

**Trabajo Fin de Máster 2013-2014**

**CORRELACIÓN DEL GROSOR DE LAS CAPAS DE LA RETINA  
CON LA GRAVEDAD EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER**

Máster de Iniciación a la Investigación en Medicina.

Departamento de Cirugía, Obstetricia y Ginecología.

Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza.

**Autor:**

Juan Pinilla Borobia

MIR Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Miguel Servet

**Directores:**

Dra. Elena García Martín

Dr. Vicente Polo Llorens

## RESUMEN DEL TRABAJO

**Propósito:** Evaluar el espesor de las capas de la retina en pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA) usando la segmentación automatizada de la tomografía de coherencia óptica (OCT). Determinar si el espesor de determinadas capas de la retina se correlaciona con la gravedad de la neurodegeneración en la EA.

**Método:** Se incluyeron en el estudio 150 sujetos con EA y 75 sujetos sanos. A todos ellos se les realizó una OCT parafoveal con Spectralis OCT (Heidelberg Engineering) en uno de los ojos seleccionado aleatoriamente. Para obtener la segmentación automatizada de todas las capas de la retina se utilizó un nuevo prototipo de software para Spectralis OCT. Se comparó el espesor promedio de cada capa entre pacientes y controles, y entre sujetos con EA de menos de 3 años de evolución y aquellos con al menos 3 años de duración. Se evaluó la correlación entre los espesores de las capas de la retina, la duración de la EA y su severidad medida con la escala Mini Mental State Examination (MMSE).

**Resultados:** Los sujetos con EA mostraron una reducción significativa en el espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina, de células ganglionares, plexiforme interna y nuclear externa ( $p<0.05$ ). Las capas más internas presentaban una afectación significativamente mayor en los pacientes de larga evolución. Los espesores de la capa de células ganglionares y de la capa de fibras de la retina se correlacionaron inversamente con la duración y la gravedad de la EA.

**Conclusiones:** La aplicación de segmentación del OCT Spectralis detectó atrofia en las capas internas de la retina de los sujetos con EA, especialmente en pacientes de larga evolución. La reducción del espesor de la capa de células ganglionares se relacionó con un aumento en el daño axonal, postulándose como un predictor de severidad de la enfermedad.

# ÍNDICE

1. Introducción.....	4
2. Hipótesis.....	9
3. Objetivos.....	9
4. Material y métodos.....	9
a) Tipo de estudio.....	9
b) Sujetos del estudio.....	9
c) Protocolo exploratorio.....	11
d) Evaluación de la tomografía de coherencia óptica.....	14
e) Evaluación neurológica.....	20
f) Análisis estadístico.....	20
5. Resultados.....	21
6. Discusión.....	26
7. Conclusiones.....	29
8. Anexos:	
• I: Criterios diagnósticos en la enfermedad de Alzheimer.....	30
• II: Mini Mental State Examination.....	32
• III: Resolución favorable del Comité Ético de Aragón.....	33
9. Bibliografía.....	35

# 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa que se caracteriza por una pérdida progresiva de la memoria y de otras funciones cognitivas. A nivel neuropatológico, se define como el acúmulo extracelular de placas seniles formadas por proteína beta amiloide y marañas neurofibrilares intracelulares formadas por proteína tau hiperfosforilada, que originan muerte neuronal y pérdida de conexiones sinápticas en regiones selectivas del cerebro (*Fig. 1*). La esperanza de vida media tras el diagnóstico está entre 10 y 12 años.



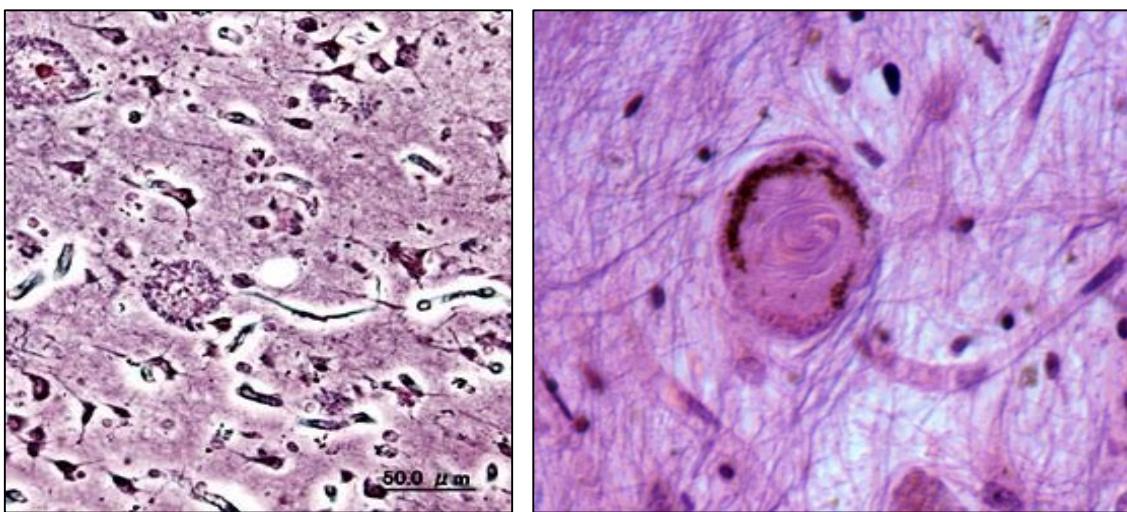
*Fig. 1.* Regiones cerebrales afectadas en el curso de la enfermedad.

Es la forma más común de demencia, con una prevalencia mundial en 2010 de 35,6 millones, con la estimación de que aumente hasta 115,4 millones en el año 2050 (1). Es incurable hasta el momento actual y con una mayor incidencia a partir de los 65 años de edad. La mayoría de los casos son esporádicos (hasta un 85%), aunque hay factores genéticos implicados en su aparición. Su prevalencia está creciendo por el aumento de la esperanza de vida en la sociedad actual, ya que el envejecimiento es el principal factor de riesgo para las formas esporádicas, por lo que la EA se ha convertido en una de las principales causas de discapacidad en los países desarrollados (2). Por este motivo se está tratando de investigar nuevas terapias así como métodos diagnósticos que permitan detectar la enfermedad de manera más precoz y controlar su evolución, especialmente en familias con mayor riesgo.

Aunque la patogenia no está totalmente esclarecida, se han emitido numerosas hipótesis, entre las que cabe destacar: la deficiencia de neurotransmisores/acetilcolina, la cascada del  $\beta$  amiloide y el estrés oxidativo.

En el cerebro de los enfermos de Alzheimer se observan dos anomalías características: una abundancia de depósitos amiloideos extracelulares, denominados placas seniles o

neuríticas (*Fig. 2*) (3), y depósitos de proteína fibrilar en el interior de las neuronas, conocidos como marañas neurofibrilares (*Fig. 3*), de proteína tau hiperfosforilada, que aparecen predominantemente en los lóbulos frontal y temporal. Las placas seniles están constituidas por depósitos extracelulares insolubles formados por varios compuestos, siendo el más abundante el péptido  $\beta$  amiloide. Este péptido deriva, por procesamiento proteolítico, de una proteína de mayor tamaño (proteína precursora amiloide o APP en sus siglas en inglés). A medida que estos procesos celulares se desarrollan, las neuronas van muriendo en el hipocampo y la corteza. La proteína tau y el  $\beta$ -amiloide son solubles en condiciones normales, sin embargo, en la enfermedad de Alzheimer, estas proteínas se vuelven insolubles (4). Por ello, un evento crucial en esta enfermedad es la disminución en la solubilidad de proteínas celulares específicas.



*Fig. 2.* Placas seniles formadas por depósitos amiloideos extracelulares.

*Fig. 3.* Maraña neurofibrilar intracelular constituida por proteína tau hiperfosforilada.

Posteriores estudios de biología molecular y otras tecnologías han ofrecido la posibilidad de conocer las alteraciones moleculares de esta enfermedad. En pacientes con EA familiar de inicio temprano, se han encontrado mutaciones en el gen que codifica la proteína precursora del amiloide (APP), que se ubica en el cromosoma 21. El genotipo apolipoproteína E4 aparece como factor de riesgo en la enfermedad familiar de iniciación tardía y en la esporádica, que es la forma más frecuente. También aparecen mutaciones múltiples en los genes de la presenilina 1 y la presenilina 2 en algunos casos.

La EA implica también una deficiencia en neurotransmisores múltiples. La alteración más consistente en los neurotransmisores de la corteza cerebral de estos enfermos es la pérdida de marcadores colinérgicos, colina acetiltransferasa y acetilcolinesterasa. Por

ello, se han desarrollado diversas estrategias para elevar la neurotransmisión colinérgica.

Los inhibidores de la colinesterasa son, en el momento presente, el tratamiento más utilizado en estos pacientes. Como la EA es una patología heterogénea, el rango de las respuestas es variable y el tratamiento ha de ser individualizado. El aumento de la función colinérgica con perfiles favorables respecto a los efectos colaterales, puede crear una mejora potencial de la memoria y la cognición. Los medicamentos denominados antidepresivos que se utilizan son el donepezilo (Aricept®) y la rivastigmina (Exelon® y Prometax®). Otros, como la memantina, un antagonista del receptor de NMDA del glutamato, normaliza la transmisión de la señal afectada por el glutamato.

El envejecimiento, bajo la hipótesis de la implicación del estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas, es el principal factor de riesgo en las formas esporádicas (no genéticas) de la EA, las cuales suponen el 85% de los casos.

Los criterios para diagnosticar EA se basan principalmente en síntomas del orden cognitivo, conductual y social, a través de una evaluación neurocognitiva del paciente y de entrevista a familiares. En el caso de los criterios expuestos en el DSM IV-tr (Clasificación de enfermedades mentales de la American Psychiatric Association), entre otros, para realizar el diagnóstico es necesario que el paciente presente déficit en la memoria y, en segundo lugar, deterioro en al menos una de las siguientes funciones: lenguaje, praxias, gnosis y funcionamiento ejecutivo, causando un deterioro significativo en su actividad social y laboral en comparación al estadio premórbido. Este deterioro debe ser gradual y continuo, y no deberse a otras enfermedades neurológicas, sistémicas o por consumo de sustancias (5).

Actualmente, se han consensuado nuevas entidades nosológicas con la intención de clasificar a los pacientes con alteraciones cognitivas leves (Deterioro Cognitivo Leve) que potencialmente pudieran evolucionar a una demencia (6). Sin embargo, se ha descrito que el Deterioro Cognitivo Leve no necesariamente llevaría a una EA u otra demencia; algunos casos vuelven a un estado cognitivo normal (7).

El diagnóstico acertado y precoz en las demencias es importante para dirigir el tratamiento, el abordaje psicosocial del paciente y proporcionar información y soporte a los familiares. Actualmente, con la excepción de los pacientes con mutaciones genéticas, el diagnóstico de certeza en las demencias sólo se puede establecer tras el estudio anatopatológico postmortem de tejido cerebral. El diagnóstico clínico,

combinado con test neuropsicológicos, continúa siendo la herramienta fundamental para catalogar una demencia como EA. Pero en una 10-15 % de los casos ha demostrado ser impreciso (8).

Un biomarcador para la EA debe ser una característica biológica medible de la actividad normal o patológica del cerebro, que pueda emplearse para diagnosticar el riesgo, gravedad o progresión de la enfermedad, además de ser útil para monitorizar la respuesta a medidas terapéuticas (9). En la actualidad, se investigan distintos tipos de biomarcadores. La mayoría se pueden catalogar en 3 grupos: los biomarcadores genéticos, los de neuroimagen y aquellos mensurables en líquido cefalorraquídeo (10).

Una de las áreas más alentadoras es el diagnóstico neural por imágenes. Ejemplos de esto son la tomografía por emisión de positrones (PET), la tomografía computarizada por emisión única de fotones (SPECT), y las imágenes por resonancia magnética (RNM). Estas “ventanas” al cerebro *in vivo* pueden ayudar a medir los cambios tempranos en la función o estructura cerebral. Aunque no existe ninguna herramienta de diagnóstico por imagen con una buena sensibilidad o especificidad, si se puede obtener un alto valor predictivo positivo aglutinando características cuantitativas y cualitativas de las imágenes, permitiendo un mayor acierto en el diagnóstico diferencial (11).

Los síntomas visuales son frecuentes en los comienzos de la EA (12,13). Habitualmente, se han atribuido al daño cortical producido por la enfermedad (14,15). Pero recientemente, se han publicado varios estudios que han demostrado cambios degenerativos en el nervio óptico y la alteración de la CFNR en pacientes con EA (16-19) y deterioro cognitivo leve (20,21).

La retina es una parte del sistema nervioso central de fácil acceso para el examen clínico. La CFNR se compone fundamentalmente de axones no mielinizados procedentes de las células ganglionares de la retina; por lo que las mediciones de su espesor aportan una valoración relativamente directa de los axones y por lo tanto del daño axonal.

La evaluación estructural, tanto de la CFNR como de la cabeza del nervio óptico, se ha llevado a cabo clásicamente mediante oftalmoscopia y fotografías monocromáticas de la retina (22), permitiendo únicamente una valoración cualitativa de estas estructuras y muy dependiente de la experiencia del examinador. Además, incluso en manos de un observador con amplia experiencia, es necesaria una pérdida superior al 50% de las células ganglionares de la retina para que puedan observarse defectos en la CFNR mediante estas técnicas exploratorias. El importante desarrollo de las técnicas de

análisis digital de imagen ocurrido en las últimas décadas ha permitido la aparición de nuevos instrumentos diagnósticos aplicados al campo de la oftalmología, tales como la Tomografía de coherencia óptica y la Polarimetría láser. Estos instrumentos proporcionan un preciso y reproducible análisis de las distintas estructuras de la retina, en concreto de la cabeza del nervio óptico y de la CFNR (23-28), en tan sólo unos segundos. Comparadas con los medios previos, las recientemente incorporadas tecnologías aportan una valoración cuantitativa y objetiva, independiente del examinador, proporcionando análisis muy precisos en un corto periodo de tiempo de prueba.

La tomografía de coherencia óptica (OCT) es capaz de medir cuantitativamente *in vivo* la morfología del espesor histológico de la retina. Muchos son los estudios sobre enfermedades neurodegenerativas que utilizan la OCT como principal medio de detección de alteraciones en el espesor de la CFNR (29-33), así como alteraciones maculares.

En nuestro estudio se quiere demostrar la pérdida de fibras nerviosas de la retina y el nervio óptico en la EA y su aplicación como biomarcador precoz de neurodegeneración en EA, incluso previo al daño del hipocampo que conlleva la pérdida de memoria (34).

Para ello emplearemos como herramienta fundamental el Spectralis OCT y su última actualización, que incorpora una aplicación que diferencia y cuantifica 10 capas en el espesor retiniano (35).

Cada capa de la retina en sujetos enfermos se comparará con la de los sujetos sanos. También se buscará relacionar los cambios en las capas de la retina en función de la gravedad de la enfermedad y su duración, con la finalidad de proponer esta tecnología de medición de daño axonal como biomarcador de la enfermedad.

En caso de confirmarse la utilidad de estas técnicas como marcador biológico del daño axonal en la EA podrían resultar de gran utilidad en tres ámbitos fundamentales. En primer lugar, podrían utilizarse como control evolutivo de la enfermedad, si se encontrara algún tipo de correlación con exámenes de función cognitiva como el Mini Mental State Examination (MMSE). En segundo lugar, podrían utilizarse como marcadores de la eficacia de las terapias actuales y futuras, dirigidas a intentar enlentecer el proceso de deterioro cognitivo. Y por último, como marcador biológico de diagnóstico precoz en estadios iniciales, sobre todo para los pacientes que por sus antecedentes familiares tienen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.

## **2. HIPÓTESIS:**

Existe una asociación entre el espesor de algunas capas de la retina y la gravedad de la enfermedad de Alzheimer.

## **3. OBJETIVOS**

1. Evaluar el espesor de las capas de la retina en pacientes con enfermedad de Alzheimer usando la segmentación automatizada del dispositivo de tomografía de coherencia óptica Spectralis OCT.
2. Comparar los espesores y obtener las diferencias entre sujetos sanos y sujetos enfermos mediante dos protocolos del dispositivo Spectralis OCT.
3. Determinar si el espesor de determinadas capas de la retina se correlaciona con la gravedad de la neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer, en función de la duración de la misma.
4. Determinar si el espesor de determinadas capas de la retina se correlaciona con la gravedad de la neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer, en función de la gravedad del estado cognitivo.

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

### **a) TIPO DE ESTUDIO**

Se trata de un estudio descriptivo observacional transversal llevado a cabo por los servicios de oftalmología y neurología del Hospital Universitario “Miguel Servet”. La inclusión de los pacientes se realizó de manera prospectiva.

### **b) SUJETOS DE ESTUDIO**

Basándonos en estudios previos y asumiendo un error tipo 1 del 5% y tipo 2 del 10%, calculamos que al menos era necesario un tamaño muestral de 86 pacientes para detectar diferencias significativas en el grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR). Un total de 225 sujetos (150 pacientes y 75 sujetos sanos pareados por sexo y edad) fueron seleccionados para reforzar el poder del estudio. Los pacientes

reclutados fueron proporcionados por la Asociación de Familiares de Enfermos de Alzheimer de Aragón (AFEDAZ).

Al ser el objetivo del estudio evaluar las capas de la retina en diferentes fases de la enfermedad, fueron incluidos pacientes con EA tanto de larga duración como de reciente diagnóstico. Basándose en el Mini Mental State Examination (MMSE) se seleccionaron pacientes en estado de demencia leve, moderada o grave.

#### **a. Criterios de inclusión**

- Diagnóstico de EA confirmada
  - o El diagnóstico de EA fue realizado por neurólogos de acuerdo con los criterios de (ANEXO I):
    - El National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association
    - El Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV)
- Mejor agudeza visual corregida (MAVC) de 0.1 o mayor (optotipo de Snellen) en cada ojo.
- Presión intraocular (PIO) menor de 21 mmHg para excluir la posibilidad de adelgazamiento de la CFNR por otras causas como el glaucoma crónico simple.

#### **b. Criterios de exclusión**

- Presencia de errores de la refracción significativos (> 5 dioptrías de equivalente esférico o 3 dioptrías de astigmatismo).
- Patología sistémica que pudiera afectar a la visión.
- Historia de trauma ocular o enfermedades oftalmológicas concomitantes:
  - o patología corneal
  - o patología retiniana
  - o glaucoma: PIO mayor de 21 mmHg, excavación del nervio óptico de 0.5 o mayor o defecto arciforme en el campo visual

Los controles sanos no tenían evidencia de enfermedad de ninguna naturaleza, incluidas las enfermedades neurológicas.

Todos los procedimientos se atenían a las normas de la Declaración de Helsinki. El protocolo fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA) (ANEXO III).

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

### c) PROTOCOLO EXPLORATORIO

Los parámetros registrados fueron:

- Duración de la enfermedad desde el diagnóstico
- Evaluación MMSE (ANEXO II)
- Mejor agudeza visual corregida (optotipo Snellen) (CUADRO I)
- Biomicroscopia del segmento anterior mediante lámpara de hendidura
- Tonometría de aplanamiento Goldmann
- Oftalmoscopia del segmento posterior
- Al menos una valoración del campo visual (CUADRO II) por ojo utilizando el dispositivo Humphrey Field analyzer, model 750i (Zeiss Humphrey Systems, Dublin, CA), con la estrategia Swedish Interactive Threshold Algorithm Standard 30-2. Si las pérdidas de fijación eran mayores del 15 % o los falsos-positivos o falsos-negativos mayores del 20%, el test se repetía (36). Fueron excluidos los sujetos con perimetrías que no cumplían los estándares de confiabilidad o que mostraban defectos por alteraciones como accidentes cerebro-vasculares, tumores, neuritis y otros diagnósticos que afectan a la vía óptica.

#### CUADRO I

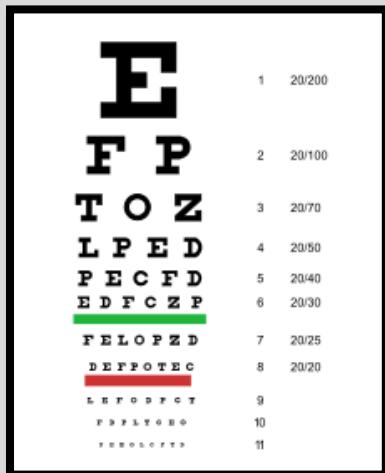
##### Agudeza visual (AV)

La medición de la AV puede realizarse mediante diferentes escalas, siendo una de las principales pruebas para la evaluación de la función visual.

La AV se define como la capacidad para distinguir dos elementos separados de un objeto e identificarlos como un todo y se cuantifica como el ángulo mínimo de separación entre dos objetos que permite distinguirlos como objetos separados.

La AV evalúa la función macular e informa de la precisión del enfoque retiniano, de la integridad de los elementos neurológicos del ojo y de la capacidad interpretativa del cerebro.

En este estudio se ha empleado el optotipo de Snellen (*Fig. 4*), cuyo resultado expresa la relación entre la última letra que el paciente ha visto y la distancia (expresada en ángulos métricos o en pies) a la que debería verla si la AV fuera del 100%. En la práctica clínica habitual este resultado se traduce a una puntuación decimal (fracción de la escala de Snellen, ej: 6/12 de Snellen= 0'5 de escala decimal). Los resultados en nuestro estudio se han expresado en puntuación decimal, considerando 1 la agudeza visual del 100%.



*Fig. 4.* Optotipo de Snellen

## CUADRO II

### Perimetría automatizada (PA) o campo visual (CV)

Se utiliza para cuantificar el CV del paciente y es la prueba funcional más empleada en oftalmología después de la medición de la AV.

El término de perimetría se refiere a la medida del CV sobre una superficie curva y ha venido a sustituir al término de campimetría en la práctica clínica. El CV es la porción del espacio que es capaz de captar el ojo inmóvil en un momento dado. La disminución del espesor de la CNFR puede producir una pérdida de CV, que generalmente pasa desapercibida en fases precoces y sólo se detecta en la perimetría cuando existe una reducción importante del número de células ganglionares.

El desarrollo del perímetro de proyección hemisférica de Goldmann en 1945 facilitó el paso a la era moderna de la perimetría cinética cuantitativa.

El desarrollo tecnológico a partir de los años 70 originó la aparición de la PA o computarizada (*Fig.5*).

En la PA los estímulos luminosos blancos se representan sobre una superficie blanca con una iluminación reproducible. La luz se presenta durante 0,2 segundos y se busca el umbral de la capacidad sensorial de cada punto incrementando y disminuyendo ligeramente la intensidad del estímulo (medida en decibelios, dB). El valor obtenido se expresa en unidades de luminancia, siendo la más utilizada el apostilb (asb). Para garantizar la fiabilidad de la exploración la fijación del paciente se controla utilizando el método de Heijl-Krakau. Una vez obtenidos los datos los representa numéricamente y mediante una escala de grises (Fig. 6).



Fig. 5. Perímetro Humphrey Visual Field Analyzer.

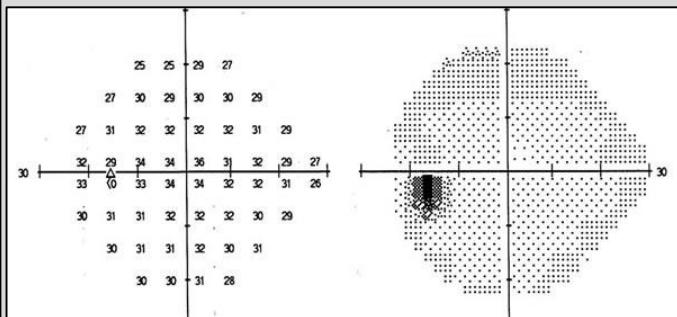


Fig. 6. Representación del resultado de un CV con el ojo izquierdo Analyzer.

Las principales ventajas de la PA respecto a las técnicas anteriores son su reproducibilidad, la mayor sensibilidad a los defectos leves, el hecho de que no precisa personal experto en realizar perimetría y la obtención de datos numéricos para comparar evolución.

La PA ha demostrado una buena correlación entre la localización de los defectos en el campo visual y la lesión estructural apreciable en otras pruebas diagnósticas como la fotografía de la CFNR y las imágenes obtenidas por polarimetría u OCT.

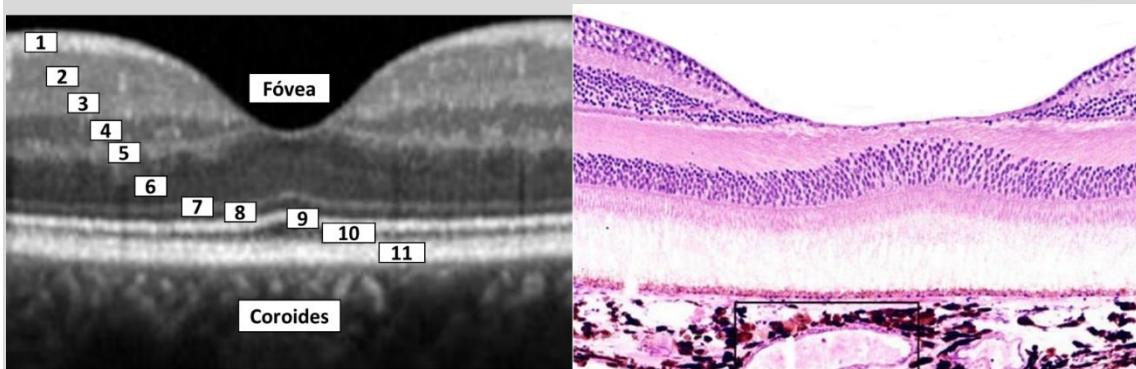
A pesar de lo mucho que puede aportar esta prueba, presenta algunas limitaciones en sujetos que presenten una edad avanzada, miosis, opacidad de medios (por ejemplo, catarata importante), o ametropías. Además requiere la colaboración del paciente para un resultado correcto, y en procesos neurodegenerativos, donde el paciente puede presentar alteraciones posturales o del movimiento, el resultado de la prueba puede verse alterado por una baja confiabilidad.

#### d) EVALUACIÓN DE LA OCT

CUADRO III

##### Tomografía de coherencia óptica (OCT) (50-53)

La tomografía de coherencia óptica es una técnica de imagen no invasiva que permite obtener cortes transversales micrométricos mediante el análisis del reflejo de la luz sobre el tejido a estudiar, en este caso la retina (*Fig. 7*).



*Fig. 7.* Correspondencia de una imagen foveal tomográfica con las estructura histológica del tejido retiniano. Se distinguen las siguientes capas retinianas gracias a las diferencias en la reflectividad a la luz de baja coherencia: 1. Capa de fibras nerviosas de la retina. 2. Capa de células ganglionares. 3. Capa plexiforme interna. 4. Capa nuclear interna. 5. Capa plexiforme externa. 6. Capa nuclear externa. 7. Membrana limitante externa. 8. Segmentos internos de los fotorreceptores. 9. Unión de los segmentos internos-externos de los fotorreceptores. 10. Segmentos externos de los fotorreceptores. 11. Complejo del epitelio pigmentario de la retina- Membrana de Bruch.

Aunque la historia de la OCT es breve, su relevancia hoy en día en la oftalmología es incuestionable. En menos de dos décadas esta técnica se ha extendido masivamente en la clínica oftalmológica. Este fenómeno queda ilustrado por la gran cantidad de literatura científica generada en torno a la OCT.

La primera OCT de la retina fue realizada en el año 1989 sobre muestras de retina y de arterias coronarias «ex vivo», consiguiendo resoluciones de 15 micras, resultados que se publicaron en 1991 comparándolos con imágenes histológicas.

El siguiente hito en el desarrollo de esta tecnología, en 1995, fue el acoplamiento de esta tecnología a un dispositivo similar a una lámpara de biomicroscopía modificada.

En 1996 se comercializó el primer dispositivo, la OCT 100. En el año 2002 se presenta la tercera generación, la OCT 3, más conocida como Stratus OCT. Fue este modelo el que alcanzó una mayor difusión.

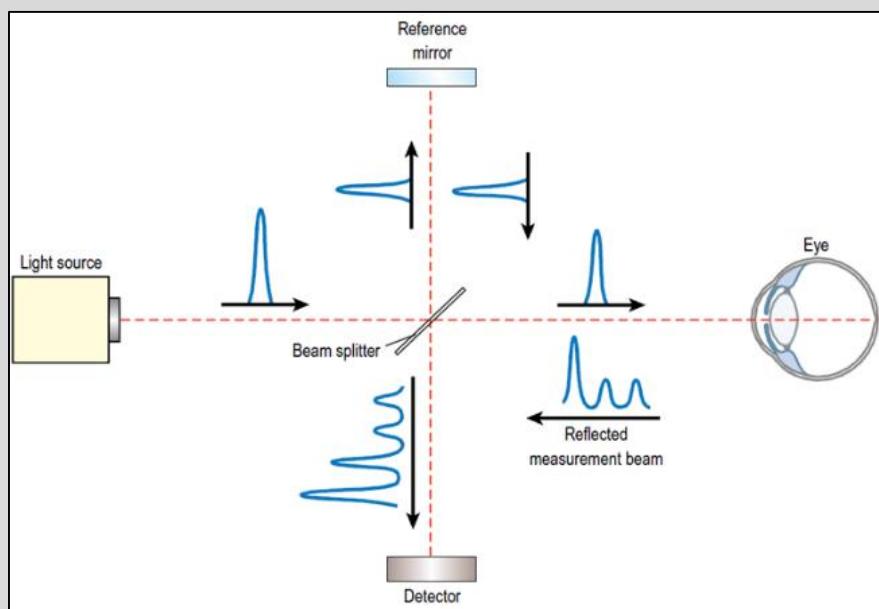
Para minimizar el tiempo de captura de las imágenes, surgió en el año 2001 la OCT conocida como «de dominio espectral» (SD-OCT), que no precisa del movimiento mecánico de elementos internos del aparato para valorar la profundidad a que se encuentra el punto medido, de modo que todas las capas de la retina podían escanearse simultáneamente y se reducía considerablemente el tiempo de adquisición de la imagen.

El siguiente paso en la evolución de esta tecnología fue el acortamiento del tiempo de procesamiento de las imágenes, así como la aplicación de la OCT a otras exploraciones como la del segmento anterior.

El funcionamiento de la OCT y la ecografía es análogo. La principal diferencia entre ecografía y OCT es el soporte: en la primera se emplean ultrasonidos, y en la segunda, radiación luminosa. Esta diferencia es importante, ya que la velocidad de las ondas sonoras es mucho menor que la de las ondas lumínicas, por

lo que el retraso existente entre onda incidente y reflejada no es mensurable de forma directa como ocurre en la ecografía.

La solución al problema se encontró mediante el uso de un interferómetro. Este dispositivo se basa en hacer recorrer a un mismo rayo de luz dos caminos diferentes, separándolo previamente en dos haces de luz. Uno de los caminos es conocido (brazo de referencia) y el otro se dirige hacia el medio de estudio (brazo de prueba), de manera que al volver a ser reflejados los dos haces en un mismo punto se lleva a cabo la comparación de las interferencias que ha sufrido el haz que ha recorrido el camino desconocido con las que ha sufrido el que ha recorrido el camino conocido. Mediante el análisis de este patrón, podemos inferir las modificaciones que el medio recorrido ha producido en nuestro haz de luz, permitiéndonos calcular la intensidad y el retardo de la luz reflejada (*Fig. 8*).



*Fig. 8.* Interferometría de coherencia baja. Esquema de emisión y recepción de la luz: Imagen obtenida de “Diagnosis and Therapy of the Glaucoma” (8<sup>a</sup> edición), pág. 176

La OCT nos ofrece imágenes del espesor del material a estudio, pero esto sólo puede ser llevado a cabo en objetos que no reflejen por completo el haz en su superficie a una única altura.

Existen dos métodos de obtención de las imágenes en los dispositivos de OCT, que son las OCT de dominio temporal (TD-OCT) y las de dominio espectral (SD-OCT). El espejo de referencia que sirve para la comparación de las interferencias, es dinámico en la de dominio tiempo y estacionario en la de dominio espectral. Otra diferencia está en el receptor, que en la OCT de dominio espectral es un espectrómetro y en la de dominio tiempo es único (*Fig.9*). Esto confiere a la OCT de dominio espectral una serie de ventajas respecto a la de dominio tiempo, que son las siguientes (53):

- Mayor resolución axial: El OCT de dominio espectral alcanza una resolución axial de alrededor de 5 micras, lo cual implica una mejor visualización de las diferentes capas de la retina.
- Mayor velocidad de escaneos por segundo: La OCT de dominio espectral permite entre 18000 y 40000 escaneos por segundo en contraposición de los 400 escaneos por segundo que permite la OCT de dominio temporal.

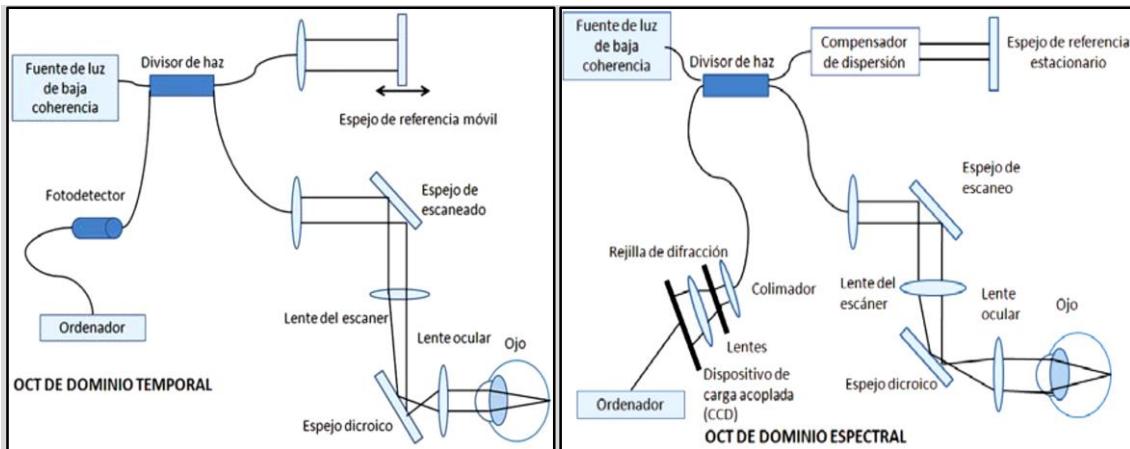


Fig. 9. Esquemas que muestran las diferencias en el funcionamiento entre la OCT de dominio temporal y la de dominio espectral. Imágenes obtenidas de la LXXXVII Ponencia Oficial de la Sociedad Española de Oftalmología (año 2011).

Dentro de los diferentes dispositivos de OCT de dominio espectral, el Spectralis OCT de la casa comercial Heidelberg Engineering (Fig. 10), cuenta con la tecnología "Eye tracking" (compensación activa de los movimientos oculares).



Fig. 10. Spectralis OCT de la casa comercial Heidelberg Engineering empleado en el estudio

Spectralis OCT utiliza fuentes de luz diferentes que permiten adquirir simultáneamente dos imágenes diagnósticas. El sistema de guiado por rayo láser toma el fondo como referencia y guía al segundo rayo sobre la posición apropiada de escaneo. En sentido figurado, este seguidor de ojo activo “congela” el barrido OCT sobre la imagen de fondo del ojo manteniéndolo siempre exactamente en la posición deseada, incluso en caso de movimientos oculares. Además, el sistema conserva esta alineación en las sucesivas visitas del paciente, por lo que se puede cuantificar con precisión el cambio en las distintas mediciones obtenidas con el aparato en un mismo punto de la retina. Estas características se traducen en una alta repetibilidad y reproducibilidad.

El software de la OCT ofrece una amplia versatilidad de exploraciones, incluyendo varios protocolos de adquisición o barrido y de análisis tomográficos, de los cuales varios están específicamente diseñados para la detección y el seguimiento del daño glaucomatoso y que fundamentalmente se centran en el análisis del

nervio óptico y de la capa de fibras nerviosas de la retina. Los parámetros de mayor rendimiento diagnóstico son el espesor medio global de la CFNR y el espesor del cuadrante inferior.

Los softwares previos existentes, comenzaban a captar la imagen sobre la zona temporal del nervio y recorriendo 360º terminaban el recorrido en temporal de nuevo. De esta manera la fiabilidad de los datos obtenidos era elevada en la zona nasal, pero baja en la zona temporal.

El espesor de las fibras nerviosas de la retina en la zona temporal, tiene especial importancia, debido a que estos axones provienen del polo posterior y de la mácula, por lo que transportan la imagen de las zonas retinianas con mayor concentración de fotorreceptores. De ellos depende en gran medida la nitidez de las imágenes que percibimos y en definitiva, la calidad de la función visual. Es precisamente en este sector temporal en el que se presentan alteraciones de forma más precoz en las enfermedades neurodegenerativas. Por ello, el nuevo protocolo axonal RFNL-N, realiza el barrido de la imagen justo al revés que el previamente expuesto: detecta la fóvea de la mácula por la fijación que realiza el paciente, comienza su lectura de imágenes en la zona nasal de la papila, y recorre 360º para terminar en donde empezó (Fig. 11).

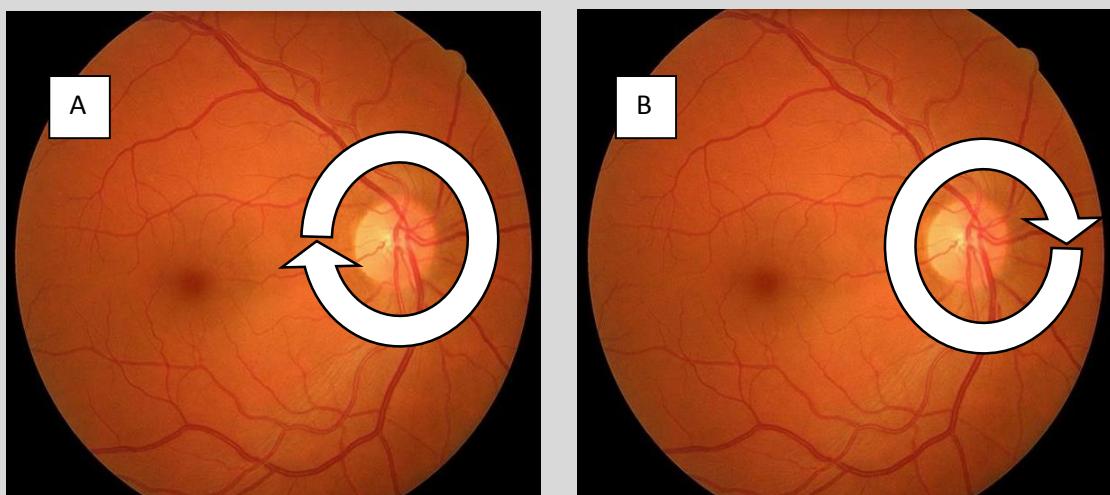


Fig 11. A: Patrón de barrido convencional con inicio en zona temporal. B: Patrón de barrido del nuevo protocolo axonal del OCT Spectralis: RFNL-N con inicio en región nasal.

La aplicación axonal aporta además mediciones del haz papilomacular (espesor del haz que va desde la parte temporal de la papila hasta la mácula), y el índice N/T (sector nasal dividido por el sector temporal) que indica la diferencia entre sectores.

Para el estudio se emplearon dos aplicaciones de la OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Inc., Heidelberg, Germany):

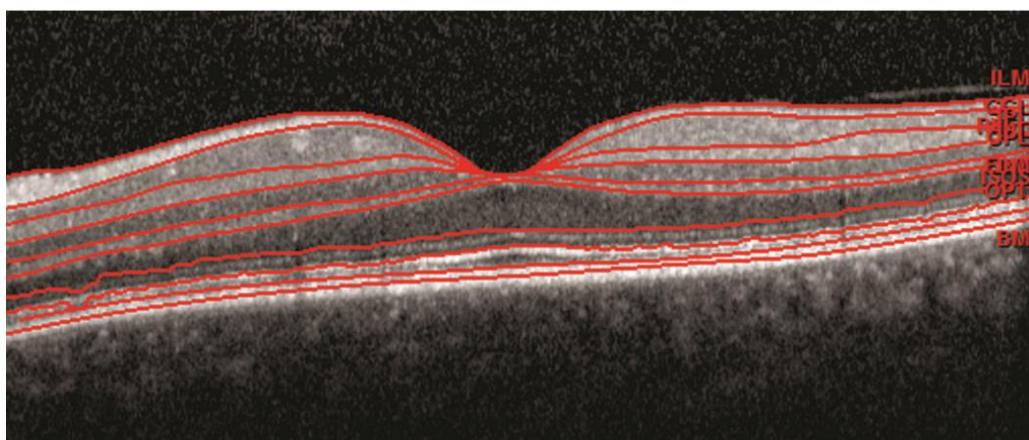
- 1) El cubo macular FAST
- 2) El RNFL-N Axonal Analytics

## 1) El cubo macular FAST

Se obtuvieron escaneos volumétricos perifoveales, compuestos por 25 cortes axiales (área de escaneo de 666 mm<sup>2</sup>). La segmentación (método para identificar las capas de la retina y cuantificar sus grosores) de la retina de cada corte foveal fue ejecutada automáticamente por la nueva aplicación del Spectralis OCT. Cada segmentación comprende las siguientes capas, desde las más superficiales (internas) a las más profunda (externas):

1. Membrana limitante interna
2. Capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR)
3. Capa de células ganglionares (CCG)
4. Capa plexiforme interna
5. Capa nuclear interna
6. Capa plexiforme externa
7. Capa nuclear externa
8. Membrana limitante externa
9. Capa de los fotoreceptores
10. Epitelio pigmentario de la retina

Las 512 medidas del grosor peripapilar de las 10 capas quedó registrado en la base de datos para arrojar posteriormente el cálculo del grosor medio de cada capa (*Fig. 12*).



*Fig. 12.* Representación de las divisiones realizadas por la nueva aplicación de segmentación del OCT Spectralis.

## 2) El RNFL-N Axonal Analytics

El espesor fue medido alrededor del disco con 16 B-scans circulares consecutivos (diámetro de 3,5 mm, 768 A-scans) (Fig. 13). Los parámetros recogidos fueron:

- Espesor medio
- Espesor de cada uno de los cuatro cuadrantes (superior, nasal, inferior y temporal)
- Espesor de los 6 sectores (superonasal, nasal, íferonasal, inferotemporal, temporal y superotemporal)
- Espesor del haz papilomacular
- Nasal/Temporal ratioj

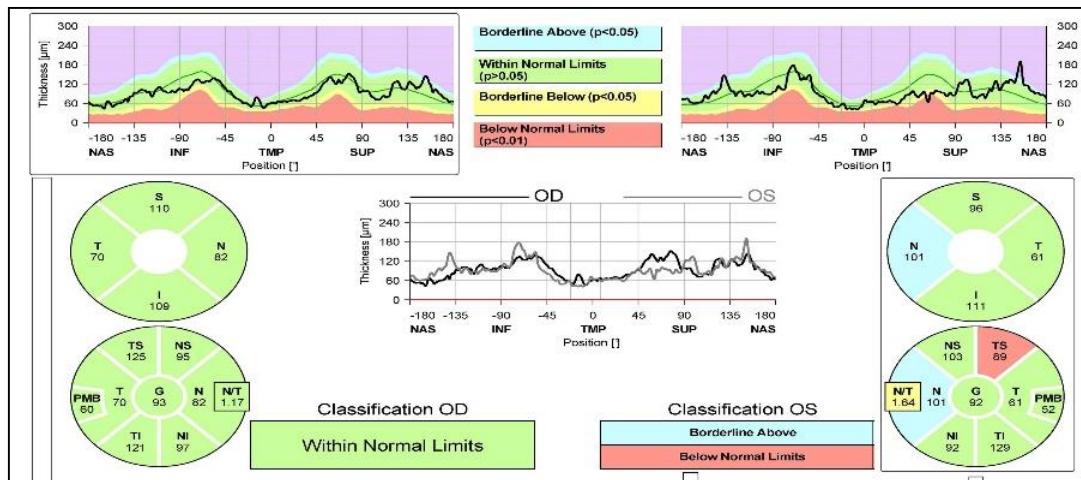


Fig. 13. Representación del análisis por sectores de la capa de fibras nerviosas de la retina según el protocolo axonal.

Todos los escaneos fueron realizados por el mismo operador experimentado. Entre cada adquisición se realizaba una pausa para la recolocación del paciente y el reajuste de los parámetros del aparato (37). Sobre el escaneo obtenido no se aplicó ninguna corrección manual. Para posibilitar una mayor reproducibilidad se utilizó un punto de fijación de la mirada interna (27). Las imágenes se adquirieron usando el software de alineación de la imagen y seguimiento ocular TruTrack, Heidelberg Engineering.

La calidad de las pruebas fue valorada previamente a su análisis, desechando aquellas imágenes de baja calidad. El Spectralis OCT utiliza una barra azul para medir la calidad de la imagen en función de la fuerza de la señal captada. La escala de calidad va del 0

(pobre) al 40 (excelente). Tan sólo las imágenes con una calidad superior a 25 fueron analizadas. Once imágenes con artefactos, áreas no registradas o alteraciones anatómicas fueron rechazadas y se volvieron a realizar (38). Siete imágenes con baja calidad fueron repetidas.

#### **e) EVALUACIÓN NEUROLÓGICA**

Se empleó la escala del MMSE (ANEXO V) para establecer el estadio y gravedad de la EA. Un neurólogo entrenado y ciego a los resultados de la OCT fue el responsable de su aplicación. Según las puntuaciones se cualificaron los siguientes estadios:

- 26 a 21: EA leve
- 20 a 10: EA moderada
- <10: EA grave

También se registró la duración de la enfermedad desde el diagnóstico.

#### **f) ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, United States). Previamente al análisis de los datos se comprobó su ajuste a la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Se analizó la media y desviación estándar de cada una de las variables y, mediante un test de t de Student, se compararon las diferentes variables entre el grupo de sanos y de pacientes. Un nivel de  $p<0,05$  fue considerado significativo para todos los análisis estadísticos.

Se realizó un análisis de correlación lineal entre los espesores medios de cada capa de la retina y dos parámetros neurológicos (duración de la enfermedad y la escala MMSE) mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

## 5. RESULTADOS

### 1. Estadística descriptiva

Se realizó un análisis para conocer las características de nuestra población de estudio. Se incluyeron en el estudio 150 ojos de 150 pacientes con EA (66 hombres y 84 mujeres) y 75 ojos de 75 individuos sanos (33 hombres y 42 mujeres) (Fig. 14).

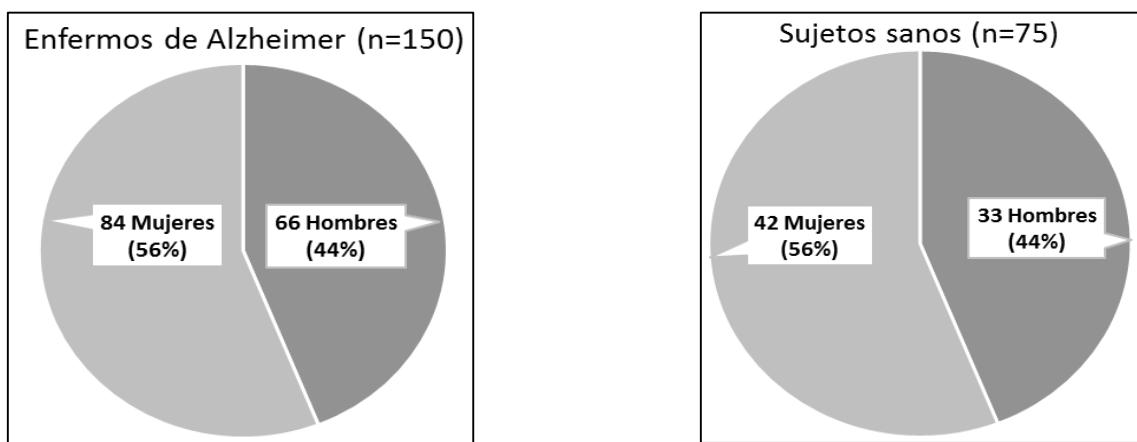


Fig. 14. Tamaño muestral y distribución del sexo en las dos poblaciones estudiadas.

Las edades del grupo con EA estaban entre los 60 y 91 años (media de 75,33) y en el grupo de sujetos sanos entre los 60 y los 90 años (media de 74,79). La presión intraocular media fue 14,09 mmHg en el grupo con EA y 14,11 mmHg en el grupo control (Fig. 15).

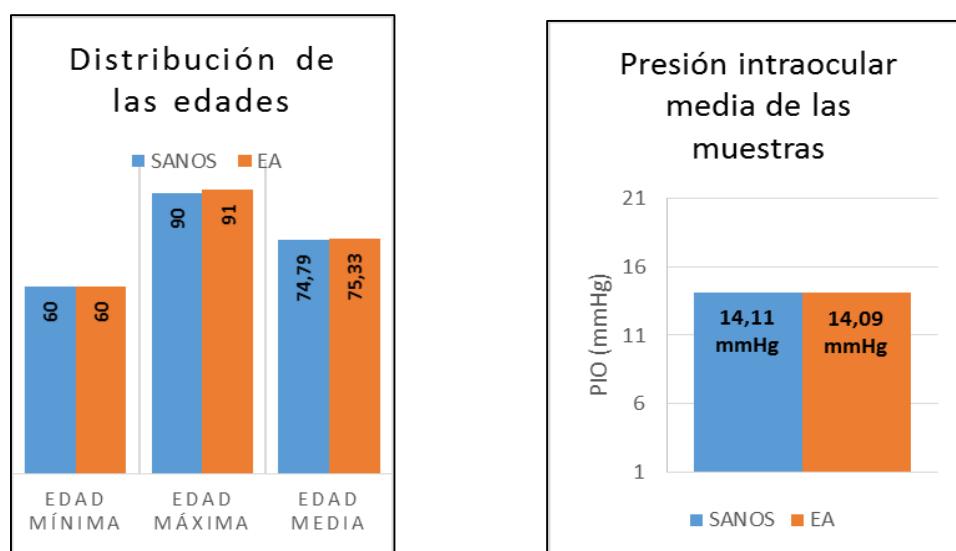


Fig. 15. Distribución de las edades y la presión intraocular media en los dos grupos comparados.

Edad, sexo y presión intraocular no mostraron diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,05$ ) entre los grupos comparados en el estudio (Tabla 1).

CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LAS MUESTRAS	ENFERMOS DE ALZHEIMER (OJOS)	SANOS (OJOS)	P
Número (n)	150	75	
Edad (años)[rango]	75,33 (80-91)	74,79 (60-90)	0,301
Hombres:Mujeres (% mujeres)	66:84 (56%)	33:42 (56%)	0,85
Presión intraocular [media (s)]	14,09 (1,65)	14,11 (1,71)	0,771

Tabla 1. La comparación de las variables edad, sexo y presión intraocular entre los dos grupos no arrojaron diferencias estadísticamente significativas ( $s$ = desviación estándar).

La mejor agudeza visual corregida (MAVC) y la desviación media en el campo visual (CV) fueron significativamente menores en el grupo con EA respecto al grupo de sanos (Tabla 2).

CARACTERÍSTICAS EPIDEMIOLÓGICAS DE LAS MUESTRAS	ENFERMOS DE ALZHEIMER (OJOS)	SANOS (OJOS)	P
MAVC (Escala de Snellen)[media (s)]	0,70 (0,22)	0,90 (0,16)	<0,001
Desviación media del CV [media (s)]	-5,91 (2,67)	-0,98 (2,45)	<0,001
Desviación estándar del CV (dB) [media (s)]	4,57 (1,66)	1,65 (0,85)	<0,001

Tabla 2. Sí se apreciaron diferencias significativas en las variables de mejor agudeza visual corregida y campo visual ( $s$ = desviación estándar).

La duración de la enfermedad desde su diagnóstico estaba en el intervalo entre los 6 meses y los 6 años, con una media de 3,27 años. El grupo con EA se dividió de acuerdo a la duración de la enfermedad (Tabla 3):

- 99 pacientes con duración inferior a 3 años (66 %)
- 51 > 3 años (34 %)

La severidad de la patología se midió con la escala MMSE. El promedio obtenido en el grupo con EA fue de 18,35 (tabla 3).

Mini Mental State Examination [media (s)]	18,35 (3,33)
Duración de la enfermedad [media (s)]	3,27 (1,65)

Tabla 3. Valores promedio en el grupo de enfermos de Alzheimer para la duración de la enfermedad y el Mini Mental State Examination ( $s$ = desviación estándar).

## **2. Estadística analítica**

Se compararon los parámetros obtenidos entre el grupo de pacientes con EA y los controles sanos mediante un análisis T de Student.

En las mediciones del espesor de la CFNR con la aplicación RNFL-N Axonal Analytics del OCT observamos que el espesor promedio y los sectores temporal inferior, temporal y temporal superior fueron significativamente menores en el grupo de EA (tabla 1). Las mediciones del haz papilomacular arrojaron resultados significativamente menores en sujetos con EA respecto de los sanos. Así también, en el ratio nasal/temporal, se mostró aumentado en el grupo con EA en comparación con el grupo de sanos, reiterando un mayor efecto en la disminución de la CFNR en el sector temporal (Tabla 4).

MEDICIONES DE LA CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA	ENFERMOS DE ALZHEIMER (OJOS)	SANOS (OJOS)	P
Espesor medio ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	95,67 (15,22)	99,23 (16,48)	<b>0,004</b>
Espesor nasal-superior ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	101,99 (20,01)	107,78 (19,65)	0,19
Espesor nasal ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	77,02 (16,80)	77,54 (18,88)	0,553
Espesor nasal-inferior ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	108,60 (21,87)	110,35 (21,09)	0,098
Espesor temporal-inferior ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	134,89 (19,90)	142,78 (19,65)	<b>&lt;0,001</b>
Espesor temporal ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	66,90 (15,34)	71,09 (15,52)	<b>0,023</b>
Espesor temporal-superior ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	131,61 (19,09)	135,89 (18,43)	<b>0,009</b>
Espesor del haz papilomacular ( $\mu\text{m}$ ) [media (s)]	52,08 (11,23)	54,83 (10,00)	<b>0,019</b>
Ratio Nasal/Temporal [media (s)]	1,14 (0,41)	1,11 (0,33)	<b>0,002</b>

Tabla 4. Resultados de las mediciones en la capa de fibras nerviosas de la retina. En negrita aparecen señalados aquellos resultados estadísticamente significativos ( $p<0,05$ ) ( $s$ = desviación estándar).

En las mediciones de los espesores de la retina mediante el software para la segmentación automatizada del OCT realizado a partir de imágenes obtenidas mediante la aplicación Parafoveal scan macular cube FAST, encontramos una reducción estadísticamente significativa en los espesores de la CFNR, la capa de células ganglionares, la plexiforme interna y la nuclear externa (Tabla 5) (Fig. 16).

CAPA	PACIENTES CON EA (n=150)	SUJETOS SANOS (n=75)	P
1. Membrana limitante interna	$5,66 \pm 1,98$	$5,65 \pm 1,88$	0,821
2. Capa de fibras nerviosas de la retina	$6,11 \pm 1,97$	$6,22 \pm 1,74$	<b>0,048</b>
3. Capa de células ganglionares	$6,27 \pm 1,76$	$6,45 \pm 1,77$	<b>0,004</b>
4. Capa plexiforme interna	$6,56 \pm 2,03$	$6,71 \pm 1,80$	<b>0,018</b>
5. Capa nuclear interna	$7,14 \pm 2,05$	$7,11 \pm 1,85$	0,111
6. Capa plexiforme externa	$7,23 \pm 2,10$	$7,29 \pm 1,76$	0,198
7. Capa nuclear externa	$7,86 \pm 1,89$	$7,96 \pm 1,81$	<b>0,042</b>
8. Membrana limitante externa	$8,19 \pm 1,96$	$8,24 \pm 2,00$	0,199
9. Capa de los fotoreceptores	$8,25 \pm 2,01$	$8,29 \pm 1,90$	0,321
10. Epitelio pigmentario de la retina	$8,56 \pm 1,93$	$8,59 \pm 1,94$	0,456

Tabla 5. Media y desviación estándar (s) en los espesores de las 10 capas analizadas por la aplicación de segmentación de la OCT Spectralis. Aparecen señalados en negrita los resultados estadísticamente significativos ( $p<0.05$ ).

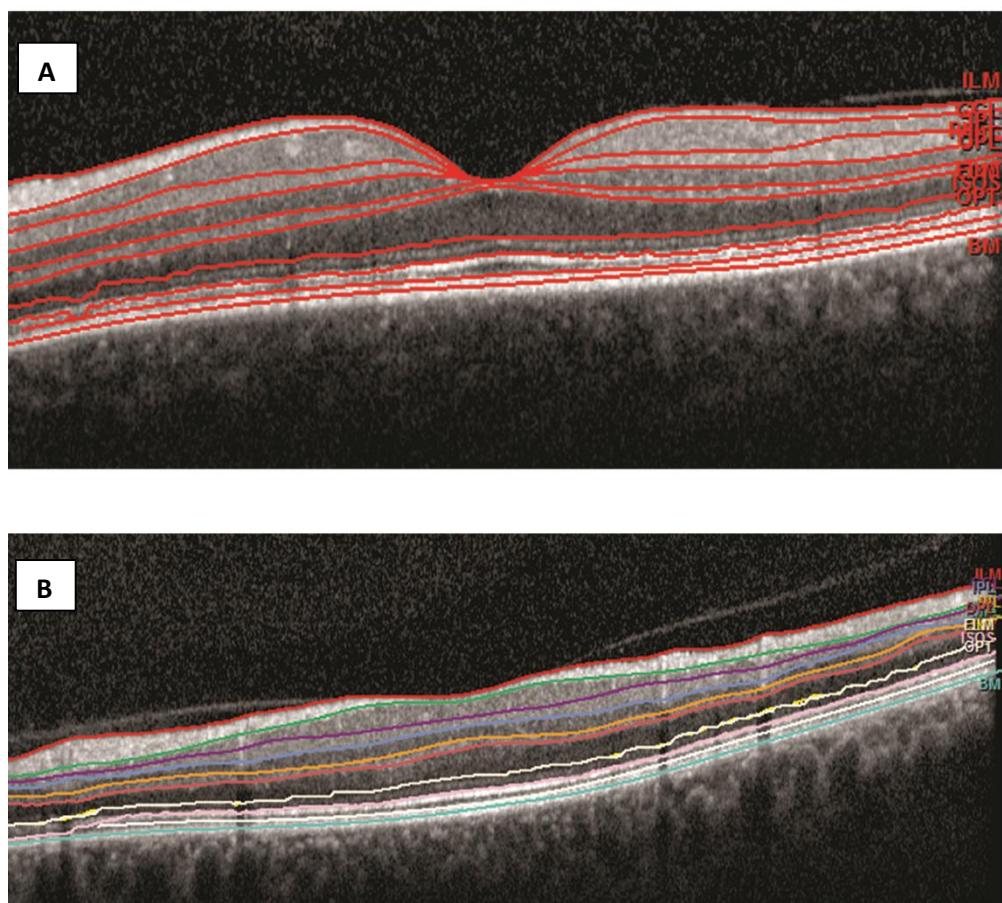


Fig. 16. Representación de las divisiones realizadas por la nueva aplicación de segmentación del OCT Spectralis. **A.** Sujeto sano. **B.** Sujeto enfermo.

**a. Análisis por subgrupos según tiempo de evolución de la enfermedad**

Los espesores de las capas internas (CFNR, capa de células ganglionares y la plexiforme interna) se mostraron significativamente más reducidos en el grupo con EA con 3 años o más de duración que en el grupo con patología de duración inferior a 3 años ( $p < 0,05$ ) (Tabla 6). Esto indica que a medida que progresa la enfermedad existe mayor reducción de las células ganglionares.

CAPA	PACIENTES CON EA (< 3 años de duración) (n=99)	PACIENTES CON EA ( $\geq 3$ años de duración) (n=51)	P
1. Membrana limitante interna	$5,66 \pm 1,89$	$5,66 \pm 1,79$	0,567
2. Capa de fibras nerviosas de la retina	$6,14 \pm 1,84$	$5,85 \pm 1,84$	<b>0,018</b>
3. Capa de células ganglionares	$6,30 \pm 1,95$	$6,02 \pm 1,77$	<b>0,009</b>
4. Capa plexiforme interna	$6,62 \pm 1,79$	$6,52 \pm 1,92$	<b>0,006</b>
5. Capa nuclear interna	$7,15 \pm 2,03$	$7,13 \pm 1,80$	0,228
6. Capa plexiforme externa	$7,25 \pm 1,79$	$7,21 \pm 1,88$	0,31
7. Capa nuclear externa	$7,88 \pm 1,84$	$7,82 \pm 1,89$	0,442
8. Membrana limitante externa	$8,19 \pm 1,82$	$8,17 \pm 1,93$	0,541
9. Capa de los fotoreceptores	$8,26 \pm 1,94$	$8,23 \pm 2,02$	0,529
10. Epitelio pigmentario de la retina	$8,56 \pm 2,00$	$8,57 \pm 2,04$	0,602

Tabla 6. Media y desviación estándar (s) de las capas segmentadas en los grupos clasificados por la duración de la enfermedad, y el resultado de las "p" tras compararlos. Aparecen señalados en negrita los resultados estadísticamente significativos ( $p < 0,05$ ).

**b. Estudio de correlación entre el espesor retiniano y la duración y gravedad de la EA.**

Los espesores en la capa de células ganglionares y la CFNR se correlacionaron inversamente con la duración de la EA ( $r = -0,435$ ,  $p = 0,022$  y  $r = -0,389$ ,  $p = 0,043$ ; respectivamente) y la escala MMSE ( $r = -0,329$ ,  $p = 0,033$  and  $r = -0,568$ ,  $p = 0,008$ , respectivamente); por lo que el espesor se reduce a medida que progresa la patología y a medida que se hace más severa.

## 6. DISCUSIÓN

Al igual que otros estudios realizados con anterioridad (16-19), nuestro análisis mostró un adelgazamiento significativo de la CFNR en el grupo de pacientes con EA respecto al grupo control. Marziani et al. (39) demostraron el adelgazamiento significativo de la CFNR y la capa de células ganglionares combinadas y medidas con la OCT Spectralis. En nuestro estudio se llega más allá, demostrando el adelgazamiento aislado de las capas internas de la retina. Estos hallazgos ponen de relieve como la progresión de la EA está relacionada con la degeneración del nervio óptico.

Gracias a la última tecnología en OCT comercializada, dotada de una excelente reproducibilidad y resolución, podemos medir individualmente las capas más profundas de la retina. Así pudimos averiguar que estas capas se afectan en la EA de diferente manera: hay una reducción generalizada en el espesor de la CFNR foveal, pero sólo las capas internas fueron significativamente más delgadas en comparación con sujetos sanos. También se demostró una reducción mayor de las capas internas (CFNR, capa de células ganglionares y plexiforme interna) en pacientes con una duración mayor de la EA.

Estas observaciones podrían deberse a la neurodegeneración primaria de las células ganglionares de la retina y sus axones o a la degeneración retrógrada transináptica de la capa de células ganglionares y sus axones como consecuencia de lesiones posteriores en la vía visual (40). La degeneración transináptica de las células ganglionares debida a lesiones posteriores a los cuerpos geniculados se había descrito previamente en pacientes con hemianopsia homónima (41,42). Jindahra et al. y Reich et al. observaron pérdida axonal en la CFNR en pacientes con lesiones retrogeniculares. Este fenómeno permite que las mediciones realizadas con OCT sean capaces de poner de manifiesto patología de la vía visual tanto anterior como posterior a los cuerpos geniculados (41,43).

Como era previsible, por estudios previos en enfermedades neurodegenerativas y por el patrón de distribución de la CFNR (haz papilomacular), el cuadrante temporal fue el más afectado por la pérdida de células ganglionares y sus axones (44).

Partimos de dos premisas para postular una teoría sobre el daño axonal a nivel de la retina en pacientes con EA y su detección mediante OCT. En primer lugar, estudios

histopatológicos han confirmado la pérdida de células ganglionares y la degeneración del nervio óptico en enfermos de Alzheimer (45,46). En segundo lugar, pruebas de neuroimagen muestran alteraciones en el cerebro desde fases iniciales de la enfermedad (11). Estos cambios patológicos que tienen lugar en el cerebro, incluido el córtex cerebral, tendrían una implicación directa en el daño de los axones de la retina (47), por formar parte de la vía óptica, con múltiples conexiones neuronales a través del cerebro y la culminación en el córtex occipital.

La reciente incorporación de instrumentos como la OCT que permiten cuantificar las capas de la retina y la relación cada vez más contrastada de las alteraciones patológicas en el cerebro con la vía óptica abren una ventana para la exploración de alteraciones en el sistema nervioso central a través del estudio no invasivo de la retina y el nervio óptico.

Para fortalecer más todavía estas relaciones, es preciso realizar estudios de imagen con RNM en cerebros de pacientes con EA (48).

En nuestro estudio la novedad es que se han analizado las 10 capas de la retina, y se ha demostrado que la capa de células ganglionares o las capas internas de la retina tienen una mejor correlación con la degeneración neurológica que la CFNR analizada de forma aislada.

También basándonos en nuestros hallazgos, se vio como la degeneración debida a la progresión de la EA no afectó a las capas externas mientras que las internas sí lo estaban.

El hallazgo de que el espesor de la CFNR y la capa de células ganglionares estaba inversamente relacionada con el MMSE, indica que los pacientes con mayor daño axonal sufren una mayor gravedad de EA. Aquellos pacientes con mayor adelgazamiento de la CFNR y de la capa de células ganglionares mostraron unas puntuaciones del MMSE menores (<10). Por lo tanto, la degeneración transináptica parece ser la causa de la pérdida de neuronal de axones y el correspondiente deterioro cognitivo de los pacientes.

La reducción de la capa de células ganglionares está estrechamente relacionada con la pérdida axonal de la CFNR en las enfermedades neurodegenerativas (49). Por lo tanto, las mediciones de la capa de células ganglionares como marcador de daño axonal podrían predecir la gravedad de los enfermos.

Algunas limitaciones a la hora de obtener las imágenes con la OCT deben ser tenidas en cuenta. La opacidad de medios, alteraciones del epitelio pigmentario de la retina, la variabilidad dada por el posicionamiento y centrado de las imágenes, la colaboración del paciente y la experiencia del examinador pueden afectar a la calidad de las imágenes.

En nuestro estudio no se aplicaron correcciones manuales sobre la segmentación automática, ya que se quería evaluar la precisión y utilidad del algoritmo automatizado proporcionado por el nuevo prototipo de Spectralis OCT. Estas correcciones manuales podrían mejorar los resultados de la segmentación, pero también incrementarían la variabilidad por la influencia del observador. Serían necesarios estudios que averiguaran si la corrección manual mejoraría la capacidad de la segmentación para detectar pérdida axonal.

Tan sólo fueron incluidos pacientes con EA, por lo que se desconoce si la aplicación de esta tecnología tendría validez para diferenciar EA de otras demencias.

Se necesitan más estudios de investigación con la aplicación de segmentación para determinar la capacidad de predecir la EA en estadios precoces o en circunstancias que puedan dificultar el diagnóstico de la EA basado en otros parámetros. Otra vía de estudio puede ser el empleo de la OCT en la monitorización de la eficacia del tratamiento.

La OCT se postula por todo lo comentado previamente como una tecnología con la capacidad y el potencial adecuados para tenerse en cuenta en la valoración de los pacientes con EA y otras enfermedades neurodegenerativas, en combinación con otras pruebas diagnósticas.

## **7. CONCLUSIONES**

1. La segmentación automatizada del dispositivo de tomografía de coherencia óptica Spectralis reveló atrofia en las capas internas de la retina (capa de fibras nerviosas de la retina, capa de células ganglionares y capa plexiforme interna) en pacientes con enfermedad de Alzheimer con respecto a los sujetos sanos de su misma edad y sexo.
2. En el análisis comparativo de los resultados del protocolo axonal para el estudio de la capa de fibras nerviosas de la retina se mostró un daño más significativo en los sectores temporales.
3. Aquellos pacientes con una mayor duración de la enfermedad o una fase más avanzada de deterioro cognitivo mostraron una reducción significativamente superior del espesor de las capas internas de la retina.
4. La cuantificación del deterioro axonal en los pacientes con enfermedad de Alzheimer puede utilizarse como biomarcador de la enfermedad y constituye una nueva herramienta para ayudar al diagnóstico y seguimiento de la enfermedad.

## **ANEXO I: Criterios para el diagnóstico de Demencia tipo Alzheimer (54,55)**

### **Criterios diagnósticos DSM-IV para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer (54)**

**A.** La Enfermedad de Alzheimer está caracterizada por un declinar progresivo (hasta su pérdida completa) de múltiples funciones cognitivas, incluidas las siguientes:

A.1. Alteración de memoria (aprender nueva información y evocar la ya aprendida), y

A.2. Una o más de las siguientes alteraciones cognitivas:

a) Pérdida de la capacidad para comprender palabras (afasia), p.ej., incapacidad para responder a "su hija está al teléfono".

b) Pérdida de la capacidad para realizar tareas complejas (apraxia) que involucren coordinación muscular, p.ej., bañarse o vestirse.

c) Pérdida de la capacidad para reconocer y usar objetos familiares (agnosia), p.ej., vestidos.

d) Pérdida de la capacidad para planear, organizar y ejecutar actividades normales, p.ej., ir de compras.

**B.** Las alteraciones previas representan un deterioro con respecto a las capacidades previas del paciente, y producen dificultades significativas en las funciones ocupacional y social.

**C.** La evolución se caracteriza por instauración gradual y deterioro cognitivo continuo.

**D.** Las alteraciones expresadas en A.1 y A.2 no se deben a lo siguiente:

D.1. Otros trastornos del sistema nervioso central que puedan ocasionar deterioro progresivo de la memoria y de otras funciones cognitivas (por ej. enfermedad cerebrovascular, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, hematoma subdural, hidrocefalia de presión normal, tumor cerebral).

D.2. Trastornos sistémicos que pueden ocasionar demencia (por ej. hipotiroidismo, deficiencia de vitamina B12, ácido fólico, niacina, hipercalcemia, neurosífilis, SIDA)

D.3. Intoxicaciones

**E.** Las alteraciones no ocurren únicamente durante un síndrome confusional agudo.

**F.** El trastorno no es atribuible a una alteración psiquiátrica que pudiera justificar las manifestaciones, como por ejemplo una depresión mayor o una esquizofrenia.

### **Criterios Diagnósticos NINCDS/ADRDA**

**National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke/**

**Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (55)**

#### **I. Criterios para el diagnóstico clínico de enfermedad de Alzheimer probable**

- Demencia, diagnosticada mediante examen clínico y documentada con el miniexamen mental de Folstein, la escala de demencia de Blessed, u otras similares, y confirmada con tests neuropsicológicos
- Deficiencias en dos o más áreas cognitivas
- Empeoramiento progresivo de la memoria y de otras funciones cognitivas
- No alteración del nivel de conciencia
- Comienzo entre los 40 y los 90 años, con mayor frecuencia después de los 65,
- Ausencia de alteraciones sistémicas u otras enfermedades cerebrales que pudieran producir el deterioro progresivo observado de la memoria y de las otras funciones cognitivas

## **II. Apoyan el diagnóstico de "enfermedad de Alzheimer probable"**

- Deterioro progresivo de alguna función cognitiva específica como lenguaje, (afasia) habilidades motoras (apraxia) y trastornos de la percepción (agnosia).
- Alteraciones conductuales y en la realización de las actividades diarias habituales
- Antecedentes familiares de trastorno similar, especialmente si obtuvo confirmación anatomopatológica,
- Pruebas complementarias:
  - líquido cefalorraquídeo normal, en las determinaciones estándar
  - EEG normal, o con alteraciones inespecíficas como incremento de la actividad de ondas lentas,
- Atrofia cerebral en TAC, objetivándose progresión de la misma en observación seriada

## **III. Aspectos clínicos compatibles con el diagnóstico de "enfermedad de Alzheimer probable", tras excluir otras causas de demencia**

- Mesetas en la progresión de la enfermedad
- Síntomas asociados de depresión, insomnio, incontinencia, ideas delirantes, ilusiones, alucinaciones, accesos emocionales, físicos o verbales, alteraciones de la conducta sexual, pérdida de peso.
- Otras alteraciones neurológicas en algunos pacientes, especialmente en los que se hallan en fase avanzada, como hipertonia, mioclonías o alteración de la marcha.
- Convulsiones, en fase avanzada de la enfermedad.
- TAC cerebral normal para la edad del paciente.

## **IV. Aspectos que convierten el diagnóstico de "enfermedad de Alzheimer probable" en incierto o improbable**

- Instauración brusca o muy rápida
- Manifestaciones neurológicas focales como hemiparesia, alteración de la sensibilidad o de los campos visuales, o incoordinación en fases tempranas de la evolución
- Convulsiones o alteraciones de la marcha al inicio o en fases muy iniciales de la enfermedad

## **V. Diagnóstico clínico de enfermedad de Alzheimer posible**

- Demencia, con ausencia de otras alteraciones sistémicas, psiquiátricas y neurológicas que puedan causar esa demencia, pero con una instauración, manifestaciones o patrón evolutivo que difieren de lo expuesto para el diagnóstico de "enfermedad de Alzheimer probable"
- Presencia de una segunda alteración, cerebral o sistémica, que podría producir demencia pero que no es considerada por el clínico como la causa de esta demencia
- En investigación, cuando se produce deterioro gradual e intenso de una única función cognitiva, en ausencia de otra causa identificable.

## **VI. Criterios para el diagnóstico de enfermedad de Alzheimer definitiva**

- Criterios clínicos de "enfermedad de Alzheimer probable", y
- Comprobación histopatológica, obtenida a través de biopsia o autopsia.

## ANEXO II: Mini Mental State Examination (MMSE) (Fig. 17)

Es un método muy utilizado para detectar el deterioro cognitivo y vigilar su evolución en pacientes con alteraciones neurológicas, especialmente en ancianos. Su aplicación tarda entre 5 y 10 minutos en realizarse, por lo que es ideal para aplicarse en forma repetida y rutinaria.

Fue desarrollado por Marshal F. Folstein, Susan Folstein, y Paul R. McHugh en 1975 como un método para establecer el estado cognoscitivo del paciente y poder detectar demencia o delirium (56).

Baremo de puntuaciones:

- Entre 30 y 27: Sin Deterioro.
- Entre 26 y 25: Dudososo o Posible Deterioro.
- Entre 24 y 10: Demencia Leve a Moderada.
- Entre 9 y 6: Demencia Moderada a Severa.
- Menos de 6: Demencia Severa.

Esta prueba no puede definir un diagnóstico y debe estar acompañada por la entrevista clínica, exploración física y pruebas complementarias

¿En qué año estamos? 0-1 ¿En qué estación? 0-1 ¿En qué día (fecha)? 0-1 ¿En qué mes? 0-1 ¿En qué día de la semana? 0-1	ORIENTACIÓN TEMPORAL (Máx.5)	
¿En qué hospital (o lugar) estamos? 0-1 ¿En qué piso (o planta, sala, servicio)? 0-1 ¿En qué pueblo (ciudad)? 0-1 ¿En qué provincia estamos? 0-1 ¿En qué país (o nación, autonomía)? 0-1	ORIENTACIÓN ESPACIAL (Máx.5)	
Nombre tres palabras Peseta-Caballo-Manzana (o Balón- Bandera-Arbol) a razón de 1 por segundo. Luego se pide al paciente que las repita. Esta primera repetición otorga la puntuación. Otorgue 1 punto por cada palabra correcta, pero continúe diciéndolas hasta que el sujeto repita las 3, hasta un máximo de 6 veces. Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1 (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)	Nº de repeticiones necesarias FIJACIÓN-Recuerdo Inmediato (Máx.3)	
Si tiene 30 pesetas y me va dando de tres en tres, ¿Cuántas le van quedando?. Detenga la prueba tras 5 sustracciones. Si el sujeto no puede realizar esta prueba, pidale que deletree la palabra MUNDO al revés. 30 0-1 27 0-1 24 0-1 21 0-1 18 0-1 (O 0-1 D 0-1 N 0-1 U 0-1 M0-1)	ATENCIÓN- CÁLCULO (Máx.5)	
Preguntar por las tres palabras mencionadas anteriormente. Peseta 0-1 Caballo 0-1 Manzana 0-1 (Balón 0-1 Bandera 0-1 Árbol 0-1)	RECUERDO diferido (Máx.3)	
<u>DENOMINACIÓN.</u> Mostrarle un lápiz o un bolígrafo y preguntar ¿qué es esto?. Hacer lo mismo con un reloj de pulsera. Lápiz 0-1 Reloj 0-1 <u>REPETICIÓN.</u> Pedirle que repita la frase: "ni si, ni no, ni pero" (o "En un trigal había 5 perros") 0-1 <u>ÓRDENES.</u> Pedirle que siga la orden: "coja un papel con la mano derecha, dobótele por la mitad, y póngalo en el suelo". Coje con mano d. 0-1 dobla por mitad 0-1 pone en suelo 0-1 <u>LECTURA.</u> Escriba legiblemente en un papel "Cierre los ojos". Pidale que lo lea y haga lo que dice la frase 0-1 <u>ESCRITURA.</u> Que escriba una frase (con sujeto y predicado) 0-1 <u>COPIA.</u> Dibuje 2 pentágonos interseccionados y pida al sujeto que los copie tal cual. Para otorgar un punto deben estar presentes los 10 angulos y la intersección. 0-1	LENGUAJE (Máx.9)	
Puntuaciones de referencia 27 ó más: normal 24 ó menos: sospecha patológica 12-24: deterioro 9-12 : demencia	Puntuación Total (Máx.: 30 puntos)	

Fig. 17. Adaptación del Mini Mental State Examination del Dr. Lobo.

## **ANEXO III: Resolución favorable del Comité Ético de Aragón**



/CEIC Aragón (CEICA)

### **Informe Dictamen Favorable Proyecto Investigación Biomédica**

C.P. - C.I. PI12/000

15 de febrero de 2012

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIC Aragón (CEICA)

### **CERTIFICA**

**1º.** Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 15/02/2012, Acta N° 03/2012 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

**Título: Evaluación de la función visual y de la capa de fibras nerviosas de la retina en los pacientes con Enfermedad de Alzheimer.**

**Versión Protocolo: enero 2012**

**Versión hoja de información al paciente y  
consentimiento informado** V2, de 12/02/2012

**1º.** Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- 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.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

**2º.** Por lo que este CEIC emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

**3º.** Este CEIC acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes Centros por los Investigadores:

Elena García Martín

Lo que firmo en Zaragoza, a 15 de febrero de 2012

Fdo:



Departamento de Salud y Consumo del Gobierno de Aragón  
Avda Gómez Laguna 25 Zaragoza 50009 Zaragoza España  
Tel. 976 71 48 57 Fax. 976 71 55 54 Correo electrónico mgonzalezh.ceic@aragob.es

Página 1 de 1

**COMPOSICIÓN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE ARAGÓN**

Dra. María González Hinjos, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón,

**CERTIFICA**

1º En la reunión celebrada el día 15 de febrero de 2012, correspondiente al Acta nº **CP03/2012**, se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente -Real Decreto 223/2004 y Decreto 26/2003 del Gobierno de Aragón, modificado por el Decreto 292/2005– para que la decisión del citado CEIC sea válida.

3º El CEIC de Aragón, tanto en su composición, como en sus PNT, cumple con las normas de BPC.

4º La composición del CEIC de Aragón en la citada fecha, era la siguiente:

- **Presidente:** Cesar Loris Pablo; Médico. Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Miguel Servet. Representante de Comisión de Investigación.
- **Vicepresidente:** Carlos Aíbar Remón; Médico. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Profesional Sanitario experto en epidemiología clínica.
- **Secretaria:** María González Hinjos; Farmacéutica.
- Pilar Comet Cortés; Enfermera. Unidad Mixta de Investigación. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- Marina Heredia Ríos; Representante de las Organizaciones de Consumidores y Usuarios.
- Gabriel Hernández Delgado; Médico. Servicio de Radiología. Hospital Universitario Miguel Servet. Representante de Comisión de Investigación.
- Angela Idoipe Tomás; Farmacéutica. Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Miguel Servet. Farmacéutica de Hospital.
- María Jesús Lallana Álvarez. Farmacéutica de Atención Primaria de Zaragoza Sector III.
- Jesús Magdalena Belío; Médico. Centro de Salud de Azuara. Médico con labor asistencial y representante del Comité de Ética Asistencial del Área de Atención Primaria II y V.
- Mariano Mateo Arrizabalaga; Médico. Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- Elisa Moreu Carbonell; Jurista. Profesora de la Facultad de Derecho, Universidad de Zaragoza.
- Javier Perfecto Ejárque; Médico. Centro de Salud Arrabal. Médico con labor asistencial.
- Alexandra Prados Torres; Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud. Representante de Comisión de Investigación.
- José Puzo Foncillas; Médico. Servicio de Bioquímica. Hospital General San Jorge. Representante de Comisión de Investigación.
- Mónica Torrijos Tejada; Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

Para que conste donde proceda, y a petición del promotor,

Zaragoza, a 15 de febrero de 2012



## BIBLIOGRAFÍA

1. Georges J. Giving a voice to people with dementia. *Dementia in Europe: The Alzheimer Europe Magazine.* 2012.
2. Wimo A, Winblad B, Jonsson L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. *Alzheimers Dement.* 2010;6(2):98-103.
3. Seeman P, Seeman N. Alzheimer's disease: -amyloid plaque formation in human brain. *Synapse* 2011; 65:1289-97.
4. Oddo S, Vasilevko V, Caccamo A, Kitazawa A, Cribbs D, LaFerla F. Reduction of soluble Abeta and tau, but not soluble Abeta alone, ameliorates cognitive decline in transgenic mice with plaques and tangles. *J Biol Chem* 2006; 281: 39413-23.
5. American Psychiatric Association. *Manual Diagnóstico y Estadístico de los Trastornos Mentales.* Barcelona: Masson, 2002.
6. Flicker C, Ferris SH, Reisberg B. Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology* 1991; 41: 1006-9.
7. Ritchie K. Mild cognitive impairment an epidemiological perspective. *Dialogues Clin Neurosci* 2004; 6: 401-8.
8. Thal LJ, Kantarci K, Reiman EM, Klunk WE, Weiner MW, Zetterberg H, Galasko D, Pratico D, Griffin S, Schenk D, Siemers E (2006) The role of biomarkers in clinical trials for Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 20, 6-15.
9. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69: 8995.
10. Perrin RJ, Fagan AM, Holtzman DM. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature* 2009; 461: 916-22.
11. Harper L, Barkhof F, Scheltens P, Schott JM, Fox NC. An algorithmic approach to structural imaging in dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2014 Jun;85(6):692-8.
12. Sadun AA, Borchert M, De Vita E, Hinton DR, Bassi CJ. Assessment of visual impairment in patients with Alzheimer's disease. *Am J Ophthalmol.* 1987;104:113-20.
13. Katz B, Rimmer S. Ophthalmic manifestations of Alzheimer's disease. *Surv Ophthalmol.* 1989;34:31-43.
14. 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 Neurosc.* 1987;7:1799-1808.
15. 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.
16. Valenti DA. Neuroimaging of retinal nerve fiber layer in AD using optical coherence tomography. *Neurology.* 2007;69(10):1060.
17. Berisha F, Feke GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Investigative Ophthalmology and Visual Science.* 2007;48(5):2285-9.
18. Iseri PK, Altınas O, Tokay T, Yüksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *Journal of Neuro-Ophthalmology.* 2006;26(1):18-24.
19. Lu Y, Li Z, Zhang X, et al. Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: evidence in optical coherence tomography. *Neuroscience Letters.* 2010;480(1):69-72.

20. Kesler A, Vakhapova V, Korczyn AD, Naftaliev E, Neudorfer M. Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clin Neurol Neurosurg*. 2011;113(7):523-6.
21. Paquet C, Boissonnot M, Roger F, Dighiero P, Gil R, Hugon J. Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*. 2007;420(2):97-9.
22. Honrubia FM, Gomez ML, Torron C, et al. Análisis de la capa de fibras nerviosas de la retina, estudio fotográfico. In: Honrubia FM, García Sánchez J, Pastor JC, eds. *Diagnóstico precoz del glaucoma*. Zaragoza: Edelvives; 1997.
23. Honrubia F, Calonge B. Evaluation of the nerve fiber layer and peripapillary atrophy in ocular hypertension. *Int Ophthalmol* 1989;13:57-62.
24. Quigley HA, Addicks EM. Quantitative studies of retinal nerve fiber layer defects. *Arch Ophthalmol* 1982;100:807-14.
25. Jaffe GJ, Caprioli J. Optical coherence tomography to detect and manage retinal disease and glaucoma. *Am J Ophthalmol* 2004;137:156-69.
26. Huang D, Swanson EA, Lin CP, et al. Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254:1178-81.
27. Schuman JS, Pedut-Kloizman T, Hertzmark E, Hee MR, Wilkins JR, Coker JG, et al. Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements using optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 1996;103(11):1889-98.
28. Pueyo V, Polo V, Larrosa JM, et al. Reproducibility of optic nerve head and retinal nerve fiber layer thickness measurements using optical coherence tomography. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2006;81:205-11.
29. Beck RW, Gal RL, Bhatti MT, et al. Visual function more than 10 years after optic neuritis: experience of the optic neuritis treatment trial. *Am J Ophthalmol* 2004;137:77-83.
30. Jindahra P, Hedges TR, Mendoza-Santiesteban CE, Plant GT. Optical coherence tomography of the retina: applications in neurology. *Curr Opin Neurol*. 2010 Feb;23(1):16-23.
31. Costello F, Coupland S, Hodge W, et al. Quantifying axonal loss after optic neuritis with optical coherence tomography. *Ann Neurol* 2006;59:963-9.
32. Garcia-Martin E, Rodriguez-Mena D, Herrero R, et al. Neuro-ophthalmologic evaluation, quality of life, and functional disability in patients with MS. *Neurology*. 2013;81(1):76-83.
33. Garcia-Martin E, Satue M, Fuertes I, et al. Ability and reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomography to detect retinal nerve fiber layer atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmology* 2012;119(10):2161-7.
34. Valenti DA. Alzheimer's disease and glaucoma: imaging the biomarkers of neurodegenerative disease. *Int J Alzheimers*. 2010:793931.
35. Garcia-Martin E, Polo V, Larrosa JM, et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis patients using spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology* 2014;121(2):573-9.
36. Heijl A, Lindgren A, Lindgren G. Test-retest variability in glaucomatous visual fields. *Am J Ophthalmol*. 1989;108:130-5.
37. Garcia-Martin E, Pueyo V, Pinilla I, et al. Fourier-domain OCT in multiple sclerosis patients: reproducibility and ability to detect retinal nerve fiber layer atrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(7):4124-31.
38. Wu Z, Huang J, Dustin L, Sadda SR. Signal strength is an important determinant of accuracy of nerve fiber layer thickness measurement by optical coherence tomography. *J Glaucoma*. 2009;18:213-6.

39. Marziani E, Pomati S, Ramolfo P, et al. Evaluation of retinal nerve fiber layer and ganglion cell layer thickness in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5953-8.
40. Albrecht P, Ringelstein M, Müller AK, et al. Degeneration of retinal layers in multiple sclerosis subtypes quantified by optical coherence tomography. *Mult Scler*. 2012;18(10):1422-9.
41. Jindahra P, Petrie A, Plant GT. Retrograde trans-synaptic retinal ganglion cell loss identified by optical coherence tomography. *Brain* 2009; 132(Pt3):628-34.
42. Mehta JS, Plant GT. Optical coherence tomography (OCT) findings in congenital/long-standing homonymous hemianopia. *Am J Ophthalmol* 2005;140(4):727-729.
43. Reich DS, Smith SA, Gordon-Lipkin EM, et al. Damage to the optic radiation in multiple sclerosis is associated with retinal injury and visual disability. *Arch Neurol* 2009;66(8):998-1006.
44. Garcia-Martin E, Pueyo V, Almarcegui C, et al. Risk factors for progressive axonal degeneration of the retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis patients. *Br J Ophthalmol*. 2011;95:1577-82.
45. Blanks JC, Torigoe Y, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's disease. I. Ganglion cell loss in foveal/parafoveal retina. *Neurobiol Aging*. 1996;17:377-84.
46. Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, et al. Retinal pathology in Alzheimer's disease. II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging*. 1996;17:385-95.
47. Gordon-Lipkin E, Chodkowski B, Reich DS, et al. Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology*. 2007;69:1603-9.
48. Canu E, Agosta F, Spinelli EG, et al. White matter microstructural damage in Alzheimer's disease at different ages of onset. *Neurobiol Aging*. 2013;34(10):2331-40.
49. Almarcegui C, Dolz I, Pueyo V, et al. Correlation between functional and structural assessments of the optic nerve and retina in multiple sclerosis patients. *Neurophysiol Clin*. 2010;40(3):129-35.
50. Muñoz Negrete FJ, Rebolleda G, Díaz LLopis M. Tomografía de Coherencia Óptica. LXXXVII Ponencia Oficial de la Sociedad Española de Oftalmología. 2011.
51. Fujimoto JG, Pitriss C, Boppart SA, Brezinski ME. Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia* 2000;2:9-25.
52. Puliafito CA, Hee MR, Lin CP, et al. Imaging of macular diseases with optical coherence tomography. *Ophthalmology* 1995;102:217-29.
53. Yaqoob Z, Wu J, Yang C. Spectral domain optical coherence tomography: a better OCT imaging strategy. *Biotechniques*. 2005;39(6 Suppl):S6-13.
54. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV). 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
55. McKhann G, Drachman D, Folstein M, et al. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology*. 1984;34:939-44.
56. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. Mini-Mental State Examination: a practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res*. 1975;12:189-98.