *Front. Aging Neurosci.* **2021**, *12*, 625642. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Koronyo-Hamaoui, M.; Koronyo, Y.; Ljubimov, A.V.; Miller, C.A.; Ko, M.K.; Black, K.L.; Schwartz, M.; Farkas, D.L. 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*, S204–S217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Gatz, M.; Reynolds, C.A.; Fratiglioni, L.; Johansson, B.; Mortimer, J.A.; Berg, S.; Fiske, A.; Pedersen, N.L. Role of Genes and Environments for Explaining Alzheimer Disease. *Arch. Gen. Psychiatry* **2006**, *63*, 168–174. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Fratiglioni, L.; Ahlbom, A.; Viitanen, M.; Winblad, B. Risk Factors for Late-Onset Alzheimer's Disease: A Population- Based, Case-control Study. *Ann. Neurol.* **1993**, *33*, 258–266. [[CrossRef](#)]
41. Van Duijn, C.M.; Group, A.H. for the E.R.F.R.; Clayton, D.; Group, A.H. for the E.R.F.R.; Chandra, V.; Group, A.H. for the E.R.F.R.; Fratiglioni, L.; Group, A.H. for the E.R.F.R.; Graves, A.B.; Group, A.H. for the E.R.F.R.; et al. Familial Aggregation of Alzheimer's Disease and Related Disorders: A Collaborative Re-Analysis of Case-Control Studies. *Int. J. Epidemiol.* **1991**, *20*, S13–S20. [[CrossRef](#)]
42. Launer, L.J.; Andersen, K.; Dewey, M.E.; Letenneur, L.; Ott, A.; Amaducci, L.A.; Brayne, C.; Copeland, J.R.M.; Dartigues, J.F.; Kragh-Sorensen, P.; et al. Rates and Risk Factors for Dementia and Alzheimer's Disease. *Neurology* **1999**, *52*, 78. [[CrossRef](#)]
43. Lautenschlager, N.T.; Cupples, L.A.; Rao, V.S.; Auerbach, S.A.; Becker, R.; Burke, J.; Chui, H.; Duara, R.; Foley, E.J.; Glatt, S.L.; et al. Risk of Dementia among Relatives of Alzheimer's Disease Patients in the MIRAGE Study: What Is in Store for the Oldest Old? *Neurology* **1996**, *46*, 641–650. [[CrossRef](#)]
44. Ukalovic, K.; Cao, S.; Lee, S.; Tang, Q.; Beg, M.F.; Sarunic, M.V.; Hsiung, G.-Y.R.; Mackenzie, I.R.; Hirsch-Reinshagen, V.; Cui, J.Z.; et al. Drusen in the Peripheral Retina of the Alzheimer's Eye. *Curr. Alzheimer Res.* **2018**, *15*, 743–750. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Aslam, A.; Peto, T.; Barzegar-Befroei, N.; Gregory, S.; Morrison, G.; Ritchie, C.; Lengyel, I. Assessing Peripheral Retinal Drusen Progression in Alzheimer's Dementia: A Pilot Study Using Ultra-Wide Field Imaging. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2014**, *55*, 659.
46. Souied, E.H.; Benlian, P.; Amouyel, P.; Feingold, J.; Lagarde, J.P.; Munnich, A.; Kaplan, J.; Coscas, G.; Soubrane, G. The E4 Allele of the Apolipoprotein E Gene as a Potential Protective Factor for Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* **1998**, *125*, 353–359. [[CrossRef](#)]
47. Andersen, L.B.; Wedderkopp, N.; Hansen, H.S.; Cooper, A.R.; Froberg, K. Biological Cardiovascular Risk Factors Cluster in Danish Children and Adolescents: The European Youth Heart Study. *Prev. Med.* **2003**, *37*, 363–367. [[CrossRef](#)]


48. Miceli, M.V.; Newsome, D.A.; Tate, D.J.; Sarphe, T.G. Pathologic Changes in the Retinal Pigment Epithelium and Bruch's Membrane of Fat-Fed Atherogenic Mice. *Curr. Eye Res.* **2000**, *20*, 8–16. [[CrossRef](#)]
49. Wilson, J.X. Antioxidant Defense of the Brain: A Role for Astrocytes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **1997**, *75*, 1149–1163. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Iadecola, C. Mechanisms of Cerebral Ischemic Damage. In *Cerebral Ischemia*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 1999; pp. 3–32. [[CrossRef](#)]
51. Triviño, A.; de Hoz, R.; Rojas, B.; Gallego, B.I.; Ramírez, A.I.; Salazar, J.J.; Ramírez, J.M. Effects of Hypercholesterolaemia in the Retina. In *Ocular Diseases*; InTech Open: Rijeka, Croatia, 2012; ISBN 9789535107613.
52. Mullins, R.F.; Russell, S.R.; Anderson, D.H.; Hageman, G.S. Drusen Associated with Aging and Age-Related Macular Degeneration Contain Proteins Common to Extracellular Deposits Associated with Atherosclerosis, Elastosis, Amyloidosis, and Dense Deposit Disease. *FASEB J.* **2000**, *14*, 835–846. [[CrossRef](#)]
53. Ishida, B.Y.; Bailey, K.R.; Duncan, K.G.; Chalkley, R.J.; Burlingame, A.L.; Kane, J.P.; Schwartz, D.M. Regulated Expression of Apolipoprotein E by Human Retinal Pigment Epithelial Cells. *J. Lipid Res.* **2004**, *45*, 263–271. [[CrossRef](#)]

RESEARCH

Open Access



The relationship between retinal layers and brain areas in asymptomatic first-degree relatives of sporadic forms of Alzheimer's disease: an exploratory analysis

Inés López-Cuenca^{1,2†}, Alberto Marcos-Dolado^{2,3,4†}, Miguel Yus-Fuertes^{2,5†}, Elena Salobar-García^{1,2,6}, Lorena Elvira-Hurtado¹, José A. Fernández-Albarral^{1,2}, Juan J. Salazar^{1,2,6}, Ana I. Ramírez^{1,2,6}, Lidia Sánchez-Puebla¹, Manuel Enrique Fuentes-Ferrer^{2,7}, Ana Barabash^{2,8,9}, Federico Ramírez-Toraño^{10,11}, Lidia Gil-Martínez¹², Juan Arrazola-García^{2,5,13}, Pedro Gil^{2,3,14}, Rosa de Hoz^{1,2,6*} and José M. Ramírez^{1,2,15*} 

Abstract

Background: Two main genetic risks for sporadic Alzheimer's disease (AD) are a family history and $\epsilon 4$ allele of apolipoprotein E. The brain and retina are part of the central nervous system and share pathophysiological mechanisms in AD.

Methods: We performed a cross-sectional study with 30 participants without a family history of sporadic AD (FH−) and noncarriers of ApoE $\epsilon 4$ (ApoE $\epsilon 4$ −) as a control group and 34 participants with a family history of sporadic AD (FH+) and carriers of at least one $\epsilon 4$ allele (ApoE $\epsilon 4$ +). We analyzed the correlations between macular volumes of retinal layers and thickness of the peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) measured by optical coherence tomography (OCT) with the brain area parameters measured by magnetic resonance imaging (MRI) in participants at high genetic risk of developing AD (FH+ ApoE $\epsilon 4$ +).

Results: We observed a significant volume reduction in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ + group compared with the control group in some macular areas of (i) macular RNFL (mRNFL), (ii) inner plexiform layer (IPL), (iii) inner nuclear layer (INL), and (iv) outer plexiform layer (OPL). Furthermore, in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ + group, the retinal sectors that showed statistically significant volume decrease correlated with brain areas that are affected in the early stages of AD. In the same group, the peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) did not show statistically significant changes in thickness compared with the control group. However, correlations of these sectors with the brain areas involved in this disease were also found.

*Correspondence: rdehoz@med.ucm.es; ramirezj@med.ucm.es

†Inés López-Cuenca, Alberto Marcos Dolado, and Miguel Yus Fuertes contributed equally to this work.

⁶ Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Faculty of Optics and Optometry, Complutense University of Madrid, Madrid 28037, Spain

¹⁵ Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid 28040, Spain
Full list of author information is available at the end of the article



Conclusions: In cognitively healthy participants at high genetic risk of developing sporadic forms of AD, there are significant correlations between retinal changes and brain areas closely related to AD such as the entorhinal cortex, the lingual gyrus, and the hippocampus.

Keywords: Alzheimer's disease, Family history, ApoE ϵ 4, Retina, OCT, MRI, Brain

Background

Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease and the most common cause of dementia [1]. The progressive accumulation of amyloid-beta ($A\beta$) protein (plaques) outside the neurons [2] and the accumulation of tau protein (tangles) within the neurons [1] are the hallmarks of this disease. $A\beta$ aggregation starts in the anterior cingulate cortex and the precuneus [3, 4], while tau tangles are located in the entorhinal cortex, the hippocampus, and adjacent limbic structures in milder cases [5]. The use of biomarkers such as quantification of $A\beta$ and tau levels in cerebrospinal fluid (CSF) or the increased deposition of tau tangles and accumulation of $A\beta$ plaques revealed by positron emission tomography (PET) are biomarkers that help determine the clinical stage of AD; however, they are limited because they require invasive techniques and expensive diagnostic tools [6].

The retina and the brain are part of the central nervous system, and both have a common embryological origin [7]. Currently, it is known that there is a relationship between age-related retinal neurodegenerative diseases and brain neurodegenerative diseases, including AD [8]. In addition, in the retina, protein deposits have been detected in both AD animal models and in vivo and post-mortem eyes from human AD patients [9–11], with the retina having important diagnostic implications in this disease. Through optical coherence tomography (OCT), a reliable non-invasive diagnostic tool that is commonly used in ophthalmology to visualize and analyze the retinal layers, retinal changes have been observed in different stages of AD. In a previous work using OCT, we have demonstrated that, in preclinical stages, participants with a high genetic risk of developing AD show a significant thinning in several retinal layers in the macular region [12]. In patients with mild AD, thinning also occurs principally in the macular region [13–15]; when the disease progresses to a moderate stage, these changes are reflected in the peripapillary region [16].

A direct correlation has been observed between the volumes of brain areas measured by magnetic resonance imaging (MRI) and the thickness of specific retina regions using OCT in nondemented older adults [6, 17]. In addition, both family history of the disease (FH+) and

ApoE ϵ 4 genotype (ApoE ϵ 4+) potentiate each other, contributing to the thinning of the cortex in the hippocampal region [18]. The purpose of our study was to analyze the correlations between the macular volumes of all the retinal layers and the thickness of the peripapillary retinal nerve fiber layer (pRNFL) measured by OCT, with the volumes and thickness of different brain areas measured by MRI in participants at high genetic risk of developing AD (FH+ ApoE ϵ 4+) compared with a control group (FH– ApoE ϵ 4–).

Methods

Participants

The participants were recruited from the study “The cognitive and neurophysiological characteristics of participants at high genetic risk of developing dementia: a multidimensional approach” (COGDEM Study, PSI2015-68793-C3-2-R, Ministry of Economy and Competitiveness) ($n = 251$). In this study, participants were recruited in different local hospitals and advertisements were published in different professional associations such as the “Asociación Española de Ingenieros de Telecomunicación Delegación de Madrid.” The general inclusion criteria are listed below: (i) age between 45 and 75 years; (ii) absence of psychiatric or neurological disorders; (iii) absence of evidence of infection, infarction, or focal lesions on T2-weighted magnetic resonance imaging (MRI); (iv) absence of substance addictions such as alcohol or chronic use of anxiolytic, neuroleptic, narcotic, anticonvulsant, or sedative-hypnotic drugs; and (v) absence of memory complaints. In addition, all participants underwent a neuropsychological assessment including analysis of declarative memory with the Logical Memory (immediate and delayed) and digits (forward and backward) and the Word List of the Wechsler Memory Scale-III- and everyday memory with the Rivermead Behavioural Memory Test. Subjective cognitive impairment was assessed with the MFE and a series of questions (neuropsychological interview) on possible impairment of different cognitive functions

We analyzed two groups. As a control group ($n = 30$), we selected from the COGDEM study database those participants with no family history of sporadic senile onset AD. These participants had the following

characteristics: (i) they were cognitively healthy, (ii) they had no first-degree family history of AD (FH−), (iii) they were noncarriers of the ApoE ε4 allele (ApoE ε4−), and (iv) they had no memory complaints. The group at high genetic risk of developing AD ($n = 34$), matched with the control group in terms of age and socioeconomic status, consisted of participants with the following features: (i) cognitively healthy, (ii) first-degree family history of senile AD (FH+) (father or mother affected by the disease), (iii) carrier of at least one ε4 allele for the ApoE gene (ApoE ε4+), and (iv) no memory complaints. Figure 1 shows a flow diagram of the patient selection.

In both groups, Mini-Mental State Examination (MMSE) scores were normal (above 26) and participants had no previous history of neurological or psychiatric disorder.

The research followed the tenets of the Declaration of Helsinki and the study protocol was approved by the Local Ethics Committee (Hospital Clinic San Carlos) with the internal code 18/422-E_BS. All participants signed written informed consent to be enrolled in the study.

Optical coherence tomography (OCT)

After an ophthalmological examination performed at the Clinic of the Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmic Research in Madrid, which included visual acuity, slit-lamp examination, applanation tonometry (Perkins MKII tonometer, Clement Clarke International, Essex, UK), and a dilated funduscopy, one eye of each patient was randomly selected. All the participants met the following ophthalmological inclusion criteria: (i) free from ocular disease or posterior pole pathology (macular degeneration, drusen, glaucoma, or suspicion, epiretinal membrane, and congenital malformation), (ii) having a best corrected visual acuity more than 20/40, (iii) having less than ± 5 D spherocylindrical refractive error, and (iv) having an intraocular pressure less than 20 mmHg.

To analyze the volumes of the macular region, OCT imaging was performed with Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), following the OCT protocol previously published [12].

Heidelberg segmentation software (Heidelberg, Germany, version 1.10.4.0) allowed us to measure the total retinal volume and the volume of each retinal layer in the macular area. To avoid segmentation problems, all

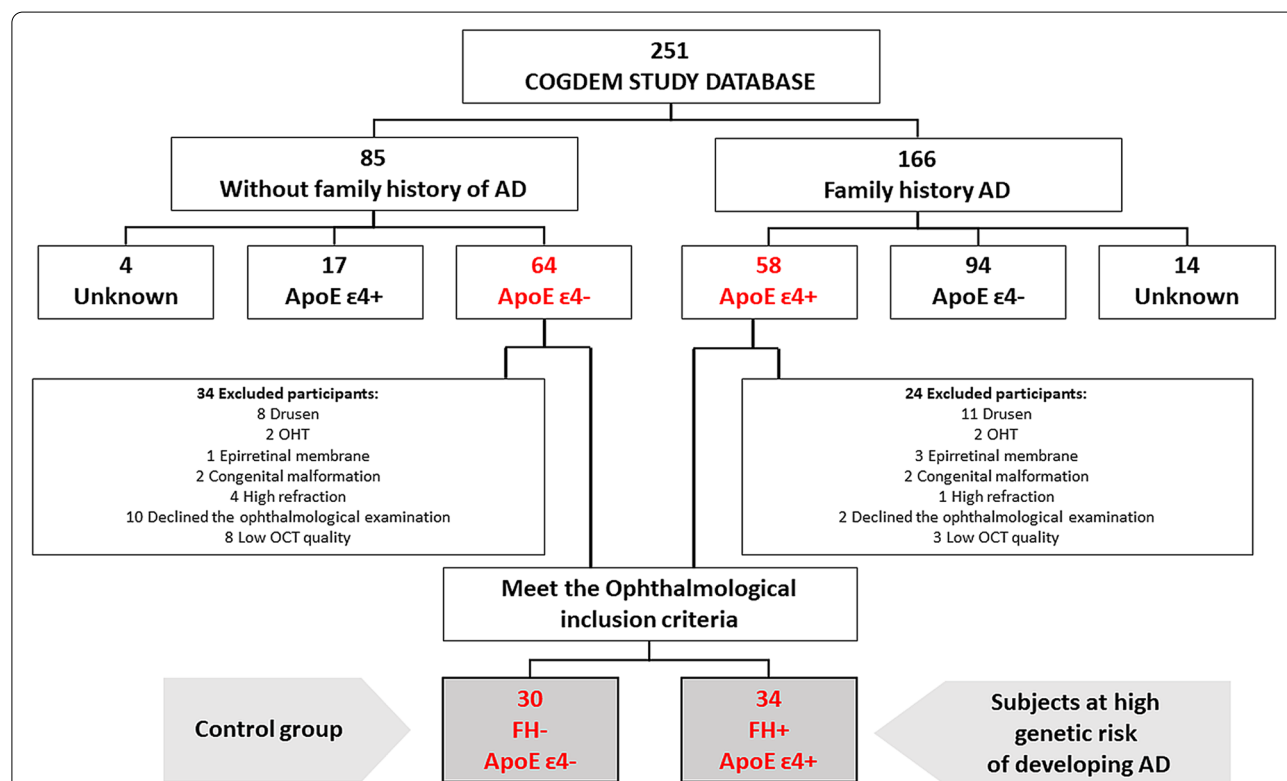


Fig. 1 Flow diagram of subject selection. COGDEM, “The cognitive and neurophysiological characteristic of participants at high risk of developing dementia: a multidimensional approach”; FH−, participants without a family history of Alzheimer’s disease; FH+, participants with a family history of AD; ApoE ε4−, noncarriers of ε4 allele; ApoE ε4+, carriers of at least one ε4 allele. In gray are the participants who participated in the ophthalmological study and were included in this study. OHT, ocular hypertension; OCT, optical coherence tomography

automatic segmentations were checked by the same optometrist (IL-C) and modified manually if an error was found. The macular volume of the following retinal layers was analyzed: retinal nerve fiber layer (RNFL), ganglion cell layer (GCL), inner plexiform layer (IPL), inner nuclear layer (INL), outer plexiform layer (OPL), outer nuclear layer (ONL), and retinal pigment epithelium (RPE). The macular area was analyzed according to the standard Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) macular grid (a foveal area of 1 mm in diameter, 1–3 mm around the fovea in the inner ring, and 3–6 mm for the outer ring) [19] (Fig. 2A). A peripapillary RNFL (pRNFL) thickness analysis was carried out in six sectors (temporal (T), superotemporal (ST), inferotemporal (IT), nasal (N), inferonasal, and superonasal (SN) (Fig. 2B). An average of all sectors was also obtained (global). In this study, we included macular volume scans with a minimum signal-to-noise ratio of 25 and an average of 16 B-scans. The pRNFL scans have a minimum signal-to-noise ratio of 20 and an average of at least 40 B-scans. According to the calibration provided by the manufacturers, the thickness measurements were provided in microns and the volume measurements in mm^3 .

Magnetic resonance imaging (MRI)

For each subject, MRI were acquired using a 1.5-Tesla scanner (General Electric Medical Systems, Waukesha, WI, USA) model with HDxt release 16.0 and an eight-channel, high-resolution head coil. A high-resolution antenna was employed together with a homogenization Phased array Uniformity Enhancement filter (Fast Spoiled Gradient Echo sequence, TR/TE/TI=11.2/4.2/450 ms;

flip angle 12°; 1 mm slice thickness, 256×256 matrix and FOV 25 cm). In addition to whole-head 3D fast spoiled ir-prepped gradient-echo T1-weighted 1- mm^3 isotropic sequence, 3D CUBE FLAIR T2-weighted 1.6-mm-thickness sequence and 2D gradient-echo T2 sequence, DTI images were also obtained. T2 sequences do not contribute to the study except to rule out vascular lesions and vascular load or other differential diagnostic entities, apart from being necessary for the overall volumetric assessment (Fig. 3A, B).

Each T1-weighted MRI image was processed using FreeSurfer 6.0 *recon-all* procedure [20–24]. This procedure performs a motion correction, corrects for intensity nonuniformity, and performs an intensity normalization. Then, it performs a segmentation of the different brain tissues and it constructs a cortical surface mesh for each T1. It registers an inflated sphere version of this cortical mesh to a common surface-space and it uses the Desikan-Killiany anatomical atlas [25] to assign a neuroanatomical label to each native brain voxel. Finally, FreeSurfer 6.0 was used to obtain the volume and the cortical thickness of different areas of interest.

Allelic characterization

APOE polymorphism (haplotype) was determined by an analysis of the genotype of the two polymorphisms (SNPs) that determine it: rs7412 and rs429358. The DNA was extracted from peripheral leukocytes using DNAzol® Genomic DNA Isolation Reagent (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA), following

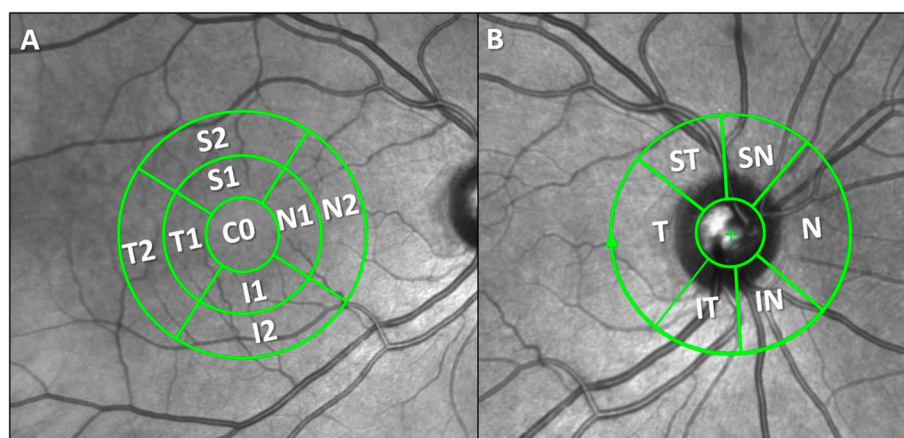


Fig. 2 Optical coherence tomography (OCT) report of the retinal macular volume and peripapillary thickness. **A** Concentric macular rings. **B** Peripapillary sectors. CO central macular sector, N1 nasal sector of the inner macular ring, I1 inferior sector of the inner macular ring, T1 temporal sector of the inner macular ring, S1 superior sector of the inner macular ring, N2 nasal sector of the outer macular ring, I2 inferior sector of the outer macular ring, T2 temporal sector of the outer macular ring, S2 superior sector of the outer macular ring, ST superotemporal, SN superonasal, N nasal, IN inferonasal, IT inferotemporal, T temporal

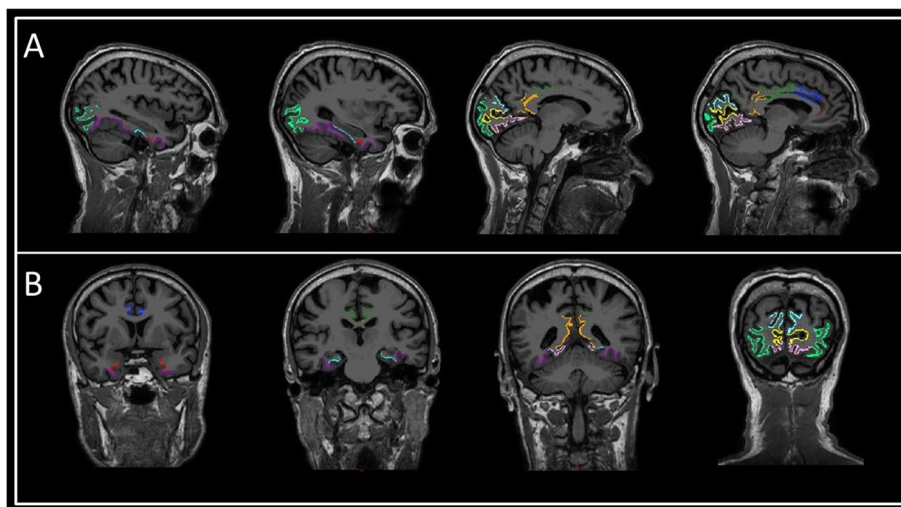


Fig. 3 Sagittal (A) and axial slices (B) from the 3DT1 sequence of a study individual. The evaluated cortical regions are represented as a colored overlay: entorhinal (red), parahippocampal (blue), latero-occipital (light green), pericalcarine (yellow), lingual (pink), cuneus (light blue), rostral anterior cingulate (brown), caudal anterior cingulate (dark blue), posterior cingulate (green), and isthmus cingulate (orange)

the protocol of the manufacturer. ApoE alleles were determined using TaqMan assay technology on an Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR machine (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). A genotyping call rate of over 95% per plate, sample controls for each genotype, and negative sample controls were included in each assay. Three well-differentiated genotyping clusters for each SNP were required to validate the results. Intra- and interplate duplicates of several DNA samples were also included.

Statistical analysis

Statistical analysis was carried out in SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Data are reported as the median (interquartile range). The differences between study groups (FH– ApoE ε4– and FH– ApoE ε4+) in qualitative variables were analyzed using a chi-squared test. We first compared macular area volumes and peripapillary nerve fiber layer thicknesses between the study groups using the Mann–Whitney *U* test. Secondly, we compared the volumes of brain areas between the study groups also using the Mann–Whitney *U* test. Finally, partial correlation controlling for age using Pearson's correlation coefficient was applied to study the possible association between macular and peripapillary retinal sectors and brain structures that are mainly related to AD. A colorimetric scale has been applied to the degree of correlation of the variables, where low correlations (*r* with values between 0.38 and 0.60) have a yellowish color, medium correlations (*r* with values between 0.60 and 0.72) have orange colors, and strong correlations (*r* with values

Table 1 Demographic data of participants

	FH– ApoE ε4–	FH+ ApoE ε4+	<i>p</i> -value
Number of participants (n)	30	34	
Age (years)	60.0 (54.0–64.5)	57.0 (54.0–61.0)	0.210
Male/female	12/18	11/23	0.273¹/0.040*¹
MMSE	29.0 (29.0–29.0)	29.0 (28.0–29.0)	

Median (interquartile range); **p* < 0.05. Mann–Whitney *U* and chi-square tests; ¹*p*-value of different sex in the same group. FH– participants without a family history of AD, FH+ participants with a family history of AD, ApoE ε4– noncarriers of ApoE ε4, ApoE ε4+ carriers of ApoE ε4, MMSE Mini-Mental State Examination

between 0.72 and 1.00) have reddish tones. A *p*-value <0.05 was considered statistically significant.

Results

Demographic data

Demographic data for the FH– ApoE ε4– and FH+ ApoE ε4+ groups are shown in Table 1.

There were no differences between study groups in terms of age and MMSE (*p* > 0.05). The FH– ApoE ε4– group showed a median age of 60.0 (54.0–64.5) years and the FH+ ApoE ε4+ group had a median age of 57.0 (54.0–61.0) years. The median MMSE scores were 29.0 (29.0–29.0) in the FH– ApoE ε4– group and 29.0 (28.0–29.0) in the FH+ ApoE ε4+ group.

In terms of sex, there were statistically significant differences (*p* < 0.05) between the numbers of males (11) and females (23) participating in the ApoE ε4+ group.

Table 2 Thickness of the different cortical regions between study groups

Cortical regions	FH– ApoE ε4–	FH+ ApoE ε4+	p-value
Lingual right	1.980 (0.103)	1.985 (0.115)	0.873
Lingual left	1.965 (0.101)	1.950 (0.094)	0.549
Rostral anterior cingulate right	2.827 (0.208)	2.861 (0.309)	0.635
Rostral anterior cingulate left	2.704 (0.205)	2.721 (0.198)	0.764
Caudal anterior cingulate right	2.466 (0.283)	2.440 (0.228)	0.708
Caudal anterior cingulate left	2.527 (0.231)	2.526 (0.274)	0.995
Posterior cingulate right	2.343 (0.241)	2.358 (0.122)	0.760
Posterior cingulate left	2.329 (0.118)	2.298 (0.169)	0.444
Isthmus cingulate right	2.301 (0.180)	2.398 (0.195)	0.059
Isthmus cingulate left	2.350 (0.226)	2.312 (0.188)	0.502
Entorhinal right	3.558 (0.336)	3.518 (0.263)	0.621
Entorhinal left	3.452 (0.384)	3.443 (0.346)	0.933
Fusiform right	2.619 (0.102)	2.641 (0.114)	0.467
Fusiform left	2.605 (0.101)	2.628 (0.0988)	0.390
Global cortical right	2.360 (0.074)	2.363 (0.068)	0.860
Global cortical left	2.368 (0.076)	2.357 (0.075)	0.602

Data are expressed as mean and typical deviation. * $p < 0.05$. Mann–Whitney U test. FH– participants without a family history of AD, FH+ participants with a family history of AD, ApoE ε4– noncarriers of ApoE ε4, ApoE ε4+ carriers of ApoE ε4. Measurements are expressed in millimeters

Magnetic resonance imaging

Regarding the cortical thickness, there were no significant differences in any of the regions analyzed between the study groups ($p > 0.05$) (Table 2).

Regarding the volume of the different brain regions studied, there were no significant differences in any of the regions analyzed between the study groups ($p > 0.05$) (Table 3).

Retinal layer volume between groups

Regarding the total retinal volume, there were no significant differences in any of the sectors analyzed between the study groups ($p > 0.05$).

In the macular retinal nerve fiber layer (mRNFL), the foveal area (C0) showed a significant reduction in volume ($p < 0.05$) in the FH+ ApoE ε4+ group (0.009 (0.008–0.010)) mm³, compared with the FH– ApoE ε4– group (0.010 (0.009–0.011)) mm³ (Table 4).

In the GCL, the FH+ ApoE ε4+ group showed a slight, nonsignificant volume reduction of all sectors in comparison to the FH– ApoE ε4– (Table 4).

In the IPL, the FH+ ApoE ε4+ group showed a statistically significant volume reduction ($p < 0.05$) in the inferior sectors, both in the inner macular ring (I1)

(0.064 (0.061–0.066)) mm³ and the outer macular ring (I2) (0.143 (0.131–0.154)) mm³, with respect to the FH– ApoE ε4– group (0.066 (0.064–0.069)) mm³ and (0.154 (0.146–0.159)) mm³. In the nasal sectors, we also observed this volume reduction ($p < 0.05$) in the inner (N1) (0.066 (0.063–0.070)) mm³ and outer (N2) (0.159 (0.143–0.166)) mm³ macular rings in the FH+ ApoE ε4+ group in comparison to the FH– ApoE ε4– group (0.069 (0.066–0.071)) and (0.170 (0.148–0.175)) mm³ (Table 4).

In the INL, the FH+ ApoE ε4+ group, in comparison to FH– ApoE ε4–, showed a significant volume decrease ($p < 0.05$) in the foveal sector (C0) (0.014 (0.013–0.017)) mm³ vs. (0.016 (0.014–0.020)) mm³ and in the outer macular ring in the inferior sector (I2) (0.164 (0.154–0.170)) mm³ vs. (0.170 (0.159–0.180)) mm³ (Table 4).

In the OPL, the FH+ ApoE ε4+ group showed a significant volume reduction ($p < 0.05$) in the outer macular ring in the inferior sector (I2) (0.143 (0.138–0.155)) mm³ compared with the FH– ApoE ε4– group (0.159 (0.143–0.171)) mm³ (Table 4).

In ONL, EPR, and pRNFL, there were no statistically significant differences ($p > 0.05$) in any of the sectors analyzed between the study groups (Table 4).

Correlations between the retina and brain in the studied groups

We studied Pearson correlations between the retina (macular sectors and pRNFL) and specific brain structures in each study.

All significant Pearson correlations can be found in Tables 4, 5, and 6 and S1–S8 and Figs. 4, 5, 6 and 7 and supplementary figs. 1, 2, 3 and 4.

We highlighted correlations of brain MRI and OCT retinal volumes in those retinal sectors where we had found statistically significant retinal volume changes between the FH+ ApoE ε4+ and FH– ApoE ε4– groups.

Correlations of participants with high genetic risk for developing AD

Macular sectors and brain correlations

We found that, in mRNFL, the foveal sector volume (C0) had a significant correlation ($p < 0.05$) with (i) the right isthmus cingulate ($r = 0.390$), (ii) the left lingual gyrus ($r = 0.446$), (iii) left pericalcarine volume ($r = 0.524$), (iv) the right lateral occipital volume ($r = 0.452$), (v) the right cuneus volume ($r = 0.437$), (vi) left cuneus volume ($r = 0.547$), (vii) the right occipital lobe ($r = 0.458$), and (viii) the left occipital lobe ($r = 0.505$) (Table 5) (Fig. 4).

In the OPL, the inferior sector (I2) of the outer macular ring was significantly associated ($p < 0.05$) with (i) right fusiforme thickness ($r = 0.452$), (ii) the right lingual

Table 3 Volume of the different brain regions between study groups

Brain regions	FH- ApoE ε4-	FH+ ApoE ε4+	p-value
Parahippocampal right	1825.89 (211.59)	1902.62 (217.98)	0.187
Parahippocampal left	2053.15 (293.95)	2086.86 (293.95)	0.634
Entorhinal right	2048.11 (286.42)	2120.97 (352.46)	0.402
Entorhinal left	2181.70 (332.07)	2165.55 (308.12)	0.851
Lingual gyrus right	6357.89 (880.20)	6417.83 (1047.83)	0.872
Lingual gyrus left	6004.44 (987.93)	6023.17 (835.08)	0.929
Pericalcarine right	2412.85 (497.76)	2396.17 (466.96)	0.898
Pericalcarine left	2119.63 (452.79)	2142.48 (395.24)	0.841
Lateral occipital right	11,388.93 (1302.19)	11,381.93 (1506.77)	0.985
Lateral occipital left	11,218.59 (1247.33)	11,108.52 (1237.37)	0.742
Cuneus right	3032.56 (442.16)	3095.03 (574.73)	0.652
Cuneus left	2811.04 (450.16)	2874.31 (517.92)	0.629
Medial temporal right	8014.46 (631.63)	8127.23 (761.61)	0.551
Medial temporal left	8158.11 (729.41)	8191.88 (791.15)	0.869
Occipital right	23,210.22 (2589.45)	23,290.97 (2853.82)	0.912
Occipital left	22,153.70 (2482.72)	22,151.48 (2541.49)	0.997
Amygdala right	1502.15 (247.41)	1467.93 (215.52)	0.583
Amygdala left	1298.38 (186.45)	1292.43 (147.13)	0.895
Ventral diencephalon right	3715.45 (349.01)	3701.44 (341.39)	0.880
Ventral diencephalon left	3711.05 (367.22)	3757.41 (386.31)	0.648
Hippocampus right	4140.46 (367.54)	4103.64 (431.50)	0.733
Hippocampus left	3923.25 (346.95)	3939.47 (413.06)	0.875
Intracranial global	1,438,163.2 (162,347.9)	1,415,555.1 (119,222.5)	0.553

Data are expressed as mean and typical deviation. * $p < 0.05$. Mann–Whitney U test. FH- participants without a family history of AD, FH+ participants with a family history of AD, ApoE ε4- noncarriers of ApoE ε4, ApoE ε4+ carriers of ApoE ε4. Measurements are expressed in cubic millimeter

gyrus ($r = -0.380$), (iii) right and left pericalcarine volume ($r = -0.463$ and -0.381 , respectively), (iv) right and left cuneus volume ($r = -0.486$ and $r = -0.485$, respectively), and (v) right and left occipital lobe ($r = -0.423$ and $r = -0.397$, respectively) (Table 5 and Fig. 4).

pRNFL thickness and brain correlation

In terms of pRNFL thickness, we found significant correlations ($p < 0.05$) between retinal global value and (i) right caudal anterior cingulate thickness ($r = 0.397$), (ii) right posterior cingulate thickness ($r = 0.423$), and (iii) right and left isthmus cingulate thickness ($r = 0.509$ and $r = 0.435$, respectively) (Table 6 and Fig. 5).

The thickness of the temporal sector of pRNFL was only significant correlated with the thickness of the left posterior cingulate region ($r = 0.405$) and right lingual gyrus ($r = 0.422$) (Table 6).

In pRNFL, the thickness of the superotemporal sector was significantly correlated ($p < 0.05$) with (i) right caudal anterior cingulate thickness ($r = 0.413$), (ii) right and left posterior cingulate thickness ($r = 0.502$ and $r = 0.445$), and (iii) right and left isthmus cingulate thickness

($r = 0.509$ and $r = 0.414$, respectively) (Table 6 and Fig. 5).

The thickness of the inferotemporal sector of pRNFL was significant associated with (i) right and left posterior cingulate thickness ($r = 0.539$ and $r = 0.448$, respectively), (ii) right and left isthmus cingulate thickness ($r = 0.379$ and $r = 0.434$, respectively), and (iii) right ventral diencephalon volume ($r = 0.381$) (Table 6 and Fig. 5).

The thickness of the nasal sector of pRNFL was significantly correlated with the right entorhinal volume ($r = -0.536$) (Table 6).

In the pRNFL, superonasal thickness was significantly associated with (i) right isthmus cingulate thickness ($r = 0.429$) and (ii) left fusiform gyrus thickness ($r = 0.412$) (Table 6).

Correlations in participants without genetic risk for developing AD

Macular sectors and brain correlations

In the IPL, we found an association between the outer macular ring in the nasal sector (N2) and (i) left parahippocampal volume ($r = -0.429$), (ii) right entorhinal

Table 4 Volumes of retinal sectors of each retinal layer

Retinal layer	Ring	Sector	FH- ApoE ε4-	FH+ ApoE ε4+	p-value
Total retina	Inner	C0	0.220 (0.208–0.232)	0.218 (0.207–0.222)	0.213
		N1	0.545 (0.537–0.562)	0.543 (0.533–0.558)	0.522
		S1	0.540 (0.527–0.555)	0.541 (0.532–0.553)	0.701
		T1	0.518 (0.503–0.529)	0.517 (0.507–0.529)	0.788
		I1	0.538 (0.523–0.551)	0.533 (0.523–0.549)	0.657
	Outer	N2	1.681 (1.618–1.745)	1.678 (1.628–1.734)	0.898
		S2	1.564 (1.520–1.645)	1.582 (1.559–1.605)	0.545
		T2	1.490 (1.439–1.571)	1.495 (1.467–1.539)	0.904
		I2	1.532 (1.488–1.596)	1.529 (1.495–1.575)	0.752
mRNFL	Inner	C0	0.010 (0.009–0.011)	0.009 (0.008–0.010)	0.044*
		N1	0.032 (0.031–0.035)	0.033 (0.031–0.035)	0.817
		S1	0.038 (0.036–0.042)	0.039 (0.036–0.041)	0.586
		T1	0.027 (0.027–0.028)	0.027 (0.026–0.028)	0.939
		I1	0.038 (0.035–0.041)	0.041 (0.038–0.042)	0.104
	Outer	N2	0.249 (0.233–0.274)	0.270 (0.236–0.286)	0.205
		S2	0.196 (0.184–0.217)	0.196 (0.186–0.217)	0.622
		T2	0.101 (0.095–0.111)	0.101 (0.095–0.106)	0.264
		I2	0.207 (0.191–0.240)	0.217 (0.196–0.233)	0.513
GCL	Inner	C0	0.012 (0.010–0.015)	0.011 (0.009–0.013)	0.112
		N1	0.083 (0.078–0.088)	0.082 (0.074–0.085)	0.321
		S1	0.085 (0.079–0.088)	0.082 (0.077–0.086)	0.247
		T1	0.074 (0.072–0.079)	0.075 (0.068–0.077)	0.355
		I1	0.082 (0.080–0.085)	0.082 (0.077–0.085)	0.478
	Outer	N2	0.204 (0.190–0.223)	0.207 (0.186–0.212)	0.369
		S2	0.186 (0.170–0.196)	0.180 (0.164–0.196)	0.548
		T2	0.186 (0.170–0.207)	0.180 (0.170–0.196)	0.504
		I2	0.180 (0.172–0.191)	0.175 (0.159–0.186)	0.087
IPL	Inner	C0	0.016 (0.015–0.019)	0.015 (0.014–0.017)	0.077
		N1	0.069 (0.066–0.071)	0.066 (0.063–0.070)	0.026*
		S1	0.068 (0.064–0.069)	0.064 (0.062–0.068)	0.068
		T1	0.066 (0.061–0.068)	0.063 (0.061–0.068)	0.170
		I1	0.066 (0.064–0.069)	0.064 (0.061–0.066)	0.019*
	Outer	N2	0.170 (0.148–0.175)	0.159 (0.143–0.166)	0.044*
		S2	0.154 (0.143–0.164)	0.148 (0.138–0.160)	0.142
		T2	0.178 (0.163–0.191)	0.170 (0.159–0.180)	0.103
		I2	0.154 (0.146–0.159)	0.143 (0.131–0.154)	0.006*
INL	Inner	C0	0.016 (0.014–0.020)	0.014 (0.013–0.017)	0.041*
		N1	0.068 (0.061–0.072)	0.065 (0.061–0.068)	0.313
		S1	0.063 (0.061–0.066)	0.065 (0.061–0.068)	0.449
		T1	0.060 (0.056–0.064)	0.060 (0.057–0.063)	0.925
		I1	0.067 (0.061–0.071)	0.065 (0.063–0.071)	0.792
	Outer	N2	0.186 (0.175–0.192)	0.180 (0.170–0.191)	0.177
		S2	0.167 (0.158–0.175)	0.164 (0.159–0.175)	0.929
		T2	0.175 (0.164–0.186)	0.170 (0.164–0.180)	0.463
		I2	0.170 (0.159–0.180)	0.164 (0.154–0.170)	0.045*

Table 4 (continued)

Retinal layer	Ring	Sector	FH- ApoE ε4-	FH+ ApoE ε4+	p-value
OPL	Inner	C0	0.020 (0.019–0.022)	0.020 (0.018–0.024)	0.710
		N1	0.050 (0.047–0.077)	0.052 (0.047–0.061)	0.463
		S1	0.049 (0.045–0.060)	0.049 (0.044–0.062)	0.984
		T1	0.048 (0.045–0.052)	0.049 (0.045–0.052)	0.441
		I1	0.053 (0.049–0.081)	0.049 (0.046–0.073)	0.089
	Outer	N2	0.162 (0.147–0.191)	0.159 (0.143–0.164)	0.203
		S2	0.138 (0.131–0.154)	0.140 (0.133–0.154)	0.476
		T2	0.148 (0.138–0.159)	0.143 (0.138–0.154)	0.554
		I2	0.159 (0.143–0.171)	0.143 (0.138–0.155)	0.007*
ONL	Inner	C0	0.075 (0.071–0.080)	0.077 (0.071–0.080)	0.861
		N1	0.115 (0.090–0.123)	0.119 (0.105–0.126)	0.236
		S1	0.108 (0.102–0.118)	0.112 (0.099–0.120)	0.909
		T1	0.115 (0.108–0.123)	0.118 (0.108–0.121)	0.736
		I1	0.104 (0.072–0.112)	0.106 (0.088–0.115)	0.367
	Outer	N2	0.281 (0.257–0.307)	0.302 (0.265–0.325)	0.110
		S2	0.307 (0.289–0.333)	0.323 (0.292–0.337)	0.198
		T2	0.292 (0.270–0.307)	0.305 (0.286–0.329)	0.062
		I2	0.260 (0.231–0.281)	0.270 (0.254–0.304)	0.070
RPE	Inner	C0	0.013 (0.012–0.013)	0.013 (0.012–0.013)	0.211
		N1	0.024 (0.022–0.025)	0.024 (0.022–0.027)	0.164
		S1	0.024 (0.022–0.025)	0.024 (0.022–0.025)	0.498
		T1	0.022 (0.022–0.024)	0.022 (0.022–0.025)	0.505
		I1	0.022 (0.022–0.024)	0.023 (0.022–0.025)	0.175
	Outer	N2	0.069 (0.064–0.074)	0.069 (0.064–0.074)	0.480
		S2	0.069 (0.069–0.074)	0.072 (0.069–0.074)	0.690
		T2	0.069 (0.064–0.069)	0.069 (0.064–0.069)	0.648
		I2	0.069 (0.064–0.069)	0.069 (0.062–0.070)	0.859

Median (interquartile range); * $p < 0.05$, in bold. Mann-Whitney U test. FH- participants without a family history of AD, FH+ participants with a family history of AD, ApoE ε4- noncarriers of ApoE ε4, ApoE ε4+ carriers of ApoE ε4, mRNFL macular retinal nerve fiber layer, GCL ganglion cell layer, IPL inner plexiform layer, INL inner nuclear layer, OPL outer plexiform layer, ONL outer nuclear layer, RPE retinal pigment epithelium, C0 central macular sector, N1 nasal sector of the inner macular ring, I1 inferior sector of the inner macular ring, T1 temporal sector of the inner macular ring, S1 superior sector of the inner macular ring, N2 nasal sector of the outer macular ring, I2 inferior sector of the outer macular ring, T2 temporal sector of the outer macular ring, S2 superior sector of the outer macular ring. Measurements are expressed in cubic millimeter

volume ($r = -0.516$), (iii) right lingual gyrus volume ($r = -0.395$), (iv) left cuneus volume ($r = -0.438$), (v) right and left medial temporal lobe volume ($r = -0.673$ and $r = -0.554$, respectively), (vi) left amygdala volume ($r = -0.501$), (vii) right ventral diencephalon volume ($r = -0.451$), and (viii) right and left hippocampus volume ($r = -0.542$ and $r = -0.595$, respectively). In addition, in this layer, the volume of the inferior sector (I2) of the outer macular ring in was associated with (i) right entorhinal volume ($r = -0.433$), (ii) right medial temporal lobe volume ($r = -0.534$), (iii) right and left amygdala volume ($r = -0.414$ and $r = -0.503$, respectively), (iv) right ventral diencephalon volume ($r = -0.412$), and

(v) right hippocampus volume ($r = -0.394$) (Table 7 and Fig. 6).

In the INL, the foveal macular sector (C0) was associated with left entorhinal thickness ($r = -0.396$). The inferior sector (I2) of the outer macular ring was associated with (i) right and left parahippocampal volume ($r = -0.510$ and $r = -0.433$, respectively), (ii) right entorhinal volume ($r = -0.535$), (iii) right and left medial temporal lobe volume ($r = -0.599$ and $r = -0.516$, respectively), and (iv) left hippocampus volume ($r = -0.442$) (Table 7 and Fig. 6).

Finally, in the OPL, the inferior sector (I2) of the outer macular ring was associated with left rostral anterior cingulate thickness ($r = -0.506$) (Table 7 and Fig. 6).

Table 5 Significant age-adjusted correlations between retinal sector volumes and the volumes and thickness of brain structures in participants with high genetic risk of developing AD. A colorimetric scale has been applied to the degree of correlation of the variables

		Retinal layer	FH+ ApoE ε4+	
			mRNFL	OPL
Brain structure		Retinal sector	C0	I2
Thickness	Isthmus cingulate right		0.390	
	Fusiform right			0.452
Volume	Lingual girus right			-0.380
	Lingual girus left		0.446	
	Pericalcarine right			-0.463
	Pericalcarine left		0.524	-0.381
	Lateral occipital right		0.452	
	Cuneus right		0.437	-0.486
	Cuneus left		0.547	-0.485
	Occipital lobe right		0.458	-0.423
	Occipital lobe left		0.505	-0.397

FH+: participants with a family history of AD, RNFL retinal nerve fiber layer; OPL Outer plexiform layer; right: right hemisphere and left: left hemisphere

pRNFL thickness and brain correlation

In the group of participants without genetic risk for developing AD, we also found a significant correlation between global pRNFL thickness and right parahippocampal volume ($r = 0.561$) (Table 8 and Fig. 7).

The temporal sector of pRNFL had a significant correlation ($p < 0.05$) with (i) right lingual thickness ($r = 0.513$), (ii) right posterior cingulate thickness ($r = 0.423$), (iii) right fusiform thickness ($r = 0.498$), (iv) left lingual gyrus volume ($r = 0.459$), and (v) right and left pericalcarine volume ($r = 0.533$ and $r = 0.511$, respectively) (Table 8 and Fig. 7).

The thickness of the superotemporal sector of pRNFL was significantly associated with the (i) right posterior cingulate thickness ($r = 0.405$), (ii) right fusiform thickness ($r = 0.472$), (iii) right parahippocampal volume ($r = 0.587$), and (iv) left pericalcarine volume ($r = 0.430$), while the inferotemporal thickness of pRNFL had a significant correlation with the (i) right and left lingual thickness ($r = 0.482$ and $r = 0.534$, respectively), (ii) right and left posterior cingulate thickness ($r = 0.576$ and $r = 0.478$, respectively), (iii) right cingulate isthmus thickness ($r = 0.424$), (iv) right fusiform thickness ($r = 0.431$), (v) right and left cortical thickness ($r = 0.516$ and $r = 0.411$, respectively), and (vi)

right parahippocampal volume ($r = 0.422$) (Table 8 and Fig. 7).

Discussion

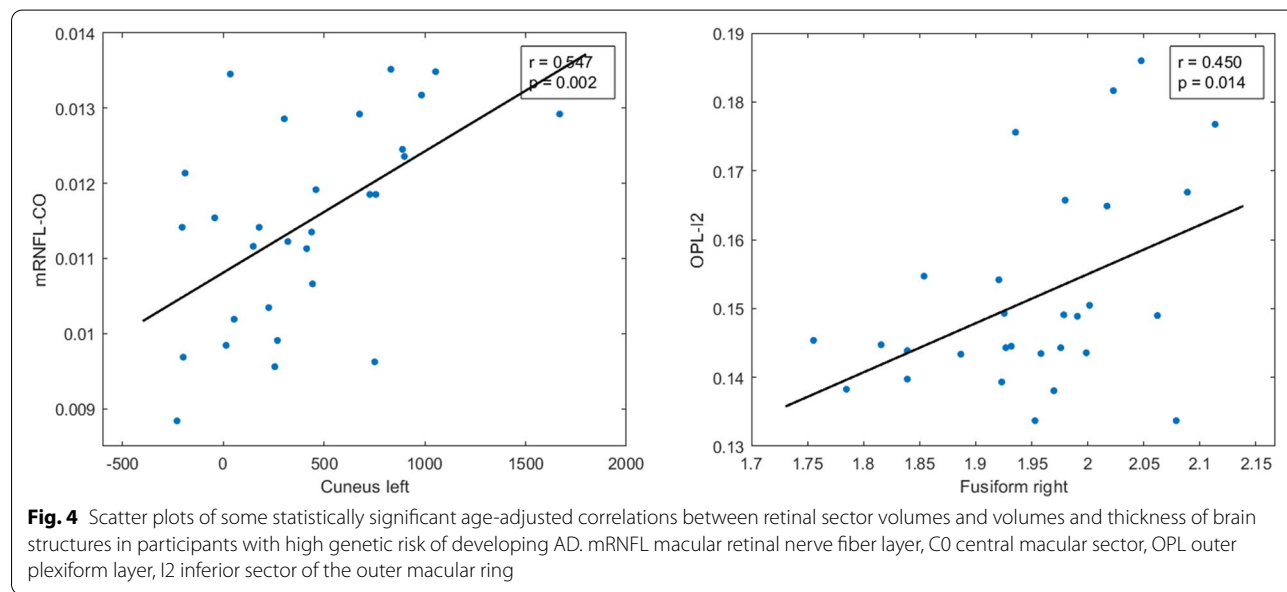
To our knowledge, no previous study has studied the relationships between the retina and different brain structures in cognitively healthy participants but with two main genetic risk factors for developing the disease: (i) having a family history of sporadic senile form of AD and (ii) carrying at least one ε4 allele for the allele of the ApoE gene. One of the chief assets of this study was the careful selection of cases. Only family members of people diagnosed with sporadic senile AD were selected, and participants were free of ocular pathology and mental or cognitive disorders that could mask the results. We analyzed both macular and peripapillary areas of the retina in correlation with 20 brain structures, making this one of the studies that analyzed the correlation of the largest number of structures.

The higher number of female participants in the FH+ ApoE ε4+ group in comparison with male participants is due to the fact that women are more involved in caring for sick parents [26]. They are also more aware that participating in the studies will further advance the

Table 6 Significant age-adjusted correlations between pRNFL thickness in different sectors and thickness and volume of brain structures in participants with a high risk of developing AD. A colorimetric scale has been applied to the degree of correlation of the variables

			FH+ ApoE ε4+					
			pRNFL					
	Brain structure	Retinal sector	G	T	ST	IT	N	SN
Thickness	Caudal anterior cingulate right		0.397		0.413			
	Posterior cingulate right		0.423		0.502	0.539		
	Posterior cingulate left			0.405	0.445	0.448		
	Isthmus cingulate right		0.509		0.509	0.379		0.429
	Isthmus cingulate left		0.435		0.414	0.434		
	Fusiform left							0.412
Volume	Entorhinal right						-0.536	
	Lingual gyrus right			0.422				
	Ventral diencephalon right					0.381		

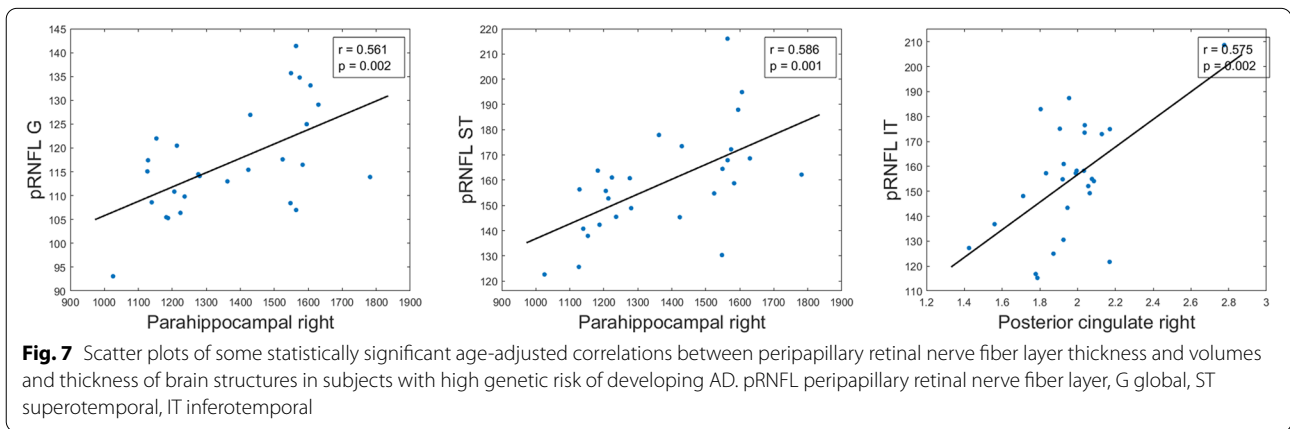
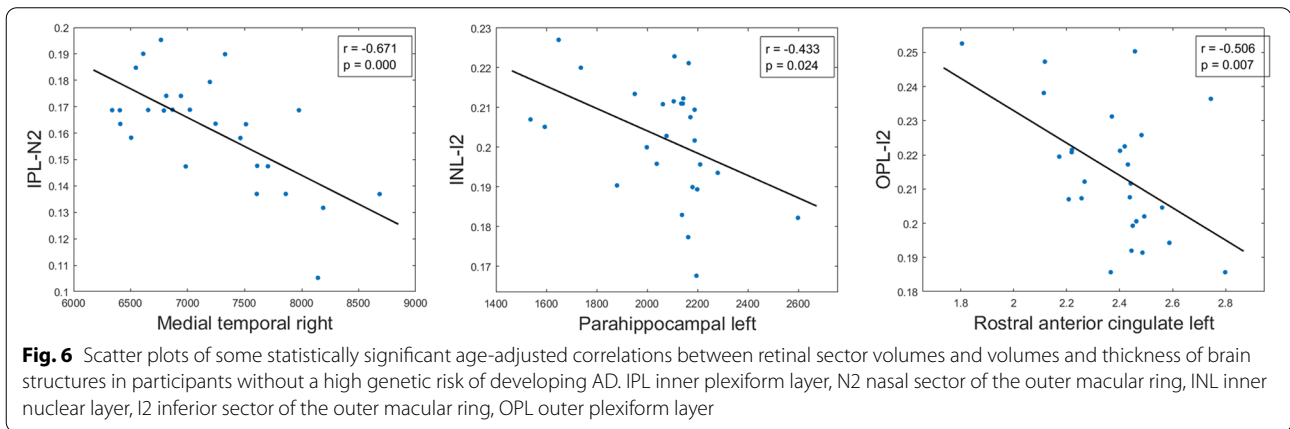
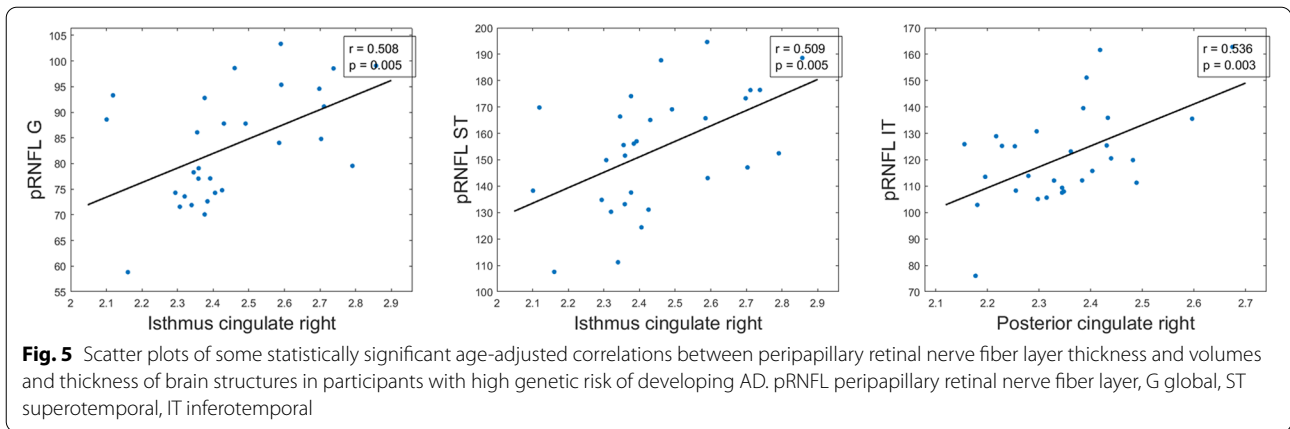
FH+ participants with a family history of AD, ApoE ε4+ carriers of ApoE ε4, pRNFL peripapillary retinal nerve fiber layer, G global, T temporal, ST superotemporal, IT inferotemporal, N nasal, SN superonasal, right right hemisphere, left left hemisphere



knowledge of Alzheimer’s disease to help both patients and their descendants [27].

Regarding the brain structural cortical thickness and volume, we did not find any correlation with the risk of developing an Alzheimer’s dementia based on familiar

history or ApoE ε4 phenotype, except for the right cingulate isthmus, which almost reached a statistical difference between both study groups. Although this region is classically involved in AD degeneration, we cannot assess its significance as it is itself affected by all the other



regions in our research. In the present study, a trend of a larger volume, without reaching statistical significance, was observed in different brain areas in the FH+ ApoE ε4+ group compared with the FH- ApoE ε4- group. Classically, it has been reported that subjects carrying at least one E4 allele for ApoE, throughout the temporal

continuum of the disease and from several decades before, present a reduction of hippocampal volume [28–31] or a focal atrophy of this area [32, 33]. Nevertheless, an inflammatory reaction mediated by progranulin has been described in patients in early stages of the disease, who already present positive markers for amyloid, which

Table 7 Significant age-adjusted correlations between retinal and brain structures in participants without a high genetic risk of developing AD. A colorimetric scale has been applied to the degree of correlation of the variables

		FH– ApoE ε4–					
		Retinal layer	IPL		INL		OPL
Brain structure		Retinal sector	N2	I2	C0	I2	I2
Thickness	Rostral anterior cingulate left						–0.506
	Entorhinal left				0.396		
Volume	Parahippocampal right					–0.510	
	Parahippocampal left		–0.429			–0.433	
	Entorhinal right		–0.516	–0.433		–0.535	
	Lingual gyrus right		–0.395				
	Cuneus left		–0.438				
	Medial temporal lobe right		–0.673	–0.534		–0.599	
	Medial temporal lobe left		–0.554			–0.516	
	Amygdala right			–0.414			
	Amygdala left		–0.501	–0.503			
	Ventral diencephalon right		–0.451	–0.412			
	Hippocampus right		–0.542	–0.394			
	Hippocampus left		–0.595			–0.442	

FH– participants without a family history of AD, ApoE ε4 noncarriers of ApoE, IPL inner plexiform layer, INL inner nuclear layer, OPL outer plexiform layer, right right hemisphere, and left left hemisphere

also contributes to producing neuroinflammatory structural changes in preclinical stages of the disease [34].

From another point of view, our group has demonstrated previously that, when compared with the healthy control group, mild cognitive impairment patients exhibited a marked decrease in functional connectivity over posterior areas accompanied by an increased in anterior-ventral regions of the brain, representing the common feature of the network failure starting in the pre-dementia stages of the disease, as a compensatory mechanism [35]. Although this increased connectivity has not been shown to require an increase in volume, it remains plausible that the increase in neuronal plasticity required to produce it would carry a transient physical increase in networks structures.

Both considering the compensatory or inflammatory hypothesis, a final possible explanation for this slight not significant increase in volume in our participants could be due to a statistical artifact being necessary to verify it in more extensive and longitudinal studies.

In our study, the FH+ ApoE ε4+ group showed a statistically significant volume decrease in the macular area in different retinal sectors compared with the FH– ApoE ε4– group. These results are in agreement with our previous study, in which we observed that there is a thinning of certain retinal sectors in relatives at high genetic risk for the development of AD [12].

It has been observed that family history of AD and the ApoE ε4 gene were associated with a thinning in the entorhinal cortex, subiculum, and medial temporal lobe, with these factors being additive to each other [18] and these structures the first to show signs of AD [36]. However, in our work, no statistically significant brain changes were observed between participants with FH+ ApoE ε4+ and FH– ApoE ε4–. This result is supported by previous studies that showed that retinal changes appear earlier than brain changes [13, 37–39]. Also, these retinal alterations, which could occur through retrograde transneuronal neurodegeneration [40], may be associated with atrophic brain changes

Table 8 Significant age-adjusted correlations between pRNFL thickness in different sectors and thickness and volume of brain structures in participants without risk for developing AD. A colorimetric scale has been applied to the degree of correlation of the variables

		FH- ApoE ε4-				
		pRNFL				
	Brain structure	Retinal sector	G	T	ST	IT
Thickness	Lingual right			0.513		0.482
	Lingual left					0.534
	Posterior cingulate right			0.423	0.405	0.576
	Posterior cingulate left					0.478
	Isthmus cingulate right					0.424
	Fusiform right			0.498	0.472	0.431
	Global cortical right					0.516
	Global cortical left					0.411
Volume	Parahippocampal right		0.561		0.587	0.422
	Entorhinal right					
	Lingual gyrus left			0.459		
	Pericalcarine right			0.533		
	Pericalcarine left			0.511	0.430	

FH- participants without family history of AD, ApoE ε4- noncarriers of ApoE ε4, pRNFL peripapillary retinal nerve fiber layer, G global, T temporal, ST superotemporal, IT inferotemporal, right right hemisphere; and left left hemisphere

already present before the appearance of clinical cognitive symptoms [17, 41].

The relationship between the brain and retina has been analyzed in other populations without a family history of AD and ApoE ε4 gene. There are previous studies that analyzed these correlations in normal older adults with mean ages of 68.0 ± 5.3 years, in which pRNFL thickness in the temporal quadrant was associated with temporal medial lobe volume and hippocampus volume, while the inferior quadrant was significantly associated with occipital lobe volume and selectively associated with the substructure of lingual gyrus volume [6]. In our work, in contrast to Shi et al., we did not find a correlation between the inferior quadrants of the pRNFL and the volume of the occipital lobe.

In a recent work undertaken in an older population (mean age: 65.1 ± 9.0 years), a positive correlation was observed between the pRNFL thickness and right and left hippocampal thickness [42]. Also, Méndez-Gómez et al., in an older population of 80.8 ± 3.9 years, found a direct correlation between pRNFL and the hippocampal fraction [43]. In agreement with these authors, we found a direct correlation in the FH+ ApoE ε4+ group between the thickness of the inferotemporal region of the pRNFL

with (i) the thickness of right and left posterior cingulate; (ii) the right and left isthmus cingulate, being these, hippocampal areas; and (iii) the volume of right ventral diencephalon. The association between the retina and medial temporal lobe volume may indicate a degeneration in both tissues at the same time, preceding clinical cognitive changes in cognitively healthy participants at risk of AD [17].

In a 12-month longitudinal study, with participants with a mean age of 71.8 ± 3.9 years, an inverse association between the mean reduction in pRNFL thickness and the decrease in central cingulate cortex volume was observed. In addition, the reduction of pRNFL thickness in the inferior quadrants was associated with the decrease of central cingulate cortex volume [44]. We found the same correlation between inferotemporal pRNFL thickness with posterior cingulate thickness in our FH+ ApoE ε4+ participants. One possible explanation of the differences between previous studies and our work could be that our participants are young elder people with a mean age of 58.8 ± 6.0 years and we only accepted MMSE values > 26 , whereas in Shi and colleagues' studies, they accepted values for the Chinese version of the Mini-Mental State Examination (CMMSE) of ≥ 24 . This issue

is important, because normal cognitive values are above 26, and lower values could mask previous stages of the disease such as subjective memory complaints or mild cognitive impairment. Furthermore, we found no significant differences in pRNFL thickness between our study groups. Altered pRNFL thickness is known to be a good marker of disease progression [16]. On the other hand, changes in this retinal layer are associated with increased susceptibility to accumulation of neurofibrillary tangles and deposition of amyloid plaques in the occipital lobe and inferior temporal lobe, which are a part of the visual association cortex [45, 46].

Ong et al. observed, in a group of 164 patients aged 40–85 years including patients with cognitive impairment without dementia ($n = 125$), cognitively healthy participants ($n = 36$), and people with dementia ($n = 3$), that GCL-IPL thinning is associated with a reduction of gray matter in occipital and temporal lobe volume [47]. In another study performed on 79 neurologically normal adults with a mean age of 76.0 ± 5.5 years, the pRNFL reduction and the decline in total macular volume and GCL volume were significantly associated with a decrease in the medial temporal volumes of the hippocampus, the parahippocampal region, and the entorhinal region [17]. In a study carried out by Mutlu and colleagues, as part of the Rotterdam Study, older patients (67 ± 9.8 years old) with MMSE values of 28 ± 1.7 , only the data of GCL, IPL, and pRNFL thickness measurements in relation to brain volume and hippocampal volume were analyzed [48]. In this study, it was found that the thinning of these retinal layers was significantly associated with lower brain volume and lower hippocampal volume, finding that this retinal thinning was associated with the thinning of both gray and white matter in the brain [48]. Chua et al., in a large population-based study (2131 participants) aged between 40 and 69 years old, also found that GCL thinning and total macular thickness were significantly associated with smaller hippocampal volume [49]. These findings are consistent with another study in 20 cognitively healthy, younger patients (50.5 ± 14.1 years old), where it was found that entorhinal gray matter volume was correlated with the GC-IPL complex [50]. In our FH– ApoE $\epsilon 4$ – group, there was a significantly inverse correlation in the IPL between the volumes of the outer nasal macular sector and the volumes of the left parahippocampal region, the right entorhinal region, the right and left medial temporal lobule, the right and left hippocampus, the right lingual gyrus, the left cuneus, the right ventral diencephalon, and the left amygdala (Table 7). In addition, there was a significant inverse correlation in this retinal layer between the outer inferior macular sector and the right entorhinal, right medial temporal lobe,

right ventral diencephalon, right hippocampus, and right and left amygdala (Table 7).

Carriers of the ApoE $\epsilon 4$ gene have a thinning of the entorhinal cortex in the left hemisphere compared with the right hemisphere, regardless of age or cognitive status [51]. In our FH– ApoE $\epsilon 4$ – participants, there was a significant correlation between the left entorhinal thickness with the C0 retinal volume in the INL. Asymmetry of cerebral cortex thickness in the entorhinal region associate to the presence of an ApoE $\epsilon 4$ allele [52], may in itself reflect pathology, but could lead to future spatial and temporal distribution patterns of pathological changes [51]. This fact may explain, why in our participants with ApoE $\epsilon 4+$, the correlation between the nasal sector of the pRNFL with the right entorhinal volume was stronger than in ApoE $\epsilon 4$ – participants.

As can be seen in the tables, most of the correlations found between the macular sectors and brain structures in FH– ApoE $\epsilon 4$ – participants are inverse, while in participants with a high genetic risk for sporadic senile form of AD (FH+ ApoE $\epsilon 4+$), they were mostly direct. This could be due to the presence or not of the ApoE $\epsilon 4$ gene, as we have already seen in the retina [12], as well as to different behaviors in the central nervous system generated by the presence of this gene [51]. When the ApoE $\epsilon 4$ gene is present, changes could occur at the same time in the retina and in different brain areas, either due to the accumulation of A β or tau protein, or to structural brain changes that would be concomitant with retinal changes. However, the absence of the ApoE $\epsilon 4$ gene could generate different behavior as the correlations are inverse and a change in brain structures would not be accompanied by retinal changes, because they would not be related to it or would not be concomitant in their genesis.

Limitations

Our study has strengths and limitations. The main strength of our work is that it is one of the brain–retina correlational studies that has analyzed the most brain areas, considering both right and left hemispheres. One of the limitations of our study is that our sample is small; however, we have made a strict selection of our participants: all participants at high genetic risk have a family history of AD and at least one $\epsilon 4$ allele for ApoE. In addition, all participants were cognitively healthy and had a MMSE score above 26. Furthermore, despite the small number of participants, the OCT results are already consistent, so if the sample was increased, certain MRI results, which are close to significance, would also be statistically significant. Longitudinal studies with larger samples of participants should be performed to confirm the etiopathogenic mechanisms

involved in the changes occurring between the retina and the brain. Such studies are necessary to understand the evolution of imaging biomarkers as well as to better predict the possible establishment of the disease in participants at high genetic risk for the development of AD, so participants with mild cognitive impairment or more advanced stages of the disease should also be included. Furthermore, if our results were replicated by other groups, it would strengthen the interpretation of our findings on retina–brain correlations. In future studies, it would be necessary to include other biomarkers for AD such as cerebrospinal fluid analysis or positron emission tomography as they would increase the value of our findings [42].

Conclusions

In conclusion, these results demonstrate that there is a correlation between changes in the retina and various brain structures in participants at high genetic risk for developing sporadic senile forms of AD. In these cognitively healthy participants, there is already a significant correlation between pRNFL thickness and the volume of brain areas closely related to AD such as the entorhinal cortex, the lingual gyrus, and the hippocampus. Moreover, with the recent approval by the Food and Drug Administration (FDA) of the first treatment capable of modifying the pathophysiology of AD, the search for cheap, non-invasive, and readily available biomarkers will be mandatory given the need for early diagnosis in participants at high risk of a pathology whose incidence will increase exponentially in the near future worldwide [53]. Therefore, OCT volume measurements and their correlations with brain area volumes could be a biomarker of AD, even in the preclinical stages of AD, and longitudinal studies are needed to really know how many of these participants eventually develop the disease.

Abbreviations

AD: Alzheimer's disease; ApoE e4: Apolipoprotein E4; A β : Amyloid-beta; C0: Central macular sector; CMMSE: Chinese version of the Mini-Mental State Examination; CSF: Cerebrospinal fluid; ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; FDA: Food and Drug Administration; FH: Family history; G: Global; GCL: Ganglion cell layer; I1: Inferior sector of the inner macular ring; I2: Inferior sector of the outer macular ring; IN: Inferonasal; INL: Inner nuclear layer; IPL: Inner plexiform layer; IT: Inferotemporal; Lh: Left hemisphere; MMSE: Mini-Mental State Examination; MRI: Magnetic resonance imaging; mRNFL: Macular retinal nerve fiber layer; N: Nasal; N1: Nasal sector of the inner macular ring; N2: Nasal sector of the outer macular ring; OCT: Optical tomography coherence; ONL: Outer nuclear layer; OPL: Outer plexiform layer; PET: Positron emission tomography; pRNFL: Peripapillary retinal nerve fiber layer; Rh: Right hemisphere; RPE: Retinal pigment epithelium; S1: Superior sector of the inner macular ring; S2: Superior sector of the outer macular ring; SN: Superonasal;

ST: Superotemporal; T: Temporal; T1: Temporal sector of the inner macular ring; T2: Temporal sector of the outer macular ring.

Supplementary Information

The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1186/s13195-022-01008-5>.

Additional file 1: Table S1. Significant age-adjusted Pearson correlations between macular volume of total retina and brain structures. **Table S2.** Significant age-adjusted Pearson correlations between macular RNFL and brain structures. **Table S3.** Significant age-adjusted Pearson correlations between GCL and brain structures. **Table S4.** Significant age-adjusted Pearson correlations between IPL and brain structures. **Table S5.** Significant age-adjusted Pearson correlations between INL and brain structures. **Table S6.** Significant age-adjusted Pearson correlations between OPL and brain structure. **Table S7.** Significant age-adjusted Pearson correlations between macular volume of ONL and brain structures. **Table S8.** Significant age-adjusted Pearson correlations between RPE and brain structures.

Additional file 2: Figure S1. Scatter plots of statistically significant correlations between retinal sector volumes and volumes and thickness of brain structures in participants with high genetic risk of developing AD.

Additional file 3: Figure S2. Scatter plots of statistically significant correlations between peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and volumes and thickness of brain structures in participants with high genetic risk of developing AD.

Additional file 4: Figure S3. Scatter plots of statistically significant correlations between retinal sector volumes and volumes and thickness of brain structures in participants without a high genetic risk of developing AD.

Additional file 5: Figure S4. Scatter plots statistically significant correlations between peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and volumes and thickness of brain structures in participants without a high genetic risk of developing AD.

Acknowledgements

Not applicable

Authors' contributions

Conceptualization: IL-C, AMD, MYF, ES-G, RdH, JMR. Data curation: IL-C, AMD, MYF, ES-G, RdH, JMR, LE-H, AIR, LS-P, AB, FR-T, LG-M. Formal analysis: IL-C, AMD, MYF, ES-G, JAF-A, JJS, MEFF, AB, LG-M, RdH, JMR. Funding acquisition: AMD, JJS, AIR, FR-T, RdH, JMR. Investigation: IL-C, AMD, MYF, RdH, JMR. Methodology: IL-C, AMD, MYF, ES-G, MEFF. Project administration: JJS, JMR. Resources: JJS, AIR, JAG, PG, RdH. Supervision: JAG, PG, RdH, JMR. Validation: MEFF, RdH, JMR. Writing — original draft: IL-C, AMD, MYF, ES-G, RdH, JMR. Writing — review and editing: IL-C, AMD, MYF, ES-G, LE-H, JAF-A, JJS, AIR, LS-P, MEFF, AB, FR-T, LG-M, JAG, PG, RdH, JMR. The authors read and approved the final manuscript.

Funding

This research was funded by the Ophthalmological Network OFTARED (RD16/0008/0005) of the Institute of Health of Carlos III of the Spanish Ministry of Science and Innovation; the Research Network RETIBRAIN (RED2018-102499-T) of the Spanish Ministry of Science and Innovation; and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Grant PSI2015 68793-C3-1-R). I.L.-C. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT42/18-CT43/18) from the Complutense University of Madrid. J.A.F.-A. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (FPU17/01023) from the Spanish Ministry of Science, Innovation, and Universities. L.S.-P. is currently supported by a Predoctoral Fellowship (CT82/20-CT83/20) from the Complutense University of Madrid.

Availability of data and materials

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

Declarations

Ethics approval and consent to participate

This study was approved by the local ethics committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS (accepted 17 December 2018), and written informed consent was obtained from all participants.

Consent for publication

Not applicable

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

Author details

¹Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmologic Research, Complutense University of Madrid, Madrid 28040, Spain. ²Health Research Institute of the Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Madrid 28040, Spain. ³Department of Medicine, School of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid 28040, Spain. ⁴Department of Neurology, Hospital Clínico San Carlos, Madrid 28040, Spain. ⁵Department of Diagnostic Imaging, Hospital Clínico San Carlos, Madrid 28040, Spain. ⁶Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Faculty of Optics and Optometry, Complutense University of Madrid, Madrid 28037, Spain. ⁷Preventive Medicine Service, Research Methodological Support Unit, Hospital Clínico San Carlos, Madrid 28040, Spain. ⁸Department of Endocrinology and Nutrition, Hospital Clínico San Carlos, Madrid 28040, Spain. ⁹Center for Biomedical Research Network on Diabetes and Associated Metabolic Diseases, Institute of Health Carlos III, Madrid 28029, Spain. ¹⁰Laboratory of Cognitive and Computational Neuroscience, Center for Biomedical Technology, Technical University of Madrid, Madrid 28223, Spain. ¹¹Department of Experimental Psychology, Complutense University of Madrid, Madrid 28040, Spain. ¹²Foundation for Biomedical Research at Hospital Clínico San Carlos (FIBHCSC), Hospital Clínico San Carlos, Madrid 28040, Spain. ¹³Department of Radiology, Rehabilitation and Radiation Therapy, School of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid 28040, Spain. ¹⁴Memory Unit, Geriatrics Service, Hospital Clínico San Carlos, Madrid 28040, Spain. ¹⁵Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Complutense University of Madrid, Madrid 28040, Spain.

Received: 8 July 2021 Accepted: 20 April 2022

Published online: 04 June 2022

References

- Association A. 2017 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement*. 2017;13:325–73. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2017.02.001>.
- Jansen WJ, Ossenkopppele R, Knol DL, Tijms BM, Scheltens P, Verhey FRJ, et al. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: a meta-analysis. *JAMA*. 2015;313:1924–38. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.4668>.
- Palmqvist S, Schöll M, Strandberg O, Mattsson N, Stomrud E, Zetterberg H, et al. Earliest accumulation of β -amyloid occurs within the default-mode network and concurrently affects brain connectivity. *Nat Commun*. 2017;8:1–13. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01150-x>.
- Villeneuve S, Rabinovici GD, Cohn-Sheehy BI, Madison C, Ayakta N, Ghosh PM, et al. Existing Pittsburgh compound-B positron emission tomography thresholds are too high: statistical and pathological evaluation. *Brain*. 2015;138:2020–33. <https://doi.org/10.1093/brain/awv112>.
- Guillozet AL, Weintraub S, Mash DC, Marsel Mesulam M. Neurofibrillary tangles, amyloid, and memory in aging and mild cognitive impairment. *Arch Neurol*. 2003;60:729–36. <https://doi.org/10.1001/archneur.60.5.729>.
- Shi Z, Cao X, Hu J, Jiang L, Mei X, Zheng H, et al. Retinal nerve fiber layer thickness is associated with hippocampus and lingual gyrus volumes in nondemented older adults. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2020;99:109824. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109824>.
- London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain - from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol*. 2013;9:44–53. <https://doi.org/10.1038/nrneuro.2012.227>.
- Sivak JM. The aging eye: common degenerative mechanisms between the Alzheimer's brain and retinal disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54:871–80. <https://doi.org/10.1167/iov.12-10827>.
- 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:S204–17. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.020>.
- Ning A, Cui J, To E, Ashe K, Matsubara J. Amyloid- β deposits lead to retinal degeneration in a mouse model of Alzheimer disease. *Investig Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:5136–43. <https://doi.org/10.1167/iov.08-1849>.
- 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:e93621. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.93621>.
- López-Cuenca I, de Hoz R, Salobrar-García E, Elvira-Hurtado L, Rojas P, Fernández-Albarral JA, et al. Macular thickness decrease in asymptomatic subjects at high genetic risk of developing Alzheimer's disease: an OCT study. *J Clin Med*. 2020;9:1728. <https://doi.org/10.3390/jcm9061728>.
- Jáñez-Escalada L, Jáñez-García L, Salobrar-García E, Santos-Mayo A, de Hoz R, Yubero R, et al. Spatial analysis of thickness changes in ten retinal layers of Alzheimer's disease patients based on optical coherence tomography. *Sci Rep*. 2019;9:1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49353-0>.
- García-Martin ES, Rojas B, Ramirez AI, de Hoz R, Salazar JJ, Yubero R, et al. Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer's disease. *Ophthalmology*. 2014;121:1149–1151.e3. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2013.12.023>.
- Salobrar-García E, Hoyas I, Leal M, de Hoz R, Rojas B, Ramirez AI, et al. Analysis of retinal peripapillary segmentation in early Alzheimer's disease patients. *Biomed Res Int*. 2015;2015:636548. <https://doi.org/10.1155/2015/636548>.
- Salobrar-García E, de Hoz R, Ramirez AI, López-Cuenca I, Rojas P, Vazirani R, et al. Changes in visual function and retinal structure in the progression of Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2019;14:e0220535. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220535>.
- Casaletto 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. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.12.011>.
- Donix M, Burggren AC, Suthana NA, Siddarth P, Ekstrom AD, Krupa AK, et al. Family history of Alzheimer's disease and hippocampal structure in healthy people. *Am J Psychiatry*. 2010;167:1399–406. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2010.09111575>.
- E.T.D.R.S Group. Grading Diabetic Retinopathy from Stereoscopic Color Fundus Photographs—an extension of the modified Airlie House classification: ETDRS report number 10. *Ophthalmology*. 1991;98:786–806. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(13\)38012-9](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(13)38012-9).
- Dale AM, Fischl B, Sereno MI. Cortical surface-based analysis: I. Segmentation and surface reconstruction. *Neuroimage*. 1999;9:179–94. <https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0395>.
- Fischl B, Sereno MI, Dale AM. Cortical surface-based analysis: II. Inflation, flattening, and a surface-based coordinate system. *Neuroimage*. 1999;9:195–207. <https://doi.org/10.1006/nimg.1998.0396>.
- Ségonne F, Dale AM, Busa E, Glessner M, Salat D, Hahn HK, et al. A hybrid approach to the skull stripping problem in MRI. *Neuroimage*. 2004;22:1060–75. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2004.03.032>.
- Ségonne F, Pacheco J, Fischl B. Geometrically accurate topology-correction of cortical surfaces using nonseparating loops. *IEEE Trans Med Imaging*. 2007;26:518–29. <https://doi.org/10.1109/TMI.2006.887364>.
- Fischl B, Sereno MI, Tootell RBH, Dale AM. High-resolution inter-subject averaging and a coordinate system for the cortical surface. *Hum Brain Mapp*. 1999;8:272–84. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0193\(1999\)8:4<272::AID-HBM10>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0193(1999)8:4<272::AID-HBM10>3.0.CO;2-4).
- Desikan RS, Ségonne F, Fischl B, Quinn BT, Dickerson BC, Blacker D, et al. An automated labeling system for subdividing the human cerebral cortex on MRI scans into gyral based regions of interest. *Neuroimage*. 2006;31:968–80. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2006.01.021>.

26. Seltzer MM, Li LW. The dynamics of caregiving: transitions during a three-year prospective study. *Gerontologist*. 2000;40:165–78. <https://doi.org/10.1093/geront/40.2.165>.
27. Jefferson AL, Lambe S, Chaisson C, Palmisano J, Horvath KJ, Karlawish J. Clinical research participation among aging adults enrolled in an Alzheimer's disease center research registry. *J Alzheimers Dis*. 2011;23:443–52. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-101536>.
28. Plassman BL, Welsh-Bohmer KA, Bigler ED, Johnson MA, Anderson CV, Helms MJ, et al. Apolipoprotein E epsilon 4 allele and hippocampal volume in twins with normal cognition. *Neurology*. 1997;48:985–9. <https://doi.org/10.1212/WNL.48.4.985>.
29. Reiman EM, Uecker A, Caselli RJ, Lewis S, Bandy D, De Leon MJ, et al. Hippocampal volumes in cognitively normal persons at genetic risk for Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 1998;44:288–91. <https://doi.org/10.1002/ana.410440226>.
30. Schmidt H, Schmidt H, Fazekas F, Semmler J, Kapeller P, Reinhart B, et al. Apolipoprotein E4 allele in the normal elderly: neuropsychologic and brain MRI correlates. *Clin Genet*. 1996;50:293–9. <https://doi.org/10.1111/J.1399-0004.1996.TB02377.X>.
31. Tohgi H, Takahashi S, Kato E, Homma A, Niina R, Sasaki K, et al. Reduced size of right hippocampus in 39- to 80-year-old normal subjects carrying the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Neurosci Lett*. 1997;236:21–4. [https://doi.org/10.1016/S0304-3940\(97\)00743-X](https://doi.org/10.1016/S0304-3940(97)00743-X).
32. de Flores R, La Joie R, Chételat G. Structural imaging of hippocampal subfields in healthy aging and Alzheimer's disease. *Neuroscience*. 2015;309:29–50. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.08.033>.
33. Burggren AC, Zeineh MM, Ekstrom AD, Braskie MN, Thompson PM, Small GW, et al. Reduced cortical thickness in hippocampal subregions among cognitively normal apolipoprotein E E4 carriers. *Neuroimage*. 2008;41:1177–83. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2008.03.039>.
34. Batzu L, Westman E, Pereira JB. Cerebrospinal fluid progranulin is associated with increased cortical thickness in early stages of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2019;88:61–70. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROBIOLAGING.2019.12.012>.
35. López-Sanz D, Bruña R, Garcés P, Martín-Buro MC, Walter S, Delgado ML, et al. Functional connectivity disruption in subjective cognitive decline and mild cognitive impairment: a common pattern of alterations. *Front Aging Neurosci*. 2017;9. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00109>.
36. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol*. 1991;82:239–59. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>.
37. Salobarra-García E, López-Cuenca I, Sánchez-Puebla L, de Hoz R, Fernández-Albarral JA, Ramírez AI, et al. Retinal thickness changes over time in a murine AD model APPNL-F/NL-F. *Front Aging Neurosci*. 2021;12:625642. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.625642>.
38. Shariflou S, Georgevsky D, Mansour H, Rezaeian M, Hosseini N, Gani F, et al. Diagnostic and prognostic potential of retinal biomarkers in early on-set Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res*. 2017;14:1000–7. <https://doi.org/10.2174/1567205014666170329114445>.
39. Masuzzo A, Dinetti V, Cavanagh C, Mascarelli F, Krantic S. Amyloidosis in retinal neurodegenerative diseases. *Front Neurol*. 2016;7:127. <https://doi.org/10.3389/fneur.2016.00127>.
40. Jindahra P, Petrie A, Plant GT. Retrograde Trans-Synaptic Retinal Ganglion Cell Loss Identified by Optical Coherence Tomography. *Brain*. 2009;132:628–34. <https://doi.org/10.1093/brain/awp001>.
41. Crisuolo C, Cerri E, Fabiani C, Capsoni S, Cattaneo A, Domenici L. The retina as a window to early dysfunctions of Alzheimer's disease following studies with a 5xFAD mouse model. *Neurobiol Aging*. 2018;67:181–8. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.03.017>.
42. Donix M, Wittig D, Hermann W, Haussmann R, Dittmer M, Bienert F, et al. Relation of retinal and hippocampal thickness in patients with amnesic mild cognitive impairment and healthy controls. *Brain Behav*. 2021;1:–9. <https://doi.org/10.1002/brb3.2035>.
43. Méndez-Gómez JL, Pelletier A, Rougier MB, Korobelnik JF, Schweitzer C, Delyfer MN, et al. Association of retinal nerve fiber layer thickness with brain alterations in the visual and limbic networks in elderly adults with-out dementia. *JAMA Netw Open*. 2018;1. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.4406>.
44. Shi Z, Zheng H, Hu J, Jiang L, Cao X, Chen Y, et al. Retinal nerve fiber layer thinning is associated with brain atrophy: a longitudinal study in nondemented older adults. *Front Aging Neurosci*. 2019;11:1–10. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2019.00069>.
45. Lewis DA, Campbell MJ, Terry RD, Morrison JH. Laminar and regional distributions of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in Alzheimer's disease: a quantitative study of visual and auditory cortices. *J Neurosci*. 1987;7:1799–808. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.07-06-01799.1987>.
46. Hof PR, Morrison JH. Quantitative analysis of a vulnerable subset of pyramidal neurons in Alzheimer's disease: II. Primary and secondary visual cortex. *J Comp Neurol*. 1990;301:55–64. <https://doi.org/10.1002/cne.903010106>.
47. Ong YT, Hilal S, Cheung CY, Venkatasubramanian N, Niessen WJ, Vrooman H, et al. Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neurosci Lett*. 2015;584:12–6. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.010>.
48. Mutlu U, Bonnemaier PWM, Ikram MA, Colijn JM, Cremers LGM, Buitendijk GHS, et al. Retinal neurodegeneration and brain MRI markers: the Rotterdam study. *Neurobiol Aging*. 2017;60:183–91. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2017.09.003>.
49. Chua SY, Lascaratos G, Atan D, Zhang B, Reisman C, Khaw PT, et al. Relationships between retinal layer thickness and brain volumes in the UK Biobank cohort. *Eur J Neurol*. 2020. <https://doi.org/10.1111/ene.14706>.
50. 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. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.117213>.
51. Donix M, Burggren AC, Scharf M, Marschner K, Suthana NA, Siddarth P, et al. APOE associated hemispheric asymmetry of entorhinal cortical thickness in aging and Alzheimer's disease. *Psychiatry Res Neuroimaging*. 2013;214:212–20. <https://doi.org/10.1016/j.pscychresns.2013.09.006>.
52. Shaw P, Lerch JP, Pruessner JC, Taylor KN, Rose AB, Greenstein D, et al. Cortical morphology in children and adolescents with different apolipoprotein E gene polymorphisms: an observational study. *Lancet Neurol*. 2007;6:494–500. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70106-0](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70106-0).
53. Fillit H, Green A. Aducanumab and the FDA — where are we now? *Nat Rev Neurol*. 2021;17:129–30. <https://doi.org/10.1038/s41582-020-00454-9>.

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



Article

Retinal Vascular Study Using OCTA in Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease and Cardiovascular Risk Factors

Inés López-Cuenca ¹, Elena Salobar-García ^{1,2,†}, Lidia Sánchez-Puebla ¹, Eva Espejel ¹, Lucía García del Arco ¹, Pilar Rojas ^{1,3}, Lorena Elvira-Hurtado ¹, José A. Fernández-Albarral ¹, Federico Ramírez-Toraño ^{4,5}, Ana Barabash ^{6,7,8}, Juan J. Salazar ^{1,2}, José M. Ramírez ^{1,9}, Rosa de Hoz ^{1,2,*} and Ana I. Ramírez ^{1,2,*}

- ¹ Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmologic Research, Group UCM 920105, Health Research Institute of the Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain; inelopez@ucm.es (I.L.-C.); elenasalobar@med.ucm.es (E.S.-G.); lidsan02@ucm.es (L.S.-P.); eespejel@ucm.es (E.E.); lugarc13@ucm.es (L.G.d.A.); pilar.rojas.lozano@gmail.com (P.R.); marelvir@ucm.es (L.E.-H.); joseaf08@ucm.es (J.A.F.-A.); jjsalazar@med.ucm.es (J.J.S.); ramirez@med.ucm.es (J.M.R.)
- ² Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, Faculty of Optics and Optometry, Complutense University of Madrid, 28037 Madrid, Spain
- ³ Madrid Eye Institute, Gregorio Marañón General University Hospital, 28007 Madrid, Spain
- ⁴ Laboratory of Cognitive and Computational Neuroscience, Center for Biomedical Technology, Technical University of Madrid, 28233 Madrid, Spain; federami@ucm.es
- ⁵ Department of Experimental Psychology, Complutense University of Madrid, 28223 Madrid, Spain
- ⁶ Department of Endocrinology and Nutrition, Health Research Institute of the Hospital Clínico San Carlos (IdISSC), 28040 Madrid, Spain; ana.barabash@gmail.com
- ⁷ Diabetes and Associated Metabolic Diseases Networking Biomedical Research Centre, Carlos III Health Institute, 28029 Madrid, Spain
- ⁸ Department of Medicine II, School of Medicine, Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain
- ⁹ Department of Immunology, Ophthalmology and ENT, School of Medicine, Complutense University of Madrid, 28040 Madrid, Spain
- * Correspondence: rdehoz@med.ucm.es (R.d.H.); airamirez@med.ucm.es (A.I.R.)
- † Current Address: Instituto de Investigaciones Oftalmológicas Ramón Castroviejo, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain.

Citation: López-Cuenca, I.; Salobar-García, E.; Sánchez-Puebla, L.; Espejel, E.; García del Arco, L.; Rojas, P.; Elvira-Hurtado, L.; Fernández-Albarral, J.A.; Ramírez-Toraño, F.; Barabash, A.; et al. Retinal Vascular Study Using OCTA in Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease and Cardiovascular Risk Factors. *J. Clin. Med.* **2022**, *11*, 3248. <https://doi.org/10.3390/jcm11113248>

Academic Editor: Cristoforo Comi

Received: 19 May 2022

Accepted: 5 June 2022

Published: 6 June 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: In 103 subjects with a high genetic risk of developing Alzheimer's disease (AD), family history (FH) of AD and ApoE $\epsilon 4$ characterization (ApoE $\epsilon 4$) were analyzed for changes in the retinal vascular network by OCTA (optical coherence tomography angiography), and AngioTool and Erlangen-Angio-Tool (EA-Tool) as imaging analysis software. Retinal vascularization was analyzed by measuring hypercholesterolemia (HCL) and high blood pressure (HBP). Angio-Tool showed a statistically significant higher percentage of area occupied by vessels in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ - group vs. in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ + group, and EA-Tool showed statistically significant higher vascular densities in the C3 ring in the FH+ ApoE $\epsilon 4$ + group when compared with: i) FH- ApoE $\epsilon 4$ - in sectors H3, H4, H10 and H11; and ii) FH+ ApoE $\epsilon 4$ - in sectors H4 and H12. In participants with HCL and HBP, statistically significant changes were found, in particular using EA-Tool, both in the macular area, mainly in the deep plexus, and in the peripapillary area. In conclusion, OCTA in subjects with genetic risk factors for the development of AD showed an apparent increase in vascular density in some sectors of the retina, which was one of the first vascular changes detectable. These changes constitute a promising biomarker for monitoring the progression of pathological neuronal degeneration.

Keywords: Alzheimer's disease; genetic risk; ApoE $\epsilon 4$; familiar history; OCTA; AngioTool; EA-Tool; retina; vascular density; cardiovascular risk factors; hypercholesterolemia; high blood pressure

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the leading cause of dementia in the world, and after patients' advanced age, genetic heritage is one of the most important risk factors for the development of the disease. Having a parental history of Alzheimer's increases the risk of developing the neurodegenerative disease [1,2], as does carrying at least one $\epsilon 4$ allele of apolipoprotein E (ApoE), which increases the risk of AD threefold for each allele [3,4]. ApoE $\epsilon 4$ modulates several mechanistic pathways such as cholesterol, lipid homeostasis, glucose metabolism, neurogenesis, synaptic function, Tau phosphorylation, neuroinflammation and amyloid beta ($A\beta$) aggregation in the central nervous system. In addition, the different ApoE genotypes modulate the function of the cerebral vasculature, reduce cerebral blood flow and increase blood–brain barrier leakage and cerebral amyloid angiopathy [5] in different ways. Research with murine models expressing ApoE $\epsilon 4$ has also identified a reduction in electroretinographic responses and lower vascular endothelial growth factor (VEGF) in the choroid and retina [6,7].

AD is characterized by the loss of brain neurons and by cerebrovascular changes in small vessels that are difficult to detect using the available brain imaging technologies [8]. Due to the similarities between the retinal and cerebral vasculature, which share embryological origin as well as physiological and anatomical properties [9], it seems logical to use the retina and its vascular network to understand the characteristics of vascular cerebral pathologies [10,11]. The retinal and cerebral vascular changes that occur in AD are caused by the accumulation of $A\beta$ in the blood vessel wall, which leads to a decrease in blood flow that over time leads to a decrease in vascular density [12]. One hypothesis that has been proposed is a decrease in angiogenesis via the sequestration of vascular endothelial growth factor in $A\beta$ plaques and the competitive binding of $A\beta$ to VEGF-2 [13]. In addition, studies on APP_{SWE}/PS1_{ΔE} transgenic mice have found that retinal plaques appear even earlier than in the brain and increase with disease progression [14]. $A\beta$ deposition around vascular walls disrupts the basement membrane of small vessels, causing endothelial damage, reducing the lymphatic function of the retina and reducing the vascular lumen [13]. These pathogenic forms of $A\beta$ can lead to the disruption of the blood–retinal barrier and to increased vascular permeability, ultimately causing neuronal damage [15]. Moreover, these changes, which are almost imperceptible using diagnostic imaging techniques, could trigger, as occurs in later stages of AD, functional changes such as those already described by Querques et al. that correspond to alterations in neurovascular coupling [16].

Optical coherence tomography angiography (OCTA) is a functional extension of OCT that allows, without the injection of any contrast, the acquisition of images that can be processed using image analysis software, enabling the retinal vascular network to be analyzed by assessing features such as the size, shape and density of the vascular blood flow [17–19].

Using this novel and noninvasive technology, various authors have identified changes in retinal vessels such as the loss of vascular density and increases in the foveal avascular zone (FAZ) in AD patients compared with participants with mild cognitive impairment (MCI) [20,21] and healthy individuals [22–24]. Vascular retinal changes have also been found in preclinical Alzheimer's participants [25]. Furthermore, these findings indicate specific characteristics in the different stages of the disease. Thus, in subjects with mild AD, the main vascular changes occur in the choroid, and there are no vascular changes in the FAZ at this stage [26], and these findings coincide with those found in the FAZ of subjects at high genetic risk for the development of AD [27]. These results suggest that it would be of great interest to study cognitively healthy subjects because changes related to neurodegenerative disease may appear decades before the onset of cognitive symptoms [28,29], and these functional and structural features may be useful for future diagnostic procedures [1].

The aim of our work was to determine whether small morphological changes in vascular density may have already occurred in subjects with a high genetic risk of

developing AD based on family history of the disease, the allelic characterization of ApoE and cardiovascular risk factors (VRF) such as hypercholesterolemia (HCL) and high blood pressure (HBP).

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

This work forms part of a multicenter study entitled “The cognitive and neurophysiological characteristics of subjects at high risk of developing dementia: a multidimensional approach” (COGDEM study). The ophthalmological examination was conducted at the Ramon Castroviejo Institute of Ophthalmic Research (IIORC), with the participation of other centers such as the Centre for Biomedical Technology (CBT) and the San Carlos Clinical Hospital in Madrid (HCSC). Two main groups were analyzed: participants with a family history of AD (FH+) and their controls. The (FH+) group consisted of subjects with at least one parent with sporadic AD. These subjects were not required to have a history of neurological or psychiatric disorders or to have severe disease. To ascertain the parent’s diagnosis of AD, a multidisciplinary team reviewed the parent’s medical records. All AD diagnoses were made according to internationally accepted criteria. Families with known autosomal dominant mutations (i.e., presenilin-1 or 2) were not included.

The control group (FH-) consisted of middle-aged participants with no first-degree family history of AD. This FH- group was matched with the FH+ group in terms of age, socioeconomic status and other demographic characteristics. These participants also had no history of neurological or psychiatric disorders or any serious illness. Both the FH+ and FH- groups showed normal scores (above 26) on the Mini-Mental State Examination (MMSE). All participants underwent genotyping for ApoE E4 allelic characterization.

Participants with ocular disease or posterior pole pathology, glaucoma or suspected glaucoma, a best corrected visual acuity of less than 20/40, greater than ± 5 D spherocylindrical refractive error or intraocular pressure >20 mmHg were excluded from the study. The study was conducted in accordance with the tenets of the Declaration of Helsinki and was approved by the local Ethics Committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS. All participants provided written informed consent.

2.2. Ophthalmological Study

First, the study subjects were screened by telephone. In this short interview, they were asked about their vision, such as whether they wore glasses and whether they were aware of their refractive error and approximate diopters, as well as whether they had undergone ocular surgery. All subjects who passed the telephone screening were scheduled for an appointment at the IIORC clinic for a complete ophthalmologic examination. This examination included measuring visual acuity and contrast sensitivity and analyzing color perception. The subjects also underwent a slit-lamp examination and intraocular pressure measurement with applanation tonometry, a fundus exam and an OCT and OCTA analysis.

Although both eyes of the patients were analyzed, we randomly selected one of them for the vascular analysis.

2.3. Classification of Patients for Retinal Vascular Network Analysis

For the retinal vascular network analysis, we classified the participants according to family history of AD (FH-, FH+) in addition to ApoE $\epsilon 4$ characterization (ApoE $\epsilon 4^-$, ApoE $\epsilon 4^+$). The first group, ApoE $\epsilon 4^-$, consisted of all subjects who did not carry any $\epsilon 4$ -allele, i.e., $\epsilon 2\epsilon 2$, $\epsilon 2\epsilon 3$, $\epsilon 3\epsilon 3$. The second group, ApoE $\epsilon 4^+$, consisted of those participants who had at least one $\epsilon 4$ allele ($\epsilon 2\epsilon 4$, $\epsilon 3\epsilon 4$, $\epsilon 4\epsilon 4$) (Figure 1).

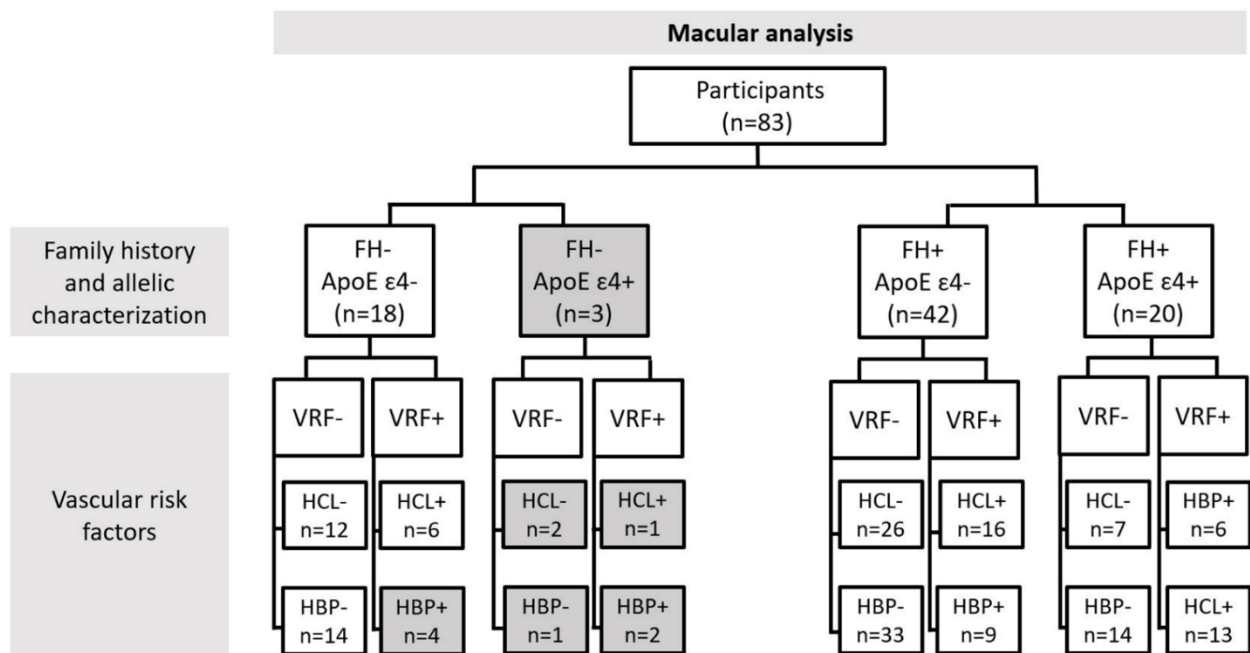


Figure 1. A flow diagram of the study groups according to the different characteristics for which the vascular network of the macular area was analyzed: FH: family history of AD; ApoE: Apolipoprotein E; VRF: vascular risk factors; HCL: hypercholesterolemia; HBP: high blood pressure.

Finally, we analyzed the retinal vascular network by family history of AD and ApoE genotype (ApoE ε4- or ApoE ε4+), in addition to vascular risk factors (VRF-, VRF+), dividing the sample according to HCL and HBP. Figures 1 and 2 show the number of participants included for the analysis of the macular area (Figure 1) and the number included for the analysis of the peripapillary area (Figure 2), following the classification explained above.

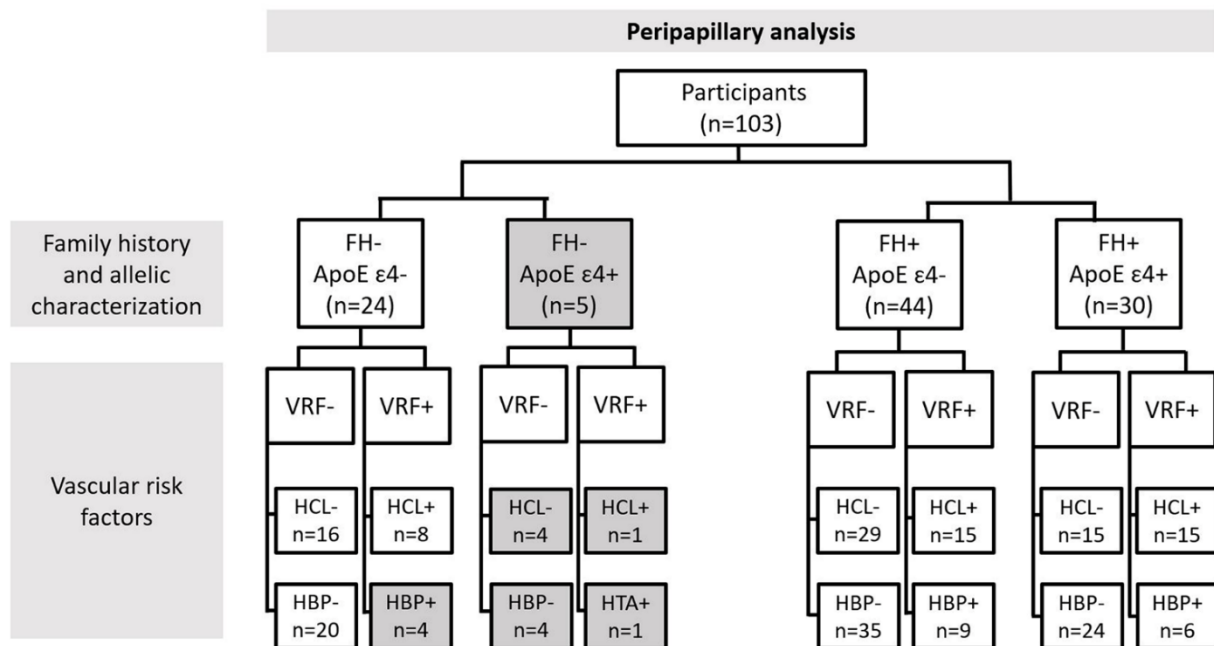


Figure 2. A flow diagram of the study groups according to the different characteristics for which the vascular network of the peripapillary area was analyzed: FH: family history of AD; ApoE:

Apolipoprotein E; VRF: vascular risk factors; HCL: hypercholesterolemia; HBP: high blood pressure.

Due to this strict classification of participants, all subgroups with $n < 6$ subjects were discarded from the statistical analysis. Discarded groups are shown in grey in Figures 1 and 2.

Only statistically significant results are shown in the tables with their respective p -values.

2.4. OCTA Acquisition and Analysis

The images were acquired using the Spectralis II OCT Angiography module (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). In our study, the macular area was analyzed using an angle of $15^\circ \times 15^\circ$ and a lateral resolution of $5.7 \mu\text{m}/\text{pixel}$. To reach the peripapillary area, the stimulus was moved to a flexible external fixation lamp and then centered on the optic nerve of the subject, and for image acquisition, an angle of $10^\circ \times 10^\circ$ and resolution of $5.7 \mu\text{m}/\text{pixel}$ were used.

All images were reviewed, and any with artifacts such as being off-center, defocus, shadows, eye movements, blinking or poor segmentation were excluded. The good-quality images were exported in TIFF format for analysis using the AngioTool software and in PNG format for analysis with the EA-Tool program.

Both these vascular analysis software tools were used to analyze the vascular networks of the macular area (both the superficial and the deep plexus) and the peripapillary area (the peripapillary capillary network).

2.4.1. AngioTool

AngioTool (version 0.6a; National Institutes of Health, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA) was designed as a lightweight tool for angiogenesis analysis, and it enables the analysis of several vascular morphometric parameters such as vessel area, total number of junctions, junction density, average vessel length, total number of ends and lacunarity [18]. The AngioTool does not divide the retina to perform the vascular examination and analyzes the entire OCTA picture (Figure 3).

The images obtained from OCTA show the retinal vasculature in white on a dark background, making them compatible with this program. In order to analyze these images, they were extracted from the Heidelberg image viewer in TIFF format, and the analysis area was cut out (Figure 3A). The AngioTool procedure has been described by Zudaire et al. [18].

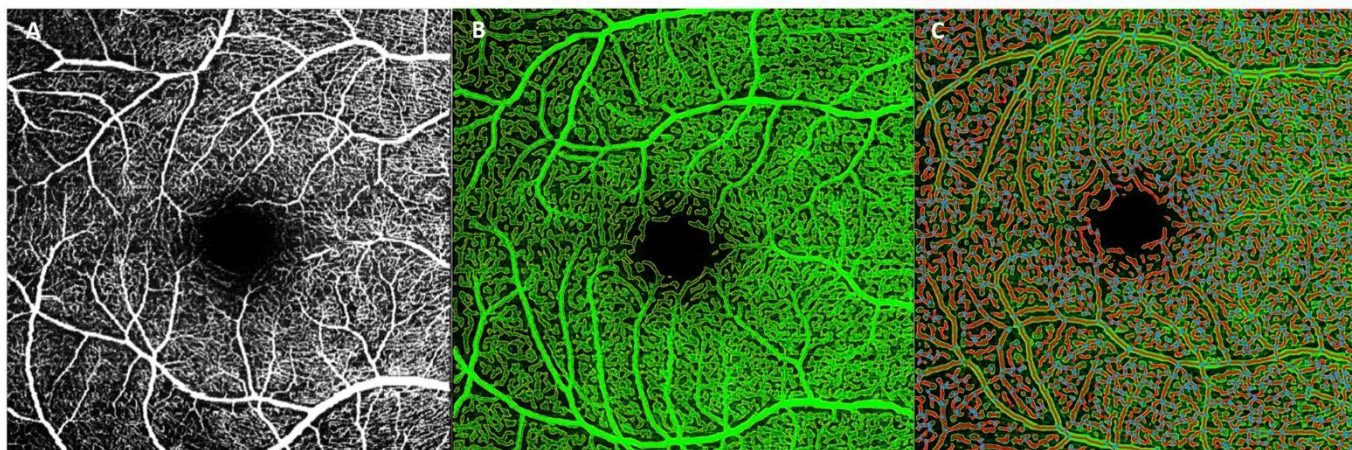


Figure 3. Image analysis using AngioTool software. (A) An OCTA image extracted from the Heidelberg image viewer in TIFF format and cut out for analysis. (B) The segmentation and skeletonization of vessels. (C) An image resulting from the analysis showing an overlay indicating

the area encompassing all vessels, a skeletal representation of the vascular network and the calculated branch points within this area.

2.4.2. Erlangen-AngioTool

Erlangen-AngioTool (EA-tool, version 1.00) is software coded in Matlab, which allows for the quantification of macular and peripapillary vessel density with reproducibility and reliability [17]. For the analysis, EA-Tool divided the OCTA into a region of interest (ROI) that was defined as 4 concentric rings (C0, C1, C2 and C3) that in turn were subdivided into 12 sectors (S1-S12) of 30° each, as described by Hosari et al. [17] (Figure 4D). For the statistical analysis of the data, the C0 ring was eliminated as it coincided in the macular area with the foveal avascular zone and in the optic nerve with the excavation and leaving of the retinal great vessels.

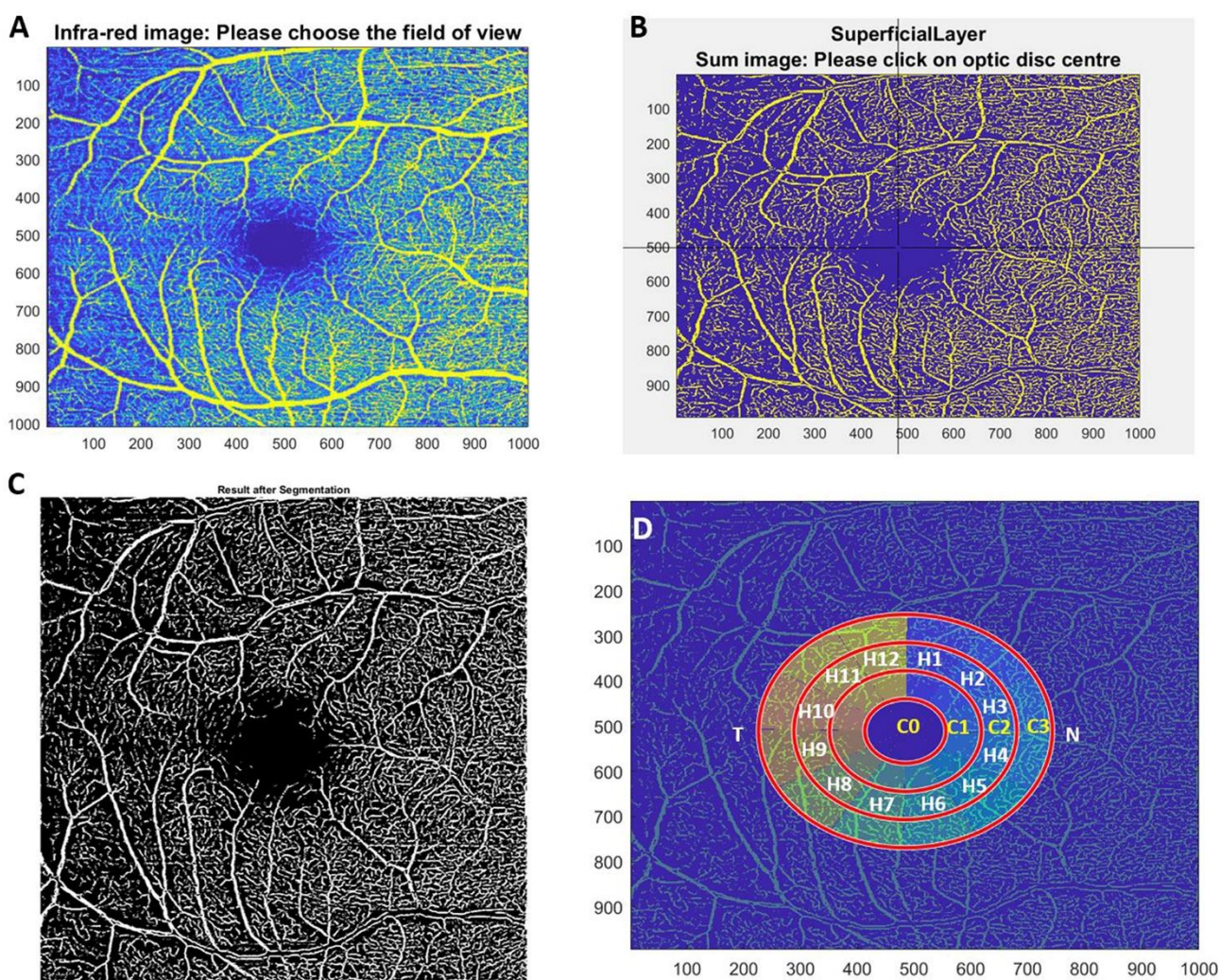


Figure 4. The analysis of vascular density using Erlangen-Angio-Tool software. (A) An infrared image where the user must delimit the analysis area. (B) The manual selection of the macula or optic nerve center, which is marked by a geometric grid and manually confirmed by a crosshair. (C) The resulting image after segmentation. (D) The segmentation into concentric rings and hourly sectors in which the analysis of the percentage of vascular density is performed.

2.5. ApoE Genotyping

As indicated in previous studies conducted in our laboratory [27,30], genomic DNA was extracted from whole blood in EDTA using standard DNA isolation methods (DNAzol®; Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA) from all participants. Using TaqMan genotyping assays on an Applied Biosystems 7500 Fast real-time PCR instrument (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), two single nucleotide polymorphisms (SNPs), rs7412 and rs429358, were genotyped. In this way, the APOE haplotypes were established. Sample controls for each genotype and negative sample controls were included in each assay. Several intra- and interplate duplicates of DNA samples were also included.

2.6. Statistical Analysis

SPSS 27.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) was used for statistical analysis. The quantitative variables were analyzed using the Mann Whitney U test, and data are presented as median (interquartile range). A p -value of <0.05 was considered statistically significant.

2.7. Colorimetric Scale

The colorimetric scale used to represent the tables of results was created using Excel software and the color scale function. The mean values were normalized to 1, which was shown in white when there were no differences, in blue when there was a decrease and in red when there was an increase in the vascular parameters analyzed. The color scale used is shown next to each table.

3. Results

3.1. Demography

All participants included in the study were Caucasian and aged 45 to 80, and their mean cognitive score on the Mini-Mental State Examination (MMSE) was 28.81 ± 0.74 .

3.2. Analysis of Retinal Vasculature According to Family History and the Allelic Characterization of ApoE $\epsilon 4$.

3.2.1. Macular Analysis

When we compared the macular area vascular measurements between the study groups with the AngioTool software, we found no statistically significant differences ($p > 0.05$).

The analysis using EA-Tool showed a significantly higher macular vascular density in the FH+ ApoE $\epsilon 4^-$ group (25.22(21.75–27.50)) compared with the FH+ ApoE $\epsilon 4^+$ group (20.65(18.26–25.63)) in the H12 sector of the C3 ring of the deep plexus (p -value = 0.041) (Table 1).

3.2.2. Peripapillary Analysis

The AngioTool analysis showed a statistically greater percentage area occupied by vessels in the FH+ ApoE $\epsilon 4^-$ group (47.52 (45.20–49.19)) compared with the FH+ ApoE $\epsilon 4^+$ group (45.83(44.29–47.22)); p -value = 0.031) (Table 1).

The EA-Tool vascular density analysis per sector identified significant changes only in the C3 ring. The comparison between FH- ApoE $\epsilon 4^-$ and FH+ ApoE $\epsilon 4^+$ showed a significantly higher vascular density in sectors H3, H4, H10 and H11 ($p < 0.05$ in all cases) (Table 1). The comparison between FH+ ApoE $\epsilon 4^-$ and FH+ ApoE $\epsilon 4^+$ revealed a significantly higher vascular density in sectors H4 and H12 ($p < 0.05$ in all cases) (Table 1).

Table 1. The vascular analysis of significant data according to family history and the characterization of ApoE ε4.

Macular analysis								
Software	Plexus	Ring	Sector	FH- ApoE ε4- (n = 18)	FH+ ApoE ε4- (n= 42)	FH+ ApoE ε4+ (n = 20)	FH- ApoE ε4- vs. FH+ ApoE ε4+ <i>p</i> -value	FH+ ApoE ε4- vs. FH+ ApoE ε4+ <i>p</i> -value
EA-Tool	DVP	C3	H12	23.3 (18.4–27.4)	25.2 (21.7–27.4)	20.6 (18.2–25.6)	0.313	0.041 *
Peripapillary analysis								
Software	Plexus	Ring	Sector	FH- ApoE ε4- (n = 24)	FH+ ApoE ε4- (n= 44)	FH+ ApoE ε4+ (n = 30)	FH- ApoE ε4- vs. FH+ ApoE ε4+ <i>p</i> -value	FH+ ApoE ε4- vs. FH+ ApoE ε4+ <i>p</i> -value
AngioTool	% Area occupied by vessels			47.1 (43.7–48.6)	47.5 (45.2–49.1)	45.8 (44.2–47.2)	0.423	0.031*
			H3	17.2 (12.0–22.6)	16.9 (13.1–27.4)	23.2 (17.4–30.5)	0.021*	0.073
			H4	16.0 (11.3–31.3)	19.6 (13.9–31.1)	23.9 (20.3–30.7)	0.030*	0.049*
EA-Tool	EA-Tool	C3	H10	22.1 (17.5–26.2)	24.1 (17.6–27.9)	27.2 (20.7–31.8)	0.037*	0.151
			H11	23.9 (17.4–27.6)	24.0 (15.1–32.0)	27.9 (23.2–37.9)	0.031*	0.057
			H12	22.8 (14.1–32.5)	17.8 (10.6–29.6)	31.5 (16.4–39.1)	0.280	0.023*

Median (IR); * $p < 0.05$ Mann-Whitney U test. HF: Family history; ApoE; vs: versus; EA-Tool: Earlagen Tool; DVP: Deep vascular plexus; IR: interquartile range.

3.3. Analysis of Retinal Vasculature According to Family History and the Allelic Characterization of ApoE ε4 in Addition to Hypercholesterolemia

None of the analyses performed with AngioTool found significant differences between the groups ($p > 0.05$).

3.3.1. Macular Analysis

When the groups were analyzed using EA-Tool, we identified significant differences that are shown in Table 2. The colorimetric scale shows the normalization of the media between groups, with red and blue representing an increase and a decrease in vascular density, respectively.

When we compared FH- ApoE ε4- HCL- with (i) FH- ApoE ε4- HCL+, the second group showed statistically significantly higher vascular density in the deep vascular plexus, in the C1H11 and in the C3H9 ($p < 0.05$, in all cases); (ii) FH+ ApoE ε4- HCL+, we found significantly higher vascular density in the deep vascular plexus and in the C1H1, C2H1, C3H1 and C3H2 ($p < 0.05$, in all cases); (iii) FH+ ApoE ε4+ HCL-, we found significant vascular density changes in the superficial vascular plexus and in the C2H11 and C3H4 ($p < 0.05$, in all cases) (Table 2).

Table 2. The *p* values of the macular vascular densities of the subjects classified by family history and the allelic characterization of ApoE ε4 and HCL using the EA-Tool.

		Peripapillary Analysis					
		FH- ApoE ε4- HCL-	FH- ApoE ε4- HCL+	FH + ApoE ε4- HCL-	FH + ApoE ε4- HCL+	FH+ ApoE ε4+ HCL-	FH+ ApoE ε4+ HCL+
Macular analysis	FH- ApoE ε4- HCL-						
	FH- ApoE ε4- HCL+	DVP C1 H11 (0.039 *)				C2 H11 (0.034 *)	C3 H3 (0.045 *)
		DVP C3 H9 (0.025 *)				C3 H11 (0.048 *)	
	FH+ ApoE ε4- HCL-					C2 H3 (0.049 *)	C2 H12 (0.041 *)
						C3 H11 (0.041 *)	
						C3 H12 (0.028 *)	
	FH+ ApoE ε4- HCL+	DVP C1 H1 (0.039 *)		SVP C3 H2 (0.023 *)			
		DVP C2 H1 (0.012 *)		DVP C1 H1 (0.036 *)			
		DVP C3 H1 (0.046 *)		DVP C2 H1 (0.009 **)			
		DVP C3 H2 (0.023 *)		DVP C3 H2 (0.020 *)			
			DVP C3 H12 (0.043 *)				
FH+ ApoE ε4+ HCL-	SVP C2 H11 (0.035 *)	DVP C1 H10 (0.022 *)	SVP C3 H4 (0.031 *)	DVP C1 H1 (0.033 *)			
				DVP C2 H1 (0.019 *)			
	SVP C3 H4 (0.022 *)	DVP C1 H11 (0.032 *)	SVP C1 H10 (0.043 *)	DVP C3 H11 (0.033 *)			
				DVP C3 H12 (0.003 **)			
FH+ ApoE ε4+ HCL+		DVP C1 H4 (0.048 *)	DVP C1 H9 (0.040 *)	SVP C3 H1 (0.016 *)			
				SVP C3 H2 (0.025 *)			
				DVP C2 H1 (0.005 **)			
				DVP C3 H1 (0.011 *)			
				DVP C3 H2 (0.025 *)			

(*p*-value); * *p* < 0.05, ** *p* < 0.01 Mann Whitney U test (FH: family history; ApoE: apolipoprotein E; HCL: hypercholesterolemia; DVP: deep vascular plexus; SVP: superficial vascular plexus).

0.68		1		1.32
------	--	---	--	------

When we compared FH- ApoE ϵ 4- HCL+ with: (i) FH+ ApoE ϵ 4+ HCL-, the second group showed statistically significantly lower vascular density in the deep vascular plexus, in the C1H10 and in the C1H11 ($p < 0.05$, in both cases); (ii) FH+ ApoE ϵ 4+ HCL+, the second group showed statistically significantly lower vascular density in the deep vascular plexus and in the C1H4 ($p < 0.05$) (Table 2).

When we compared FH+ ApoE ϵ 4- HCL- with: (i) FH+ ApoE ϵ 4- HCL+, the second group showed statistically significantly higher vascular density in the superficial vascular plexus; in the deep vascular plexus, and in the C1H1, C2H1, C3H2, and C3H12 ($p < 0.05$, in all cases); (ii) FH+ ApoE ϵ 4+ HCL-, the second group showed statistically significantly higher superficial vascular density in the C3H4 and lower superficial density in the C1H10 ($p < 0.05$, in both cases); (iii) FH+ ApoE ϵ 4+ HCL+, the second group showed statistically significantly lower deep vascular density in the C1H9 ($p < 0.05$) (Table 2).

When we compared FH+ ApoE ϵ 4- HCL+ with: (i) FH+ ApoE ϵ 4+ HCL-, the second group showed statistically significantly lower deep vascular density in the C1H1, C2H1, C3H11 and C3H12 ($p < 0.05$, in all cases); (ii) FH+ ApoE ϵ 4+ HCL+, the second group showed statistically significantly lower superficial vascular density in deep vascular density and in the C2H1, C3H1 and C3H2 ($p < 0.05$, in all cases) (Table 2).

3.3.2. Peripapillary Analysis

When we examined the vascular density around the optic nerve, we found that when we compared the FH+ ApoE ϵ 4+ HCL- group with: (i) FH- ApoE ϵ 4- HCL+, the second group showed statistically significantly lower vascular density in the C2H11 and C3H11 ($p < 0.05$, in both cases); (ii) FH+ ApoE ϵ 4- HCL-, the second group showed statistically significantly lower vascular density in the C2H3, C3H11 and C3H12 ($p < 0.05$, in all cases) (Table 2).

When we compared FH+ ApoE ϵ 4+ HCL+ with: (i) FH- ApoE ϵ 4- HCL+, the second group showed statistically significant lower vascular density in the C3H3 ($p < 0.05$); (ii) FH+ ApoE ϵ 4- HCL-, the second group showed statistically significantly higher vascular density in the C2H12 ($p < 0.05$) (Table 2).

3.4. Analysis of Retinal Vasculature According to Family History and the Allelic Characterization of ApoE ϵ 4 in Addition to High Blood Pressure

3.4.1. Macular Analysis

When we studied the vascular densities of the macular areas using the AngioTool program, statistically significant differences (decreases) were found in the total number of end points of the superficial plexus between FH+ ApoE ϵ 4- HBP- and FH+ ApoE ϵ 4+ HBP+ ($p < 0.05$) (Table 3).

When we used EA-Tool to compare the vascular density in FH- ApoE ϵ 4- HBP- with: (i) FH+ ApoE ϵ 4- HBP-, the second group showed statistically significantly higher superficial vascular density in the C1H10 ($p < 0.05$); (ii) FH+ ApoE ϵ 4- HBP+, the second group showed statistically significantly lower deep vascular density in the C1H8 ($p < 0.05$); (iii) FH+ ApoE ϵ 4+ HBP+, the second group showed statistically significantly higher superficial vascular density in the C1H5 ($p < 0.05$) (Table 3).

When we used EA-Tool to compare the vascular density in FH+ ApoE ϵ 4- HBP- with: (i) FH+ ApoE ϵ 4+ HBP-, the second group showed statistically significantly lower superficial vascular density in the deep vascular plexus and in the C1H9, C1H10, C1H11 and C1H12 ($p < 0.05$, in all instances) (Table 3).

Finally, the superficial macular vascular density in the FH+ ApoE ϵ 4+ HBP+ group was significantly higher compared with FH+ ApoE ϵ 4+ HBP- in the C3H11 ($p < 0.05$) (Table 3).

3.4.2. Peripapillary Analysis

The AngioTool peripapillary analysis revealed significant differences between FH+ ApoE ϵ 4+ HBP- and (i) FH+ ApoE ϵ 4- HBP- in the % area occupied by vessels and the mean total length of vessels ($p < 0.05$, in both cases); (ii) FH+ ApoE ϵ 4- HBP+ in the % area occupied by vessels ($p < 0.05$) (Table 3).

In the EA-Tool peripapillary analysis comparing the FH+ ApoE ϵ 4+ HBP- group with: i) FH+ ApoE ϵ 4- HBP-, the second group showed a less significant vascular density in the C3H4 and C3H12 ($p < 0.05$, in both cases); (ii) FH+ ApoE ϵ 4- HBP+, the second group showed a significantly higher vascular density in the C1H11 ($p < 0.05$) (Table 3).

In the peripapillary analysis in the FH+ ApoE ϵ 4+ HBP+ group compared with: (i) FH- ApoE ϵ 4- HBP-, the second group showed a less significant vascular density in the C1H11 ($p < 0.05$); (ii) FH+ ApoE ϵ 4- HBP-, the second group showed a less significant vascular density in the C1H11 and C2H10 ($p < 0.05$, in both cases); (iii) FH+ ApoE ϵ 4+ HBP-, the second group showed a less significant vascular density in the C1H10, C1H11 and C2H10 ($p < 0.05$, in all cases) (Table 3).

4. Discussion

The main finding of this study was that subjects who were cognitively healthy but had two genetic risk factors for developing AD also had a significantly higher vascular density compared with the group that had no FH and no ApoE ϵ 4 allele. In addition, we found that subjects with cardiovascular risk factors also had vascular density changes in some sectors of both the peripapillary and macular areas.

Cognitive status has been seen as a vascular modifying factor in both retina and brain [31], with reports of retinal differences in both vascular dynamics and vascular and perfusion density in patients who have AD compared with subjects with MCI and healthy controls [20,32–36]. In addition, the trend of retinal microvasculature loss from MCI to AD may indicate retinal vascular deterioration during disease progression, contributing to the evolution from MCI to established AD [21]. The authors have also reported that the decreased velocity and blood flow of arterioles and venules coexist with the thinning of the ganglion cell-IPL complex in subjects with AD and MCI, indicating that neurodegeneration and the alteration of the hemodynamic neurovascular system overlap in these patients [34].

Furthermore, in the retina of patients with MCI, it has been found that there are already early and progressive loss of pericytes, compromised platelet-derived growth factor receptor beta (PDGFR β) expression and the vascular accumulation of A β in the postmortem retina that compromise the integrity of the blood–retinal barrier [15].

In a previous work involving patients with MCI, Querques et al. [16] used the analysis of neurovascular coupling and the presence and amplitude of a typical biphasic response as a quality of autoregulation [37]. They demonstrated that changes in the vessel dynamics in MCI patients might suggest early functional alterations that precede the loss of retinal neurons. In our study sample, who were cognitively healthy participants, these increases in vascular density present in certain sectors could be the response to small functional changes occurring in neurovascular coupling before a neuronal alteration is present. Such small and localized changes go unnoticed in a general vascular density analysis as performed using the AngioTool analysis program; however, they become evident when analyzed by sector in concentric rings as performed using the EA-Tool program.

In subjects with preclinical stages of AD who present A β +, it has been shown that there is a statistically significantly higher vascular density compared with A β - subjects, both in the macular area and in the peripapillary area [38]. One possible explanation for this unexpected finding could be an inflammatory state of the retina in the early stages of amyloid accumulation as many studies have found that brain events occurring during the development of AD and A β accumulation are often inflammatory in nature. Assuming

that these brain events occur at the same time within the retina, it may be that in the preclinical phases, this inflammatory reaction with hypoxia causes an increase in retinal blood flow. Microvessels that are not normally detected from OCTA because of low blood flow below the level of detection will become visible. This increase in the number of microvessels detected from OCTA will result in a false increased vessel density [39]. After this initial phase, continued inflammation and accumulation of A β can cause further damage, resulting in a loss of capillaries that in turn causes decreases in vessel density, vascular thickness and therefore flow, which explains why people with established AD have a lower vascular density [9]. This decrease in vascular density is associated with reduced angiogenesis resulting from the binding of vascular endothelial growth factor (VEGF) to A β and its confinement in plaque [13,40,41]. This has been demonstrated in histopathological studies in AD brains, where the accumulation of A β and collagen has been demonstrated within brain capillaries [42,43] that share anatomical and physiological characteristics with those of the retina [9,44]. Another study analyzing vascular changes in retinal blood vessels with respect to amyloid burden in the brain revealed changes in retinal vascular parameters such as venular asymmetry factor and arteriolar length-to-diameter ratio, with these values being higher in healthy subjects with high A β plaque burden compared with healthy subjects with low plaque burden. For the authors, these results indicated that changes in vascular thickness and branching occurred in early stages of the pathology, when the accumulation of A β deposits occurs asymptotically, an event that precedes the cognitive deterioration of patients [31]. These results support our findings that FH+ ApoE E4+ subjects showed higher vascular density in the peripapillary area in selected sectors compared with the FH- ApoE ϵ 4- and FH+ ApoE ϵ 4- groups.

The differences between the findings observed in the vascular network of the macular area and in the peripapillary radial capillaries, where a greater number of alterations appeared in our study, may be due to differences in their morphology. It is known that the peripapillary radial capillaries have fewer anastomoses than the capillaries of the macular superficial capillary plexus and are therefore more susceptible to vascular dysfunction [45].

However, in our study, subjects with FH+ and ApoE ϵ 4+ had lower macular vascular density in the superotemporal sector (H12) of the C3 ring in the deep vascular plexus than those with FH+ and ApoE ϵ 4-. This could be because our patients presented two of the main genetic risk factors for the development of neurodegenerative pathology and therefore may have already presented changes in vascular dynamics. Furthermore, these results are supported by a recent study conducted in ApoE ϵ 4 carriers that found a reduction in the perfusion density in the 6 mm ETDRS macular ring and in the capillary flow index in the temporal sector compared with noncarriers. At two-year follow-up, the carriers still showed a reduction in perfusion density in the 6 mm ETDRS ring and the outer ring; however, these authors reported no differences in the rates of change between the groups [46].

Because there is a close relationship between measures of vascular function (such as perfusion pressure, arterial stiffness, carotid intima-media thickness and endothelial cell response to stress) and cognitive function [47,48], we analyzed vascular density taking into account cardiovascular risk factors such as hypertension and hypercholesterolemia, which have a strong link to reduced cerebral parenchymal blood flow and the onset of AD [49,50]. In addition, a relationship has been demonstrated between endothelial nitric oxide, which has been recognized as an important vasodilator involved in the control of vasomotor function and local blood flow [51], and cerebrovascular function, the modulation of APP processing and impairment of the functional status of microglia and of cognitive function [52].

Atherosclerosis is initiated by lipids deposited in the subendothelial layer of arterial walls that induce the expression of adhesion and chemotactic molecules. These phenomena induce the entry of monocytes/macrophages into the intima, differentiating

and forming the well-known foam cells. These cells promote atherosclerotic plaque, inducing local inflammatory responses; accelerating the migration of smooth muscle cells from the intima to the media [53]; and synthesizing extracellular matrix proteins such as collagen, elastin and proteoglycans that lead to vascular remodeling and decreased flow [54]. These phenomena, which occur with the inflammation and hypoxia produced by A β deposition in very early stages, could cause an increase in the flow through these vessels, making them visible via OCTA, which would explain the small increase in macular vascular density observed in our patients with HCL [39]

Arterial hypertension, which causes arteriolar narrowing and venular widening in the retinal circulation, is a known risk factor for the development of AD [55]. Some studies have shown that these vascular changes may precede the development of clinical hypertension [56]. In our study, it was observed that those subjects with two genetic risk factors for the development of AD and with HBP had a higher vascular density than did those without HBP. This increase observed in OCTA may be due to the increased flow caused by vascular narrowing, which makes previously imperceptible vessels visible. Another possible explanation is that venular widening causes OCTA to detect vessels of larger caliber, resulting in higher vascular density.

This study also revealed different involvement between the deep and superficial macular vascular plexus. The superficial vascular plexus is found in the retinal nerve fiber and ganglion cell layers, whereas the deep vascular plexus irrigates the inner plexiform as well as the inner nuclear and part of the outer plexiform layers. Previous studies have reported that the deep vascular plexus is affected earlier and more severely than the superficial vascular plexus, a possible explanation being the type of vessels of which they are composed: the deep plexus is formed by capillaries, whereas the superficial plexus is composed of larger vessels such as precapillary arterioles, capillaries and postcapillary venules [21]. In this study, most of the changes were observed in the deep vascular plexus, supporting the theory that in subjects at genetic risk for the development of AD, the earliest changes in retinal thickness are in the inner plexiform layer [30]. It has also been considered that the involvement of this plexus may be related to the progression of the disease [57]. However, other studies have found no involvement of the deep vascular plexus, and it is the superficial plexus that undergoes more vascular changes; these hypotheses are supported by the involvement of the inner retinal layers (retinal fiber and ganglion cell) during the disease [36].

Our study has strengths but also limitations. This is the first study to analyze vascular density in clinically ophthalmologically healthy and cognitively healthy subjects at high genetic risk for the development of AD. In addition, the analysis of OCTA images was performed using two software tools that analyze different and complementary parameters (AngioTool and EA-Tool).

One of the aspects worth noting in relation to this study was the difference in participant numbers in the macular and peripapillary analyses. This difference was due to the strict selection of images. In our study, images with any type of artifact were discarded. Although artifacts are common in OCTA images [58], it has been shown that these could have implications for quantitative results, challenging the interpretability and reproducibility of the proposed parameters for clinical trials [59]. The other limitation is the small sample size, and studies with larger numbers of patients and longitudinal studies are needed to determine whether these vascular changes can be used in clinical practice as biomarkers of AD.

Another point of discussion in our study is the age range of the participants (from 45 to 75), but there is no consensus on whether this interferes with ocular vascular density. Although Shahlaee et al. found a negative correlation between vascular density and age [60], other authors have shown that the vascular densities of both the superficial and deep plexus are not affected by age [61].

Finally, this is one of the first exploratory studies to investigate vascular density in this type of participant in detail. In accordance with this exploratory character, we decided

to take a more flexible approach to the problem of multiple comparisons. We believe that these results may serve as a first step or guide for new hypotheses and future studies that validate our results and may reveal new biomarkers for AD.

5. Conclusions

In conclusion, using OCTA in subjects with two genetic risk factors for the development of AD, an apparent increase in vascular density was detected in some sectors of the retina, probably due to the opening of arteriovenous shunts. These changes could be one of the first vascular changes detectable using OCTA in this type of subject. In addition, the alteration of vascular dynamics caused by HCL and HBP could be compensated by a slight increase in vascular density in the retina, which can be detected via detailed OCTA analysis by sector and a concentric ring as performed using the EA-Tool.

Measurements taken with OCTA may constitute a promising biomarker for monitoring the progression of pathological neuronal degeneration associated with AD and cardiovascular disease.

Author Contributions: Conceptualization, I.L.-C., E.S.-G., J.J.S., J.M.R., A.I.R. and R.d.H. and A.I.R.; data curation, I.L.-C., E.S.-G., L.S.-P., E.E., L.G.d.A., J.A.F.-A., L.E.-H., A.B. and F.R.-T.; formal analysis, I.L.-C., E.S.-G., E.E., L.G.d.A., L.S.-P., J.A.F.-A., P.R., L.E.-H., F.R.-T. and R.d.H.; funding acquisition, J.J.S., J.M.R., A.I.R. and R.d.H.; investigation, I.L.-C., E.S.-G., L.S.-P., E.E., L.G.d.A., J.A.F.-A., P.R., L.E.-H. and J.M.R.; methodology, I.L.-C., E.S.-G., L.S.-P., L.E.-H., A.B., F.R.-T. and A.I.R.; project administration, R.d.H., J.J.S., A.I.R. and J.M.R.; resources, R.d.H. and A.I.R.; supervision, R.d.H., J.J.S. and J.M.R.; validation, I.L.-C., E.S.-G., A.B., J.J.S., J.M.R. and A.I.R.; visualization, I.L.-C., E.S.-G., J.A.F.-A., J.J.S., J.M.R., A.I.R. and R.d.H.; writing—original draft, I.L.-C., E.S.-G., J.M.R., A.I.R. and R.d.H. writing—review and editing, I.L.-C., E.S.-G., L.S.-P., E.E., L.G.d.A., L.E.-H., J.A.F.-A., A.B. F.R.-T., P.R., J.J.S., J.M.R., R.d.H. and A.I.R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Ophthalmological Network OFTARED (RD16/0008/0005) of the Institute of Health of Carlos III of the Spanish Ministry of Science and Innovation; the Research Network RETIBRAIN (RED2018-102499-T) of the Spanish Ministry of Science and Innovation; and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (Grant PSI2015-68793-C3-1-R). I.L.-C. is currently supported by a predoctoral fellowship (CT42/18-CT43/18) from the Complutense University of Madrid. J.A.F.-A. is currently supported by a predoctoral fellowship (FPU17/01023) from the Spanish Ministry of Science, Innovation, and Universities. L.S.-P. is currently supported by a predoctoral fellowship (CT82/20-CT83/20) from the Complutense University of Madrid. E.E. and L.G.d.A. currently have a grant for collaboration with university departments and institutes from the Ministry of Education, Culture and Sports. The sponsor or funding organization had no role in the design or conduct of this research. Approval date: 17 December 2018.

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the local ethics committee (HCSC) with the internal code 18/422-E_BS (accepted 17 December 2018).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study

Data Availability Statement: The data supporting the findings of this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of the data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

References

1. Donix, M.; Small, G.W.; Bookheimer, S.Y. Family History and APOE-4 Genetic Risk in Alzheimer's Disease. *Neuropsychol. Rev.* **2012**, *22*, 298–309. <https://doi.org/10.1007/s11065-012-9193-2>.
2. Fratiglioni, L.; Ahlbom, A.; Viitanen, M.; Winblad, B. Risk Factors for Late-Onset Alzheimer's Disease: A Population-Based, Case-control Study. *Ann. Neurol.* **1993**, *33*, 258–266. <https://doi.org/10.1002/ana.410330306>.

3. Corder, E.H.; Saunders, A.M.; Strittmatter, W.J.; Schmechel, D.E.; Gaskell, P.C.; Small, G.W.; Roses, A.D.; Haines, J.L.; Pericak-Vance, M.A. Gene Dose of Apolipoprotein E Type 4 Allele and the Risk of Alzheimer's Disease in Late Onset Families. *Science* **1993**, *261*, 921–923. <https://doi.org/10.1126/science.8346443>.
4. Imbimbo, C.; Spallazzi, M.; Ferrari-Pellegrini, F.; Villa, A.; Zilioli, A.; Mutti, C.; Parrino, L.; Lazzeroni, D. Heart Rate Variability and Cognitive Performance in Adults with Cardiovascular Risk. *Cereb. Circ. Cogn. Behav.* **2022**, *3*, 100136. <https://doi.org/10.1016/J.CCCB.2022.100136>.
5. Tai, L.M.; Thomas, R.; Marottoli, F.M.; Koster, K.P.; Kanekiyo, T.; Morris, A.W.J.; Bu, G. The Role of APOE in Cerebrovascular Dysfunction. *Acta Neuropathol.* **2016**, *131*, 709–723. <https://doi.org/10.1007/S00401-016-1547-Z>.
6. Antes, R.; Ezra-Elia, R.; Weinberger, D.; Solomon, A.; Ofri, R.; Michaelson, D.M. ApoE4 Induces Synaptic and ERG Impairments in the Retina of Young Targeted Replacement ApoE4 Mice. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e64949. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064949>.
7. Antes, R.; Salomon-Zimri, S.; Beck, S.; Garrido, M.; Livnat, T.; Maharshak, I.; Kadar, T.; Seeliger, M.; Weinberger, D.; Michaelson, D. VEGF Mediates ApoE4-Induced Neovascularization and Synaptic Pathology in the Choroid and Retina. *Curr. Alzheimer Res.* **2015**, *12*, 323–334. <https://doi.org/10.2174/1567205012666150325182504>.
8. Katsimpris, A.; Karamaounas, A.; Sideri, A.M.; Katsimpris, J.; Georgalas, I.; Petrou, P. Optical Coherence Tomography Angiography in Alzheimer's Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Eye* **2021**, 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41433-021-01648-1>.
9. Patton, N.; Aslam, T.; MacGillivray, T.; Pattie, A.; Deary, I.J.; Dhillon, B. Retinal Vascular Image Analysis as a Potential Screening Tool for Cerebrovascular Disease: A Rationale Based on Homology between Cerebral and Retinal Microvasculatures. *J. Anat.* **2005**, *206*, 319–348. <https://doi.org/10.1111/J.1469-7580.2005.00395.X>.
10. Cheung, C.Y.L.; Ong, Y.T.; Ikram, M.K.; Ong, S.Y.; Li, X.; Hilal, S.; Catindig, J.A.S.; Venketasubramanian, N.; Yap, P.; Seow, D.; et al. Microvascular Network Alterations in the Retina of Patients with Alzheimer's Disease. *Alzheimer's Dement.* **2014**, *10*, 135–142. <https://doi.org/10.1016/J.JALZ.2013.06.009>.
11. London, A.; Benhar, I.; Schwartz, M. The Retina as a Window to the Brain—From Eye Research to CNS Disorders. *Nat. Rev. Neurol.* **2013**, *9*, 44–53. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.227>.
12. Arvanitakis, Z.; Leurgans, S.E.; Wang, Z.; Wilson, R.S.; Bennett, D.A.; Schneider, J.A. Cerebral Amyloid Angiopathy Pathology and Cognitive Domains in Older Persons. *Ann. Neurol.* **2011**, *69*, 320–327. <https://doi.org/10.1002/ana.22112>.
13. Brown, W.R.; Thore, C.R. Review: Cerebral Microvascular Pathology in Ageing and Neurodegeneration. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **2011**, *37*, 56–74. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2990.2010.01139.x>.
14. Koronyo-Hamaoui, M.; Koronyo, Y.; Ljubimov, A.V.; Miller, C.A.; Ko, M.K.; Black, K.L.; Schwartz, M.; Farkas, D.L. 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*, S204–S217. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.06.020>.
15. Shi, H.; Koronyo, Y.; Rentsendorj, A.; Regis, G.C.; Sheyn, J.; Fuchs, D.-T.; Kramerov, A.A.; Ljubimov, A.V.; Dumitrascu, O.M.; Rodriguez, A.R.; et al. Identification of Early Pericyte Loss and Vascular Amyloidosis in Alzheimer's Disease Retina. *Acta Neuropathol.* **2020**, *139*, 813–836. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02134-w>.
16. Querques, G.; Borrelli, E.; Sacconi, R.; De Vitis, L.; Leocani, L.; Santangelo, R.; Magnani, G.; Comi, G.; Bandello, F. Functional and Morphological Changes of the Retinal Vessels in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 63. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37271-6>.
17. Hosari, S.; Hohberger, B.; Theelke, L.; Sari, H.; Lucio, M.; Mardin, C.Y. OCT Angiography: Measurement of Retinal Macular Microvasculature with Spectralis II OCT Angiography—Reliability and Reproducibility. *Ophthalmologica* **2020**, *243*, 75–84. <https://doi.org/10.1159/000502458>.
18. Zudaire, E.; Gambardella, L.; Kurcz, C.; Vermeren, S. A Computational Tool for Quantitative Analysis of Vascular Networks. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e27385. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0027385>.
19. Gao, S.S.; Jia, Y.; Zhang, M.; Su, J.P.; Liu, G.; Hwang, T.S.; Bailey, S.T.; Huang, D. Optical Coherence Tomography Angiography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, OCT27–OCT36. <https://doi.org/10.1167/IOVS.15-19043>.
20. Yoon, S.P.; Grewal, D.S.; Thompson, A.C.; Polascik, B.W.; Dunn, C.; Burke, J.R.; Fekrat, S. Retinal Microvascular and Neurodegenerative Changes in Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment Compared with Control Participants. *Ophthalmol. Retin.* **2019**, *3*, 489–499. <https://doi.org/10.1016/J.ORET.2019.02.002>.
21. Jiang, H.; Wei, Y.; Shi, Y.; Wright, C.B.; Sun, X.; Gregori, G.; Zheng, F.; Vanner, E.A.; Lam, B.L.; Rundek, T.; et al. Altered Macular Microvasculature in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease. *J. Neuro-Ophthalmol.* **2018**, *38*, 292–298. <https://doi.org/10.1097/WNO.0000000000000580>.
22. Shin, J.Y.; Choi, E.Y.; Kim, M.; Lee, H.K.; Byeon, S.H. Changes in Retinal Microvasculature and Retinal Layer Thickness in Association with Apolipoprotein E Genotype in Alzheimer's Disease. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1847. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80892-z>.
23. Grewal, D.S.; Polascik, B.W.; Hoffmeyer, G.C.; Fekrat, S. Assessment of Differences in Retinal Microvasculature Using OCT Angiography in Alzheimer's Disease: A Twin Discordance Report. *Ophthalmic Surg. Lasers Imaging Retin.* **2018**, *49*, 440–444. <https://doi.org/10.3928/23258160-20180601-09>.
24. Chalkias, E.; Chalkias, I.-N.; Bakirtzis, C.; Messinis, L.; Nasios, G.; Ioannidis, P.; Pirounides, D. Differentiating Degenerative from Vascular Dementia with the Help of Optical Coherence Tomography Angiography Biomarkers. *Healthcare* **2022**, *10*, 539. <https://doi.org/10.3390/HEALTHCARE10030539>.

25. O'bryhim, B.E.; Apte, R.S.; Kung, N.; Coble, D.; Van Starven, G.P. Association of Preclinical Alzheimer Disease with Optical Coherence Tomographic Angiography Findings. *JAMA Ophthalmol.* **2018**, *136*, 1242–1248. <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2018.3556>.
26. Salobar-García, E.; Méndez-Hernández, C.; de Hoz, R.; Ramírez, A.I.; López-Cuenca, I.; Fernández-Albarral, J.A.; Rojas, P.; Wang, S.; García-Feijoo, J.; Gil, P.; et al. Ocular Vascular Changes in Mild Alzheimer's Disease Patients: Foveal Avascular Zone, Choroidal Thickness, and ONH Hemoglobin Analysis. *J. Pers. Med.* **2020**, *10*, 231. <https://doi.org/10.3390/jpm10040231>.
27. López-Cuenca, I.; de Hoz, R.; Alcantara-Rey, C.; Salobar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Fernández-Albarral, J.A.; Barabash, A.; Ramírez-Toraño, F.; de Frutos-Lucas, J.; Salazar, J.J.; et al. Foveal Avascular Zone and Choroidal Thickness Are Decreased in Subjects with Hard Drusen and without High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease. *Biomedicines* **2021**, *9*, 638. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9060638>.
28. Braak, H.; Braak, E.; Bohl, J. Staging of Alzheimer-Related Cortical Destruction. *Eur. Neurol.* **1993**, *33*, 403–408. <https://doi.org/10.1159/000116984>.
29. Ohm, T.G.; Müller, H.; Braak, H.; Bohl, J. Close-Meshed Prevalence Rates of Different Stages as a Tool to Uncover the Rate of Alzheimer's Disease-Related Neurofibrillary Changes. *Neuroscience* **1995**, *64*, 209–217. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)90397-P](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)90397-P).
30. López-Cuenca, I.; de Hoz, R.; Salobar-García, E.; Elvira-Hurtado, L.; Rojas, P.; Fernández-Albarral, J.A.; Barabash, A.; Salazar, J.J.; Ramírez, A.I.; Ramírez, J.M. Macular Thickness Decrease in Asymptomatic Subjects at High Genetic Risk of Developing Alzheimer's Disease: An OCT Study. *J. Clin. Med.* **2020**, *9*, 1728. <https://doi.org/10.3390/jcm9061728>.
31. Frost, S.; Kanagasigam, Y.; Sohrabi, H.; Vignarajan, J.; Bourgeat, P.; Salvado, O.; Villemagne, V.; Rowe, C.C.; Lance MacAulay, S.; Szoeki, C.; et al. Retinal Vascular Biomarkers for Early Detection and Monitoring of Alzheimer's Disease. *Transl. Psychiatry* **2013**, *3*, e233. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.150>.
32. Wang, X.; Zhao, Q.; Tao, R.; Lu, H.; Xiao, Z.; Zheng, L.; Ding, D.; Ding, S.; Ma, Y.; Lu, Z.; et al. Decreased Retinal Vascular Density in Alzheimer's Disease (AD) and Mild Cognitive Impairment (MCI): An Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA) Study. *Front. Aging Neurosci.* **2021**, *12*, 295. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.572484>.
33. Feke, G.T.; Hyman, B.T.; Stern, R.A.; Pasquale, L.R. Retinal Blood Flow in Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease. *Alzheimer's Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* **2015**, *1*, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.dadm.2015.01.004>.
34. Jiang, H.; Liu, Y.; Wei, Y.; Shi, Y.; Wright, C.B.; Sun, X.; Rundek, T.; Baumel, B.S.; Landman, J.; Wang, J. Impaired Retinal Microcirculation in Patients with Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0192154. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192154>.
35. Bulut, M.; Kurtuluş, F.; Gözkaya, O.; Erol, M.K.; Cengiz, A.; Akdan, M.; Yaman, A. Evaluation of Optical Coherence Tomography Angiographic Findings in Alzheimer's Type Dementia. *Br. J. Ophthalmol.* **2018**, *102*, 233–237. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2017-310476>.
36. Zhang, Y.S.; Zhou, N.; Knoll, B.M.; Samra, S.; Ward, M.R.; Weintraub, S.; Fawzi, A.A. 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*, e0214685. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214685>.
37. Kotliar, K.E.; Vilser, W.; Nagel, E.; Lanzl, I.M. Retinal Vessel Reaction in Response to Chromatic Flickering Light. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **2004**, *242*, 377–392. <https://doi.org/10.1007/s00417-003-0847-x>.
38. Van De Kreeke, J.A.; Nguyen, H.T.; Konijnenberg, E.; Tomassen, J.; Den Braber, A.; Ten Kate, M.; Yaqub, M.; Van Berckel, B.; Lammertsma, A.A.; Boomsma, D.I.; et al. Optical Coherence Tomography Angiography in Preclinical Alzheimer's Disease. *Br. J. Ophthalmol.* **2020**, *104*, 157–161. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2019-314127>.
39. Sousa, D.C.; Leal, I.; Moreira, S.; Dionísio, P.; Abegão Pinto, L.; Marques-Neves, C. Hypoxia Challenge Test and Retinal Circulation Changes—a Study Using Ocular Coherence Tomography Angiography. *Acta Ophthalmol.* **2018**, *96*, e315–e319. <https://doi.org/10.1111/aos.13622>.
40. Hunter, J.M.; Kwan, J.; Malek-Ahmadi, M.; Maarouf, C.L.; Kokjohn, T.A.; Belden, C.; Sabbagh, M.N.; Beach, T.G.; Roher, A.E. Morphological and Pathological Evolution of the Brain Microcirculation in Aging and Alzheimer's Disease. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e36893. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0036893>.
41. Wang, L.; Murphy, O.; Caldito, N.G.; Calabresi, P.A.; Saidha, S. Emerging Applications of Optical Coherence Tomography Angiography (OCTA) in Neurological Research. *Eye Vis.* **2018**, *5*, 11. <https://doi.org/10.1186/S40662-018-0104-3>.
42. De Jong, G.I.; De Vos, R.A.I.; Jansen Steur, E.N.H.; Luiten, P.G.M. Cerebrovascular Hypoperfusion: A Risk Factor for Alzheimer's Disease? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1997**, *826*, 56–74. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1997.TB48461.X>.
43. Kalaria, R.N.; Pax, A.B. Increased Collagen Content of Cerebral Microvessels in Alzheimer's Disease. *Brain Res.* **1995**, *705*, 349–352. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01250-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01250-8).
44. Nobili, F.; Frisoni, G.B.; Portet, F.; Verhey, F.; Rodriguez, G.; Caroli, A.; Touchon, J.; Calvini, P.; Morbelli, S.; De Carli, F.; et al. Brain SPECT in Subtypes of Mild Cognitive Impairment. *J. Neurol.* **2008**, *255*, 1344–1353. <https://doi.org/10.1007/S00415-008-0897-4>.
45. Henkind, P. Radial Peripapillary Capillaries of the Retina. I. Anatomy: Human and Comparative. *Br. J. Ophthalmol.* **1967**, *51*, 115–123. <https://doi.org/10.1136/BJO.51.2.115>.

46. Ma, J.P.; Robbins, C.B.; Lee, J.M.; Soundararajan, S.; Stinnett, S.S.; Agrawal, R.; Plassman, B.L.; Lad, E.M.; Whitson, H.; Grewal, D.S.; et al. Longitudinal Analysis of the Retina and Choroid in Cognitively Normal Individuals at Higher Genetic Risk for Alzheimer Disease. *Ophthalmol. Retina*. **2022**. <https://doi.org/10.1016/j.oret.2022.03.001>.
47. Elias, M.F.; Robbins, M.A.; Budge, M.M.; Abhayaratna, W.P.; Dore, G.A.; Elias, P.K. Arterial Pulse Wave Velocity and Cognition with Advancing Age. *Hypertension* **2009**, *53*, 668–673. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.126342>.
48. Pase, M.P.; Herbert, A.; Grima, N.A.; Pipingas, A.; O'Rourke, M.F. Arterial Stiffness as a Cause of Cognitive Decline and Dementia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Intern. Med. J.* **2012**, *42*, 808–815. <https://doi.org/10.1111/j.1445-5994.2011.02645.x>.
49. Vos, S.J.B.; Verhey, F.; Frölich, L.; Kornhuber, J.; Wiltfang, J.; Maier, W.; Peters, O.; Rütther, E.; Nobili, F.; Morbelli, S.; et al. Prevalence and Prognosis of Alzheimer's Disease at the Mild Cognitive Impairment Stage. *Brain* **2015**, *138*, 1327–1338. <https://doi.org/10.1093/brain/awv029>.
50. Yamashita, K.-I.; Taniwaki, Y.; Utsunomiya, H.; Taniwaki, T. Cerebral Blood Flow Reduction Associated with Orientation for Time in Amnesic Mild Cognitive Impairment and Alzheimer Disease Patients. *J. Neuroimaging* **2014**, *24*, 590–594. <https://doi.org/10.1111/jon.12096>.
51. Katusic, Z.S.; Austin, S.A. Endothelial Nitric Oxide: Protector of a Healthy Mind. *Eur. Heart J.* **2014**, *35*, 888–894. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu544>.
52. Golzan, S.M.; Goozee, K.; Georgevsky, D.; Avolio, A.; Chatterjee, P.; Shen, K.; Gupta, V.; Chung, R.; Savage, G.; Orr, C.F.; 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*, 13. <https://doi.org/10.1186/s13195-017-0239-9>.
53. Madamanchi, N.R.; Vendrov, A.; Runge, M.S. Oxidative Stress and Vascular Disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **2005**, *25*, 29–38. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000150649.39934.13>.
54. Ramírez, J.M.; Salazar, J.J.; De, R.; Rojas, B.; Gallego, B.I.; Ramirez, A.I.; Trivio, A. Choroidal Vessel Wall: Hypercholesterolaemia-Induced Dysfunction and Potential Role of Statins. In *Current Basic and Pathological Approaches to the Function of Muscle Cells and Tissues-From Molecules to Humans*; Sugi, H., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2012; pp. 255–298.
55. Sun, C.; Wang, J.J.; Mackey, D.A.; Wong, T.Y. Retinal Vascular Caliber: Systemic, Environmental, and Genetic Associations. *Surv. Ophthalmol.* **2009**, *54*, 74–95. <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2008.10.003>.
56. Ikram, M.K.; Wittman, J.C.M.; Vingerling, J.R.; Breteler, M.M.B.; Hofman, A.; De Jong, P.T.V.M. Retinal Vessel Diameters and Risk of Hypertension. *Hypertension* **2006**, *47*, 189–194. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000199104.61945.33>.
57. Uchida, A.; Pillai, J.A.; Bermel, R.; Bonner-Jackson, A.; Rae-Grant, A.; Fernandez, H.; Bena, J.; Jones, S.E.; Leverenz, J.B.; Srivastava, S.K.; et al. Outer Retinal Assessment Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography in Patients With Alzheimer's and Parkinson's Disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2018**, *59*, 2768–2777. <https://doi.org/10.1167/IOVS.17-23240>.
58. Ghasemi Falavarjani, K.; Al-Sheikh, M.; Akil, H.; Sadda, S.R. Image Artefacts in Swept-Source Optical Coherence Tomography Angiography. *Br. J. Ophthalmol.* **2017**, *101*, 564–568. <https://doi.org/10.1136/BJOPHTHALMOL-2016-309104>.
59. Holmen, I.C.; Konda, M.S.; Pak, J.W.; McDaniel, K.W.; Blodi, B.; Stepien, K.E.; Domalpally, A. Prevalence and Severity of Artifacts in Optical Coherence Tomographic Angiograms. *JAMA Ophthalmol.* **2020**, *138*, 119–126. <https://doi.org/10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2019.4971>.
60. Shahlaee, A.; Samara, W.A.; Hsu, J.; Say, E.A.T.; Khan, M.A.; Sridhar, J.; Hong, B.K.; Shields, C.L.; Ho, A.C. In Vivo Assessment of Macular Vascular Density in Healthy Human Eyes Using Optical Coherence Tomography Angiography. *Am. J. Ophthalmol.* **2016**, *165*, 39–46. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2016.02.018>.
61. Gadde, S.G.K.; Anegondi, N.; Bhanushali, D.; Chidambara, L.; Yadav, N.K.; Khurana, A.; Roy, A.S. Quantification of Vessel Density in Retinal Optical Coherence Tomography Angiography Images Using Local Fractal Dimension. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2016**, *57*, 246–252. <https://doi.org/10.1167/IOVS.15-18287>.