

Fernando Gutierrez Ruiz

Evaluación de la función visual, de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la colorimetría de la cabeza del nervio óptico como biomarcadores en pacientes con Alzheimer y fibromialgia

Departamento
Cirugía, Ginecología y Obstetricia

Director/es
Polo Llorens, Vicente
Garcia Martin, Elena

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN VISUAL, DE LA
CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA Y
DE LA COLORIMETRÍA DE LA CABEZA DEL
NERVIO ÓPTICO COMO BIOMARCADORES EN
PACIENTES CON ALZHEIMER Y FIBROMIALGIA

Autor

Fernando Gutierrez Ruiz

Director/es

Polo Llorens, Vicente
Garcia Martin, Elena

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Cirugía, Ginecología y Obstetricia

2019



“Evaluación de la función visual, de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la colorimetría de la cabeza del nervio óptico como biomarcadores en pacientes con Alzheimer y fibromialgia”

Fernando Gutiérrez Ruiz

Directores: Elena García Martín
Vicente Polo Llorens

Tutor: José Manuel Larrosa Poves

“Evaluación de la función visual, de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la colorimetría de la cabeza del nervio óptico como biomarcadores en pacientes con Alzheimer y fibromialgia”

Universidad de Zaragoza. Facultad de
Medicina. Departamento de Cirugía,
Obstetricia y Ginecología. Servicio de
Oftalmología

Trabajo de Investigación presentado por el Licenciado en Medicina y Cirugía:

Fernando Gutiérrez Ruiz

para optar al grado de doctor.

Directores:

Elena García Martín

Doctora en Medicina y Cirugía.
Profesora asociada de la Universidad de Zaragoza.
Servicio de Oftalmología Hospital Universitario Miguel Servet.
Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS).

Vicente Polo Llorens

Doctor en Medicina y Cirugía.
Profesor Titular de la Universidad de Zaragoza.
Servicio de Oftalmología Hospital Universitario Miguel Servet
Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS)

Tutor:

José Manuel Larrosa Poves
Servicio de Oftalmología Hospital Universitario Miguel Servet
Profesor titular de la Universidad de Zaragoza
Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón (IIS)

Mi más profundo agradecimiento a todo el equipo de oftalmología del Hospital Miguel Servet, especialmente a mis directores, Elena Garcia-Martin y a Vicente Polo;

a M^a Pilar Bambó por su enorme contribución en el proyecto;

a Luis E. Pablo por gestionar la investigación en el departamento y hacer posible este proyecto;

a mi familia y muy en especial a mi mujer Marta por ayudarme con todo durante la consecución de este proyecto y a las nuevas incorporaciones a mi familia durante este tiempo, Lucía y Mateo .

El presente trabajo de tesis doctoral se ha estructurado de acuerdo a la normativa de las tesis por compendio de publicaciones. Los artículos incluidos en la tesis pertenecen a la misma línea de investigación en neurooftalmología y han sido publicados previamente.

1. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Pinilla J, Perez-Olivan S, Larrosa JM, Polo V, Pablo L. Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: a potential new biomarker. Clin Neurol Neurosurg. 2015 May;132:68-73. doi: 10.1016/j.clineuro.2015.02.016. Epub 2015 Mar 9. PubMed PMID: 25797847.

2. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Magallon R, Roca M, Garcia-Campayo J, Perez-Olivan S, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE. Study of perfusion changes in the optic disc of patients with fibromyalgia syndrome using new colorimetric analysis software. J Fr Ophtalmol. 2015 Sep;38(7):580-7. doi: 10.1016/j.jfo.2015.01.010. Epub 2015 May 11. PubMed PMID: 25976129.

3. Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, Vilades E, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. Fibromyalgia is correlated with retinal nerve fiber layer thinning. PLoS One. 2016 Sep;11(9):e0161574. doi: 10.1371/journal.pone.0161574. eCollection 2016. PubMed PMID: 27584145; PubMed Central PMCID: PMC5008644.

4. Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, Villages E, Gil-Arribas L, Pablo LE. Retinal and optic disc alterations in Alzheimer's disease: the eye as a potential central nervous system window. J Alzheimers Dis Parkinsonism 2016;6:223. doi: 10.4172/2161-0460.1000223

Página 4

D^a. ELENA GARCIA MARTIN, Doctora en Medicina y Cirugía, facultativo especialista en Oftalmología del Hospital Universitario Miguel Servet, y profesora asociada de la Universidad de Zaragoza.

Certifica:

Que el trabajo de investigación titulado “Evaluación de la función visual, de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la colorimetría de la cabeza del nervio óptico como biomarcadores en pacientes con Alzheimer y fibromialgia” que presenta FERNANDO GUTIÉRREZ RUIZ, Licenciado en Medicina y Cirugía, para optar al GRADO DE DOCTOR, fue realizado bajo mi dirección, se ajusta al proyecto de tesis presentado con anterioridad y doy mi autorización para su defensa como tesis por compendio de publicaciones.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente en Zaragoza, a 15 de Octubre de 2018.

Fdo. Dra. Elena García Martín.

D. VICENTE POLO LLORENS, Doctor en Medicina y Cirugía, facultativo especialista en Oftalmología en el Hospital Universitario Miguel Servet y Profesor Titular en la Universidad de Zaragoza

Certifica:

Que el trabajo de investigación titulado “Evaluación de la función visual, de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la colorimetría de la cabeza del nervio óptico como biomarcadores en pacientes con Alzheimer y fibromialgia” que presenta FERNANDO GUTIÉRREZ RUIZ, Licenciado en Medicina y Cirugía, para optar al GRADO DE DOCTOR, fue realizado bajo mi dirección, se ajusta al proyecto de tesis presentado con anterioridad y doy mi autorización para su defensa como tesis por compendio de publicaciones.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo el presente en Zaragoza, a 15 de Octubre de 2018.

Fdo. Dr. Vicente Polo Llorens

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	8
1.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	9
1.1.1 EPIDEMIOLOGÍA	10
1.1.2 ETIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA	12
1.1.3 CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO	14
1.1.4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	19
1.1.5 DETERIORO COGNITIVO LEVE	20
1.1.6 ALZHEIMER PRECLÍNICO	20
1.1.7 TRATAMIENTO EN LA ACTUALIDAD	21
1.1.8 NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO	22
1.1.9 ALZHEIMER Y VISIÓN	23
1.2 FIBROMIALGIA	24
1.2.1 EPIDEMIOLOGÍA	25
1.2.2 ETIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA	26
1.2.3 CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO	27
1.2.4 TRATAMIENTO	31
1.3 LA RETINA COMO VENTANA AL SNC	33
1.3.1 CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA Y NERVIO	
ÓPTICO	35
1.3.2 OCT COMO MÉTODO DE EXPLORACIÓN	39
1.4 LA COLORIMETRÍA COMO MÉTODO DE ESTUDIO NEUROLÓGICO	45
2. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	48
2.1 ALZHEIMER	49

2.2 FIBROMIALGIA	51
3.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	53
3.1 HIPÓTESIS	54
3.2 OBJETIVOS	54
4. RELACIÓN DE PUBLICACIONES	56
5. METODOLOGÍA	61
5.1 GRUPO DE ESTUDIO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER	62
5.1.1 SUJETOS A ESTUDIO	62
5.1.2 PROTOCOLO DE ESTUDIO	63
5.1.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	78
5.2 GRUPO DE ESTUDIO DE FIBROMIALGIA	78
5.2.1 SUJETOS A ESTUDIO	78
5.2.2 PROTOCOLO DE ESTUDIO	80
5.2.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	82
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	84
7. APORTACIONES DEL DOCTORANDO	117
8. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	119
9. CONCLUSIONES	121
10. BIBLIOGRAFÍA	123
11. APÉNDICES	131
12. ANEXOS	136

1. INTRODUCCIÓN

El tema principal de las cuatro publicaciones que forman la estructura central de esta tesis se centra en el estudio de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con enfermedad de Alzheimer y en pacientes con fibromialgia. El objetivo, en el caso de la enfermedad de Alzheimer, es encontrar una herramienta inocua que ayude a mejorar y acelerar el diagnóstico, proporcionando la posibilidad de un abordaje más precoz de la demencia. En el caso de la fibromialgia, el objetivo es aportar una prueba diagnóstica objetiva para su detección.

1.1 ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa, actualmente sin tratamiento curativo, caracterizada por un progresivo deterioro cognitivo y de otras funciones superiores. Anatomopatológicamente está caracterizada por el depósito extracelular de placas seniles formadas por proteína B-amiloide y marañas neurofibrilares intracelulares, formadas por proteína Tau hiperfosforilada que, junto con la presencia de microgliosis reactiva y neuritis atrofias, causan la muerte neuronal y la consiguiente pérdida de conexiones sinópticas en regiones selectivas del cerebro (figura 1)¹.

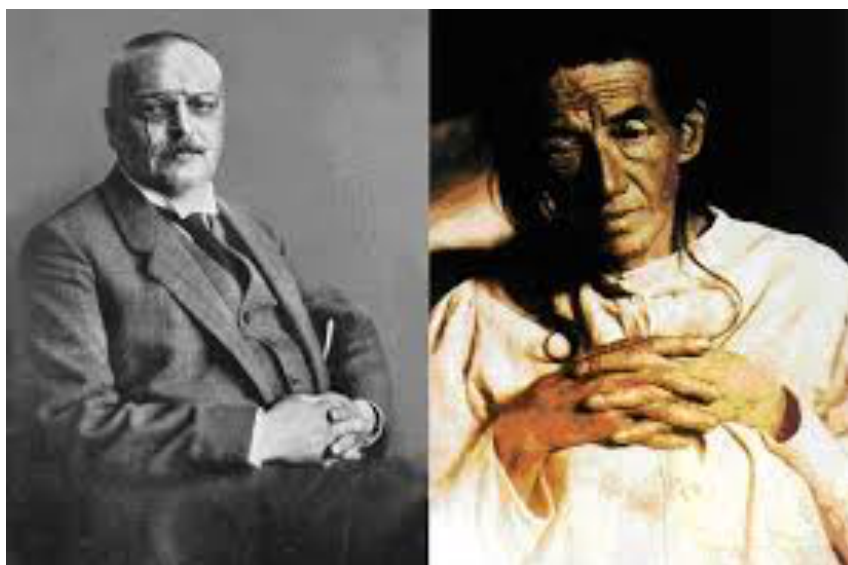


Figura 1. Alois Alzheimer (izquierda) fue un neurólogo y psiquiatra alemán que, en 1901, junto a Emil Kraepelin, describió los síntomas en Auguste Deter (derecha) de una demencia que se denominaría enfermedad de Alzheimer en 1906 tras publicar los resultados del estudio postmortem.

1.1.1 EPIDEMIOLOGIA

Se trata de la forma más común de demencia, con una prevalencia mundial de 47 millones, estimándose que la cifra se duplicará antes de llegar al año 2050². El número de casos aumenta exponencialmente con la edad a partir de los 65 años (desde una incidencia del 0.5% entre los 65- 70 años al 6-8% en los mayores de 85 años) (figura 2), por lo que los países desarrollados con mayor esperanza de vida tienen una prevalencia superior de la enfermedad^{3,4}. La forma más común es la esporádica (85%), que no es hereditaria y se caracteriza por aumentar su incidencia con la edad, ser multicausal y heterogénea en su expresión clínica.

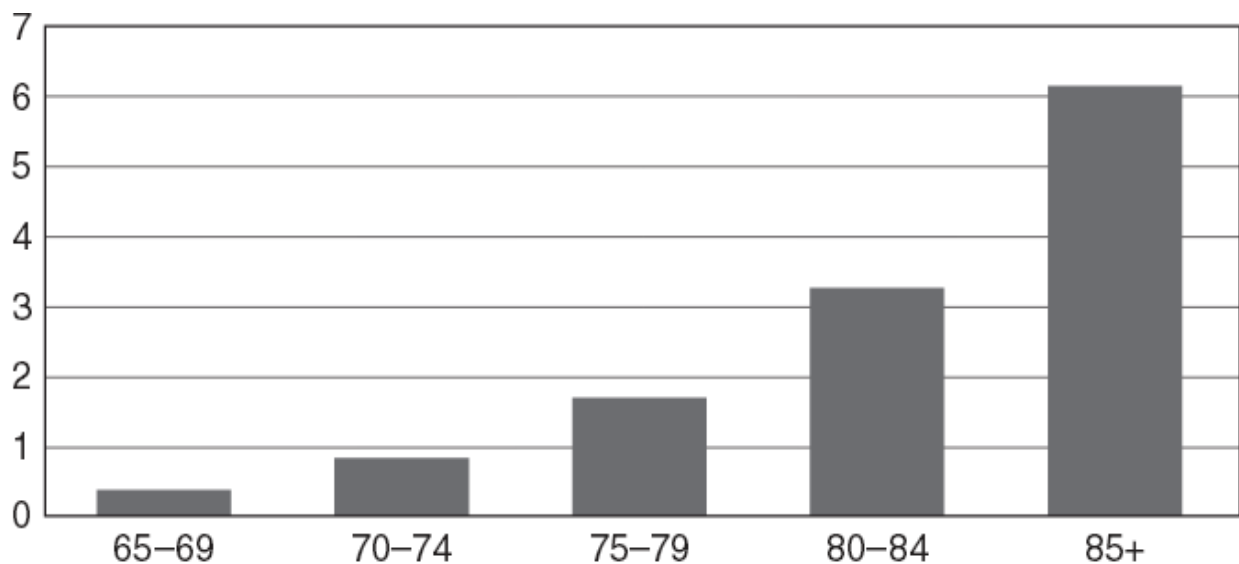


Figura 2. Incidencia anual (por 100 personas-año) para la enfermedad de Alzheimer en cada franja de edad.

La morbilidad y la mortalidad atribuidas a la demencia en las edades avanzadas son muy frecuentes. Concretamente, en 2016, en España las demencias supusieron la cuarta causa de fallecimientos, y tomando sólo en cuenta las demencias por EA, la séptima⁵. Pero en las estadísticas tradicionales se infravalora su contribución porque no es causa per se, aunque la demencia aumenta la vulnerabilidad a otras enfermedades e infecciones que conducen a la muerte. En una encuesta realizada por Medicare, se

interpretó la demencia como la segunda causa de mortalidad (19% de los fallecimientos) en mayores de 65 años⁶.

Por todo lo expuesto, la demencia por EA es una cuestión prioritaria de salud pública. El impacto socioeconómico es enorme, estimándose en 422 mil millones de dólares en todo el mundo en 2009, con un incremento del 18 % respecto a 2005⁷.

Varios factores se han relacionado con el riesgo de la EA, siendo el principal la enfermedad cerebrovascular (tabla 1).

<i>Antecedente</i>	<i>Tipo de factor</i>	<i>Mecanismos posibles</i>
Enfermedad cardiovascular	De riesgo	Destrucción del parénquima Localización del daño en lugares estratégicos como el tálamo. ↑ Aumento del depósito de β Amiloide
Fumar	De riesgo	Efectos cerebrovasculares Estrés oxidativo
Hipertensión	De riesgo	Enfermedad microvascular
Diabetes tipo 2	De riesgo	Efectos cerebrovasculares La insulina y el β Amiloide compiten con la misma enzima para ser eliminados
Obesidad	De riesgo	Resistencia a la insulina
Traumatismo craneoencefálico	De riesgo	↑ Aumento del depósito de β Amiloide
Educación	Protector	Proporciona reserva cognitiva
Actividad lúdica	Protector	Mejora el metabolismo lipídico y la estimulación mental
Dieta mediterránea	Protector	Antioxidante, antiinflamatoria
Actividad física	Protector	Activa la plasticidad cerebral y promueve la vascularización del cerebro.

Tabla 1. Factores que modifican el riesgo de la Enfermedad de Alzheimer³

1.1.2 ETIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA

Aunque no está completamente esclarecida, se han sugerido diversas hipótesis, fundamentadas en los hallazgos anatomopatológicos y en los genes a los que se ha asociado la enfermedad.

Neuropatología

Se han apreciado dos anomalías características en los cerebros de los enfermos de Alzheimer: depósitos de $A\beta$ extracelulares (denominados placas seniles) y depósitos de proteína Tau hiperfosforilada fibrilar intracelular en neuronas (conocidos como marañas neurofibrilares), con predominio en lóbulos frontal y temporal.

El péptico B amiloide deriva de la proteólisis de una proteína de mayor tamaño. La proteína Tau, ha sido implicada en la unión y estabilización de los microtúbulos celulares. En la EA se encuentra hiperfosforilada y forma agregados citoplasmáticos tóxicos para las neuronas. Todo esto perturba la función sináptica, antesala de la neurodegeneración progresiva y la atrofia cortical e hipocampal (figura 3).

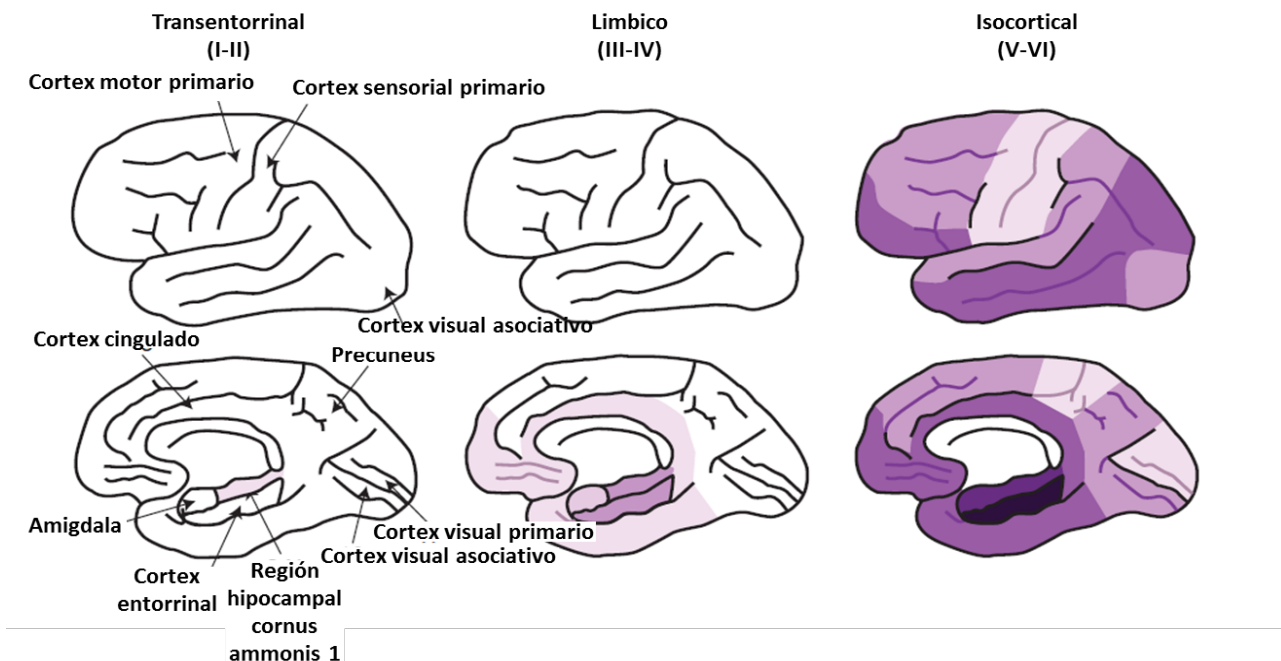


Figura 3. Patrón espaciotemporal de la degeneración neurofibrilar descrita en el curso de la enfermedad de Alzheimer y sus distintas fases (de I a VI). El sombreado es más oscuro cuanto mayor es la densidad del depósito. Datos basados en Arnold et al. 1991; Braak and Braak 1991; Arrigada et al 1992; Braak et al. 1994.

Genética

Se han asociado estrechamente tres genes a la forma familiar de inicio temprano: APP (gen de la proteína precursora de amiloide), PSEN1 (gen de la presenilina 1) y PSEN2 (gen de la presenilina 2). Las mutaciones en estos genes, de transmisión autosómica dominante en su mayoría, son infrecuentes (menos del 1% de los casos de EA), pero tienen una elevada penetrancia, lo que causa una elevación de los niveles relativos del péptido AB42 y un inicio precoz de la enfermedad (4^a-5^a décadas de la vida).

Estas mutaciones representan una minoría de casos de la enfermedad, pero han servido de soporte a la teoría de que el desequilibrio entre la producción y eliminación del péptido A β juega un papel esencial en la neurodegeneración en la enfermedad, lo que permite elaborar hipótesis sobre otros genes implicados en este metabolismo.

En las formas más frecuentes (la esporádica y la familiar de inicio tardío), el genotipo APOE4 aparece en cerca del 50% de los casos, lo que hace que sea considerado como un factor de riesgo (tabla 2). Este gen codifica la apolipoproteína E, una lipoproteína pleiotrópica que participa en varios procesos celulares como el transporte de colesterol, la plasticidad sináptica, la regulación inmune... Tiene un polimorfismo de tres alelos (E2, E3 y E4) donde E3 se considera alelo neutral, E2 alelo protector y E4 alelo de alto riesgo que reduce la eliminación del péptido A β ⁸.

<i>Gen</i>	<i>Tipo de alteración</i>	<i>Mecanismo</i>
<i>Amyloid precursor protein (APP)</i>	Mutación	Autosómico dominante, inicio precoz
<i>Presenilin 1 (PSEN1)</i>	Mutación	Autosómico dominante, inicio precoz
<i>Presenilin 2 (PSEN2)</i>	Mutación	Autosómico dominante, inicio precoz
<i>Apolipoprotein-E (APOE)</i>	Variante común	Familiar y esporádica, inicio tardío
<i>Sortilin-related receptor (SORL1)</i>	Variante común	Familiar y esporádica, inicio tardío
<i>Clusterin (CLU)</i>	Variante común	Esporádica, inicio tardío
<i>Phosphatidylinositol binding clathrin assembly protein (PICALM)</i>	Variante común	Esporádica, inicio tardío

<i>Complement component (3b/4b) receptor 1 (CR1)</i>	Variante común	Esporádica, inicio tardío
<i>Bridging integrator 1 (BIN1)</i>	Variante común	Esporádica, inicio tardío

Tabla 2. Variantes y mutaciones genéticas asociadas con la enfermedad de Alzheimer³.

1.1.3 CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO

Síntomas cardinales

La pérdida de memoria es el síntoma más común al inicio de la demencia por EA. Este déficit tiene un patrón característico, viéndose afectada desde el inicio la memoria episódica para sucesos recientes que depende del hipocampo y estructuras neocorticales. La memoria episódica inmediata resulta menos perjudicada por ser dependiente del córtex prefrontal, así como la memoria remota, que al estar más consolidada es menos dependiente del hipocampo. La memoria procesal y semántica tampoco se ven afectadas hasta fases más avanzadas.

Dentro de las alteraciones cognitivas, destacan el daño de la función ejecutiva, mostrando el enfermo dificultad para las tareas habituales, falta de organización y de motivación. Es común la anosognosia (falta de consciencia de la enfermedad), esto les lleva a infravalorar sus síntomas, negar la enfermedad y plantear excusas para justificarlos. Por ello es importante la entrevista a familiares y allegados de estos pacientes.

Los síntomas neuropsiquiátricos son frecuentes, en especial en las fases intermedias y avanzadas. Algunos de ellos son sutiles al inicio, como la apatía, la irritabilidad o la falta de interés por las relaciones sociales. Aquellos que presentan una mayor consciencia de la enfermedad tienen mayor riesgo de sufrir de depresión. Otros derivan en trastornos del comportamiento más graves, con agitación, agresividad y psicosis^{9,10}.

Hay otra serie de síntomas que se presentan con una menor frecuencia y de manera más tardía como son la apraxia, la disfunción olfativa, los trastornos del sueño,

epilepsia y alteraciones motoras tanto piramidales como extra piramidales lo que en ocasiones nos lleva a plantearnos el diagnóstico de otros tipos de demencia con una mayor frecuencia de aparición de estos síntomas.

Curso clínico

La evolución de la EA es inexorable. Este progreso se cualifica con escalas de estatus mental, la más empleada en el Mini-Mental State Examinaron (MMSE). El deterioro promedio en esa escala es de 3-3,5 puntos por año en el MMSE aunque cerca del 10% de los pacientes progresan más rápido (entre 5 y 6 puntos anuales)¹¹. Cuanto más tardío es el inicio de la enfermedad, más lenta es la progresión del deterioro cognitivo. Por otro lado, la sintomatología no amnésica precoz, marca un deterioro más rápido¹². La supervivencia media desde el diagnóstico es de 8-10 años, aunque es dependiente del estado previo de salud y de la edad. En los estados finales de la enfermedad, el enfermo se mantiene con cuidados paliativos y acaba sucumbiendo a complicaciones como las infecciones o la desnutrición¹³.

Evaluación

Historia clínica: Se centra en el inicio insidioso y curso progresivo, tras la exclusión de otras etiología, y en la documentación de alteraciones cognitivas y neurológicas. Proporciona una sensibilidad y una especificidad razonables.

Evaluación neuropsicológica: La utilización de test estandarizados y normalizados, permite garantizar una valoración objetiva del estado cognitivo. Facilitan el establecimiento de una situación basal para el posterior seguimiento, ayudan a caracterizar el tipo de demencia para diferenciar entre sus distintas causas y se utilizan para determinar recomendaciones sobre la dependencia y el soporte necesario para el enfermo en cada fase de la demencia.

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 los tratamientos¹⁴. En la actualidad, se investigan distintos tipos de biomarcadores. La mayoría se pueden catalogar en tres grupos: los biomarcadores genéticos (comentados anteriormente), los de neuroimagen y aquellos mensurables en líquido cefalorraquídeo¹⁵.

Neuroimagen

Esta se trata de una de las áreas más prometedoras. Tenemos como ejemplos la tomografía por emisión de positrones (PET), la tomografía computarizada por emisión única de fotones (SPECT), y las imágenes por resonancia magnética (RMN). Estas vías de acceso al cerebro in vivo pueden ayudar a medir las alteraciones en la función o estructura de manera temprana. Aunque tanto la sensibilidad como la especificidad de las pruebas de neuroimagen no son muy elevadas, sí que es posible la obtención de un elevado valor predictivo positivo utilizando en conjunto las características cuantitativas y cualitativas de las diferentes pruebas.

- RNM

Útil para establecer diagnósticos alternativos o adicionales a la demencia como la enfermedad cerebrovascular, enfermedades estructurales (hematoma crónico subdural, neoplasia cerebral, hidrocefalia normotensiva...) y atrofia regional sugestiva de otro tipo de neurodegeneración.

Los hallazgos morfológicos obtenidos en la RNM no son patognomónicos de la EA, pero aportan suficiente especificidad cuando la clínica acompaña. Se observa atrofia

generalizada y focal, aparte de lesiones en la sustancia blanca. El hallazgo focal más característico es un volumen reducido del hipocampo y atrofia medial del lóbulo temporal^{9,17-20}

-

Neuroimagen funcional: FDG-PET, SPECT y RNM funcional.

Estas técnicas de imagen se centran en áreas de bajo metabolismo (PET) e hipoperfusión (SPECT, RNM funcional) en hipocampo y corteza parietal y temporal. Los radiotrazadores para amiloide utilizados en el PET (Figura 4) documentan la presencia y la extensión de la afectación por depósito de péptido amiloide en el cerebro in vivo^{21,22}.

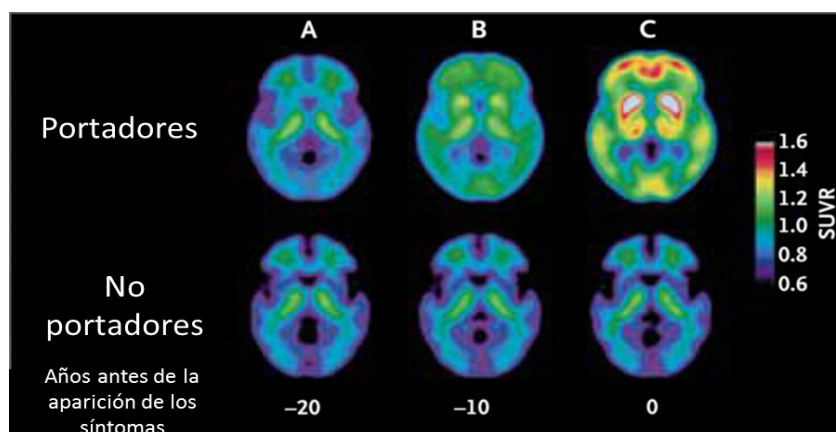


Figura 4. Imagen de PET donde se demuestra la presencia de depósito de β Amiloide. Las imágenes superiores corresponden a un portador de una mutación de transmisión autosómica dominante para la enfermedad de Alzheimer y su evolución desde 20 años antes de la aparición de los síntomas. Las tomografías de la línea inferior sirven de comparación con un no portador (Bateman et al. 2013).

Biomarcadores moleculares²³

Es un campo ampliamente investigado que ha aportado principalmente dos

biomarcadores en líquido cefalorraquídeo (LCR):

- Marcadores del depósito del péptido β Amiloide: ratio $A\beta_{42}:A\beta_{40}$ en LCR disminuido

- Marcadores del depósito de la proteína Tau fosforilada: incremento en LCR de la proteína Tau y Tau fosforilada.

Otro biomarcador, que se han relacionado con el curso acelerado de la enfermedad, es el nivel plasmático de la apolipoproteína E y APOE4.

Los marcadores topográficos tienen una menor especificidad que los moleculares, pero tienen una mayor correlación con el curso clínico de la EA. Estos test de manera aislada no sirven para el diagnóstico rutinario de la enfermedad, y parece complicado que puedan mejorar la capacidad diagnóstica basada en la evidencia clínica. De todos modos, son útiles en la investigación y han sido los que nos han permitido definir las formas sintomáticas y presintomáticas de la EA, anticipando su adición a los algoritmos diagnósticos conforme son estandarizados²³.

Criterios diagnósticos

El diagnóstico de certeza de la EA no lo aportan los exámenes histopatológicos, pero en la práctica clínica diaria se emplean criterios diagnósticos ante la sospecha de EA.

Los criterios para diagnosticar EA se basan principalmente en síntomas cognitivos, conductuales y sociales, a través de una evaluación neurocognitiva del paciente y de entrevista a familiares.

En 1984, el National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA), desarrolló una serie de criterios para facilitar la labor diagnóstica a los clínicos e investigadores. En estos se incluyeron diversos aspectos, como son la historia médica, tests neuropsicológicos, examen clínico y pruebas complementarias²⁴. Pero el diagnóstico definitivo lo confirman los hallazgos histopatológicos encontrados en la autopsia; por este motivo, en

ausencia de autopsia, el diagnóstico se puede clasificar en probable (síndrome clínico típico) o posible (cuadro enmascarado con trastornos que pueden contribuir a la demencia), pero no como definitivo.

Recientemente, los criterios de la NINCDS-ADRDA han sido revisados para incluir los avances en la valoración neuropsicológica, la neuroimagen, la bioquímica y la genética de la enfermedad⁹.

En el caso de los criterios expuestos en el DSM IV-tr (Clasificación de enfermedades mentales de la American Psychiatric Association)²⁵, 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 función cognitiva (afasia, apraxia, agnosia y función ejecutiva), 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. En el 2013 los criterios fueron actualizados (DSM-5)²⁶ y se renombraron y ampliaron los dominios cognitivos pasando a ser los siguientes: aprendizaje y memoria, lenguaje, función ejecutiva, atención, percepción motora e interacción social. También se aceptan en esta nueva versión los resultados genéticos como apoyo diagnóstico.

1.1.4 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

El espectro sintomático de la EA se puede solapar con otras causas de demencia como son las vasculares cuya etiología es la enfermedad cerebrovascular de pequeño vaso y otras enfermedades neurodegenerativas como la demencia de cuerpos de Lewy (parkinsonismos, alucinaciones visuales...) y la demencia frontotemporal; en este caso aparecen alteraciones de la personalidad y del comportamiento, afasia...

1.1.5 DETERIORO COGNITIVO LEVE

Actualmente, se han consensado nuevas entidades nosológicas con la intención de clasificar a los pacientes con alteraciones cognitivas leves que preservan las habilidades funcionales y que potencialmente pudieran evolucionar a una demencia²⁷. Este estado se ha denominado Deterioro Cognitivo Leve (DCL) y se considera la fase prodrómica a cualquier demencia. Sin embargo, se ha descrito que el DCL no desembocaría necesariamente en una EA u otro tipo de demencia; algunos casos vuelven a un estado cognitivo normal²⁸. En el caso del DCL de tipo amnésico, se estima un ratio de conversión a demencia tipo Alzheimer del 10-15%²⁹.

1.1.6. ALZHEIMER PRECLÍNICO

Estudios recientes indican que la EA se caracteriza por una prolongada fase asintomática, situando el comienzo de la patogenia, unos 10 años antes del inicio de los primeros síntomas (figura 5). Esta fase queda definida gracias a los resultados positivos de los biomarcadores que ponen de manifiesto la presencia de la patología molecular³⁰.

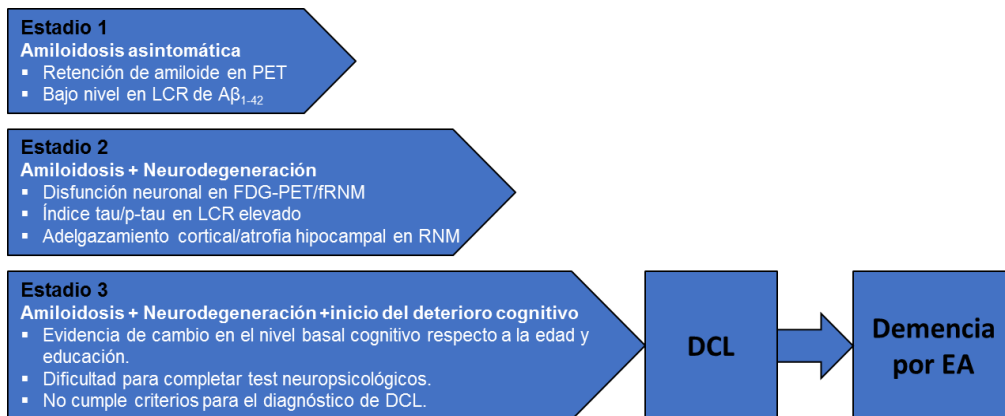


Figura 5. Representación gráfica del estadiaje del Alzheimer preclínico. Muchos sujetos no progresarán más allá del estadio 1 o del estadio 2; pero aquellos en estadio 3 tendrán una alta probabilidad de progresar a DCL y demencia por EA. Abreviaturas: (PET: tomografía por emisión de positrones; LCR: líquido cefaloraquídeo; FDG: fluorodeoxiglucosa; fRNM: resonancia nuclear magnética funcional; DCL: deterioro cognitivo leve)

1.1.7. TRATAMIENTO EN LA ACTUALIDAD

Esta enfermedad en la actualidad, carece de tratamiento curativo o modificador del curso clínico. El objetivo de las terapias disponibles hoy en día, es el de ralentizar la progresión de la enfermedad, con resultados dispares entre las diferentes opciones terapéuticas. Las dianas terapéuticas son las anomalías en los niveles de neurotransmisores que se dan en la enfermedad, pero el principal problema de estas opciones terapéuticas es la no actuación sobre la patogenia de la enfermedad en sí misma.

La opción terapéutica más utilizada en estos pacientes en la actualidad son los inhibidores de la colinesterasa. La alteración más consistente en los neurotransmisores de la corteza cerebral de estos enfermos es la pérdida de marcadores colinérgicos, acetilcolintransferasa y acetilcolinesterasa, que conllevan un déficit en la síntesis de acetilcolina y de la función colinérgica cortical. Dado que la EA es una patología muy heterogénea, la respuesta a este tratamiento es variable y el tratamiento debe 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 antidemenciales que se utilizan son el donepezilo (Aricept®) y la rivastigmina (Exelon® y Prometax®)³¹.

La memantina, un antagonista del receptor de NMDA (N-metil-D-aspartato), normaliza la transmisión de la señal afectada por el glutamato, principal neurotransmisor excitador sobre las neuronas corticales e hipocampales. El bloqueo de estos receptores por la memantina, evita su sobreexcitación, generando un efecto neuroprotector. El uso de memantina, parece tener un modesto beneficio en la función cognitiva de la EA de moderada a grave, aunque su relevancia clínica ha sido poco significativa, por lo que su uso se debe individualizar considerando otros factores como el coste y la fiabilidad³².

Otras terapias que se han probado en la demencia por EA con resultados poco consistentes han sido los antioxidantes (vitamina E), antiinflamatorios no esteroideos, estrógenos, ginkgo biloba, estatinas y suplementos dietéticos.

Por todo lo expuesto, el principal objetivo en el manejo de estos pacientes se basa en el soporte al paciente, facilitando la adaptación del entorno físico y familiar a las limitaciones que se presentan en el desarrollo de la enfermedad. El manejo holístico se traduce en un abordaje de distintas áreas como la nutrición, la rehabilitación y la terapia ocupacional, la seguridad, la preparación de los cuidadores, el apoyo psicológico tanto al paciente como a los familiares, la situación socioeconómica...

1.1.8. NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL TRATAMIENTO

Conforme se ha ido aclarando la fisiopatología de la EA, han ido surgiendo nuevas alternativas terapéutica, aunque todavía se encuentran en fase experimental³³.

La **estrategia anti-amiloide** se basa en la inmunización pasiva con anticuerpos monoclonales A β (solanezumab, crenezumab...) que interactúan con el péptido A β para impedir su agregación y promover su eliminación o bien en la inmunización activa con vacunas (ACC-001) que estimulan la respuesta con anticuerpos contra el péptido A β . Hay varios ensayos en desarrollo actualmente, la mayor parte de ellos en fase III tras haber demostrado eficacia en modelos animales y un buen perfil de seguridad.

La **estrategia anti-tau** ha aportado menos progresos, probablemente por tratarse de una diana intracelular y por tanto de difícil acceso en términos farmacocinéticos. Pero esta dificultad no ha impedido que ya se hayan probado inmunizaciones pasivas y activas en modelos animales con resultados prometedores. También se trabaja activamente en la regulación de las proteín-quinatas implicadas en la fosforilación de la proteína Tau.

Otras estrategias menos desarrolladas son la **terapia génica** basada en la promoción de factores de crecimiento neuronal, **agonistas selectivos para receptores nicotínicos** que mejoran la transmisión colinérgica o agonistas de la PPAR- γ (receptor activado por el proliferador de los peroxisomas gamma) como las tiazolidindionas.

Para demostrar eficacia clínica, el desarrollo de nuevas terapias debe ir necesariamente unido a la optimización en la metodología de los ensayos clínicos en la detección de cambios en las fases precoces de la EA y su progresión. Los biomarcadores refuerzan la caracterización de la enfermedad en sus distintas fases (preclínica, prodómica y la propia de la demencia) y ayudan a definir la influencia de los distintos mecanismos de acción que pueden ser convertidos en dianas terapéuticas³⁴.

1.1.9. ALZHEIMER Y VISIÓN

Los síntomas visuales son frecuentes en los comienzos de la EA³⁵⁻³⁸, con quejas referidas a la lectura, la conducción o el reconocimiento de objetos. En la exploración de la función visual se han descrito alteraciones en los movimientos oculares, en la sensibilidad al contraste, en los registros de los potenciales evocados visuales y en la percepción de colores entre otras. La agudeza visual y el campo visual rara vez se encuentran afectados al inicio de la enfermedad, aunque sí pueden presentar déficits moderados respecto a la población general. Habitualmente, las alteraciones en la función visual se han atribuido al daño en el córtex de asociación visual producido por la enfermedad^{39,40}, aunque los exámenes neuropatológicos muestran alteraciones en todos los niveles del eje visual, desde las células ganglionares hasta el córtex de asociación visual.

Una forma de presentación atípica de la EA es la atrofia cortical posterior⁴¹. Se debe a una distribución neuroanatómica diferente de las marañas neurofibrilares (áreas de asociación visual y corteza visual primaria), que coincide con una clínica diferente a la

forma clásica, con un deterioro visual cortical progresivo como principal característica⁴²⁻⁴⁵. Se asemeja al síndrome de Balint⁴⁶, con simultagnosia (dificultad para interpretar imágenes complejas u objetos mezclados, pero sí por separado), ataxia óptica y apraxia ocular. Otras características son otros tipos de agnosias visuales y defectos del campo visual. En este conjunto de síntomas estaría implicada la transmisión dorsal visual en regiones occipitales laterales y parietooccipitales⁴²⁻⁴⁵.

1.2 FIBROMIALGIA

La fibromialgia se define como un trastorno no inflamatorio que afecta a las partes blandas del aparato locomotor, causando un dolor corporal difuso. Se caracteriza por un grupo de síntomas y trastornos músculoesqueléticos poco entendidos, entre los que se encuentran fundamentalmente la fatiga extrema, el dolor persistente, la rigidez de intensidad variable de los músculos, tendones y tejido blando circundante, y un amplio rango de otros síntomas psicológicos, como dificultades para dormir, rigidez matutina, dolores de cabeza y problemas con el pensamiento y la memoria, que suelen impedir el funcionamiento rutinario del sujeto afecto⁴⁷. Es un trastorno presente en aproximadamente entre el 3 y el 6% de las mujeres jóvenes, comúnmente entre los 20 y los 50 años de edad⁴⁸⁻⁵⁰.

La fibromialgia es una patología con un diagnóstico controvertido, y algunos autores afirman que no debe considerarse como una enfermedad debido, entre otras razones, a la falta de anormalidades en el examen físico, en los exámenes de laboratorio objetivos o estudios de imágenes médicas para confirmar el diagnóstico⁴⁷. Aunque históricamente ha sido considerada un trastorno musculoesquelético y neuropsiquiátrico, las evidencias de investigaciones realizadas en las últimas tres décadas han puesto de manifiesto alteraciones en el sistema nervioso central que afectan a regiones del cerebro que podrían estar vinculadas tanto a los síntomas clínicos como a fenómenos

descubiertos durante investigaciones clínicas⁵¹. Aunque todavía no existe una cura para la fibromialgia, hay tratamientos que han demostrado durante ensayos clínicos controlados ser eficaces en la reducción de los síntomas, como la educación del paciente, el ejercicio, las terapias conductuales y el consumo de ciertos fármacos⁵². La fibromialgia es una enfermedad reconocida por todas las organizaciones internacionales y por la Organización Mundial de la Salud (OMS) desde 1992⁵³.

El término “Fibromialgia” deriva de la palabra latina *fibro* (tejido fibroso presente en ligamentos, tendones y fascias) y los términos griegos *mio* (tejido muscular), *algos* (dolor), e *ia* (condición). Fue propuesto por primera vez por Yunun y cols. en 1981, en sustitución del vocablo “Fibrositis”, con el que se denominaba a un tipo de alteración reumatológica caracterizada por la presencia de puntos sensibles musculares donde no podía evidenciarse inflamación tisular. Fibromialgia es el último de diversos nombres utilizados desde el siglo XIX para referirse a un conjunto de síntomas, entre los que destacan enfermedad de los puntos sensibles, dolor muscular, miitis, fibromiositis nodular o reumatismo psicógeno, términos todos ellos que finalmente cayeron en desuso⁵⁴.

En la década de los 90 el American College of Rheumatology (ACR) estableció unos criterios de clasificación de la fibromialgia basados en la existencia de dolor crónico generalizado y determinados “puntos dolorosos”⁴⁷. Con ello se pretendía agrupar e identificar un importante número de personas con necesidad de atención y tratamiento, que presentan síntomas similares y probablemente un proceso fisiopatológico común.

1.2.1 EPIDEMIOLOGÍA

Dependiendo de los criterios diagnósticos empleados, la frecuencia oscila entre 1,2 y el 8% de la población⁴⁸⁻⁵⁰.

La relación hombres:mujeres afectos de fibromialgia con los nuevos criterios diagnósticos (comentados más adelante), es de 1:2. En cuanto a la prevalencia de la enfermedad, presenta similares valores en todas las culturas, razas y grupos étnicos⁵⁰.

La fibromialgia puede presentarse a cualquier edad, incluyendo la infancia.

El dolor musculoesquelético crónico generalizado podemos encontrarlo en alrededor del 30% de la población⁴⁹.

La fibromialgia es, por lo tanto, un problema frecuente en la práctica clínica. En nuestro país, la prevalencia de esta enfermedad se sitúa entre el 2,1 y el 5,7% de la población general adulta y ocupa el 5-8% de las consultas de atención primaria, con lo que es la causa más frecuente del dolor osteomuscular generalizado y crónico^{55,56}.

1.2.2 ETIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGÍA

Hoy en día, la etiología y la fisiopatología de la fibromialgia, son desconocidas, aunque se baraja como principal hipótesis, la existencia de una alteración en la modulación y amplificación del dolor⁵¹.

El modelo fisiopatológico aceptado en la actualidad, sugiere la existencia de una alteración en los mecanismos centrales de la modulación del dolor como resultado de una disfunción en alguno o algunos neurotransmisores. Esta alteración, de acuerdo con el modelo, tendría lugar debido a una deficiencia en alguno de los neurotransmisores inhibitorios a nivel central (serotonina, encefalina, noradrenalina...) y a una hiperactividad de los neurotransmisores excitatorios (sustancia P, glutamato, bradiquinina...) de la transmisión nociceptiva. Estas alteraciones pueden ser desencadenadas, de acuerdo con el modelo aceptado, por factores estresantes como son infecciones víricas, estrés psicológico, o traumatismos físicos; aunque estos factores desencadenantes no son

causa suficiente, ya que tienen que estar presentes ambas disfunciones, y por tanto existiría una predisposición genética⁵⁷.

Unidas a estas alteraciones en los neurotransmisores, también hay que tener en cuenta la implicación en la fisiopatología que tienen tanto el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y el sistema nervioso simpático, ya que son los principales órganos del sistema de respuesta al estrés⁵⁸.

De acuerdo con el modelo actual de la enfermedad, un factor estresante podría producir una modificación en el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal por mecanismos hoy en día desconocidos, con consecuencias a nivel del sistema nervioso simpático y serotoninérgico. Por este motivo, se especula que el eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal juega un papel fundamental en la instauración de la sintomatología presente en la fibromialgia.

1.2.3 CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO

La fibromialgia es una enfermedad de diagnóstico controvertido, llegando algunos autores a negar la entidad como una enfermedad en sí misma, dada la ausencia de alteraciones demostrables en la exploración física, mediante analíticas y pruebas de laboratorio o pruebas de imagen.

Los criterios de la American College of Rheumatology (ACR)⁴⁷, consiguieron que se aceptase la existencia de la fibromialgia como entidad clínica independiente dentro de la medicina. Además del dolor musculoesquelético, se incluyeron los trastornos psicológicos dentro de los criterios diagnósticos.

Se han propuesto diversas clasificaciones clínicas para abordar de la manera más adecuada esta enfermedad: clasificación de Giesecke y cols., clasificación de Müller y cols, clasificación de Thieme y cols, y clasificación de Hasset y cols.

Dentro de estas clasificaciones clínicas, cabe prestar especial atención a la de Giesecke, elegida para orientar las medidas terapéuticas según el grado de enfermedad en el Documento de Consenso interdisciplinar para el tratamiento de la fibromialgia publicado en 2010⁵².

Es esencial llevar a cabo una anamnesis exhaustiva en los pacientes que padecen fibromialgia. El principal síntoma es el dolor generalizado, que empeora con el estrés, desencadenantes emocionales, el frío o la actividad física mantenida. Este dolor puede tener, como síntomas acompañantes, la rigidez articular matutina, la presencia de parestesias en extremidades, astenia y alteraciones del sueño. También se pueden presentar síntomas como cefaleas, acúfenos, sensación de inestabilidad, alteraciones en la capacidad de concentración, disfunción temporomandibular y colon irritable, entre otros. Los pacientes con fibromialgia presentan frecuentemente intolerancia a estímulos, olfativos y auditivos.

Se debe hacer hincapié durante la entrevista clínica en los aspectos psicológicos y psiquiátricos, como son los antecedentes psiquiátricos personales y familiares, situación psicopatológica actual, relaciones familiares, condiciones sociolaborales...

El diagnóstico de fibromialgia se basa exclusivamente en la sintomatología clínica que manifiesta el paciente, esto es, la existencia de dolor generalizado y desencadenado por la presión de los puntos sensibles de la fibromialgia, y que fueron establecidos por la ACR en 1990, ya que, hasta ahora, se carece de datos objetivos analíticos, de imagen o anatomopatológicos específicos de la fibromialgia.

Recientemente se ha llevado a cabo una validación de los criterios diagnósticos empleados en la fibromialgia⁵⁹. Son los siguientes:

1. Historia de dolor generalizado:

El dolor es considerado generalizado cuando: hay dolor en el lado derecho o izquierdo del cuerpo y dolor por encima y por debajo de la cintura. Además debe haber dolor en esqueleto axial (cervical, o región anterior del tórax, o columna dorsal, o parte inferior de la espalda). En esta definición el dolor de hombro y nalga se considera dentro de dolor del lado derecho o izquierdo del cuerpo. Dolor en parte baja de la espalda se considera como dolor del segmento inferior (figura 6).

2. Dolor a la palpación digital, que debe estar presente en al menos 11 de los 18 puntos sensibles siguientes:

- Occipital: Bilateral. En las inserciones del músculo suboccipital.
- Cervical inferior: Bilateral. En las porciones anteriores de los espacios interapofisarios transversos de C5- C7.
- Trapecio: Bilateral. En la mitad del borde superior.
- Supraespinoso: Bilateral. En su origen, encima de la espina de la escápula, cercano al borde medial.
- Segunda costilla: Bilateral. En la segunda unión costo-condral justamente lateral en relación a las uniones de las superficies localizadas por encima.
- Epicóndilo lateral: Bilateral, 2 cm distal a los epicóndilos.
- Glúteo: Bilateral. En el cuadrante supero-externo de nalga, en el pliegue anterior del músculo.
- Trocánter mayor: Bilateral, posterior a la prominencia trocantérea.
- Rodilla: Bilateral. En la bolsa adiposa medial próxima a la línea articular.

La palpación digital debería llevarse a cabo con una fuerza aproximada de 4 Kg. Para que el punto sensible pueda ser considerado positivo, el paciente tiene que indicar aquella palpación que es dolorosa. Sensible no debe ser considerada dolorosa. El paciente con fibromialgia debe cumplir ambos criterios. El dolor generalizado debe estar

presente por lo menos 3 meses. La presencia de una segunda enfermedad clínica no excluye el diagnóstico de fibromialgia.

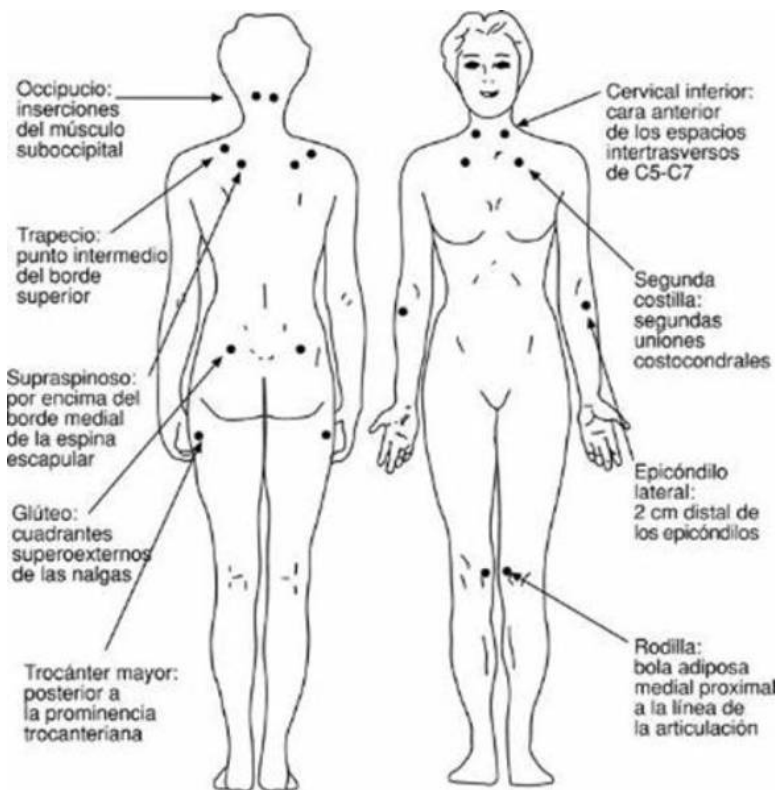


Figura 6. Puntos dolorosos en la fibromialgia

Es frecuente que los pacientes refieran dolor a los estiramientos laterales en las zonas cervicales y lumbares. En algunos enfermos se detecta alodinia dinámica al roce cutáneo o al pellizco suave de zonas musculares, generalmente en zona de trapecios, parte proximal de brazos y muslos, realizado con los dedos de la mano, pulgar y 2º a 5. El paciente lo define como una sensación de ardor o escozor.

Recientemente un grupo de expertos de la ACR, como consecuencia de las limitaciones señaladas, ha propuesto unos nuevos criterios preliminares de diagnóstico de la fibromialgia. Dichos criterios se han obtenido mediante un estudio comparativo entre un amplio grupo de pacientes diagnosticados de fibromialgia y un grupo control de individuos con dolor osteoarticular no inflamatorio, de similar edad y sexo⁵⁹. En estos nuevos criterios, ya no se emplea como elemento fundamental el recuento de los puntos

dolorosos, sino que se emplea la valoración del dolor generalizado, la presencia de astenia, alteraciones en el sueño y síntomas cognitivos y orgánicos. Por otro lado, aportan unas escalas de gravedad que facilitan al médico la evaluación del dolor y el resto de manifestaciones clínicas en cada paciente concreto, así como el seguimiento de su evolución.

1.2.4 TRATAMIENTO

El tratamiento de la fibromialgia debe integrar, por una parte, opciones farmacológicas y, por otra, involucrar al paciente como una parte activa del proceso. Es importante la reducción de los factores estresantes, la higiene del sueño y el ejercicio. La terapia farmacológica puede ser de ayuda en el alivio de determinados síntomas, pero aquellos pacientes que no se acogen a esta primera medida, rara vez obtienen una buena respuesta al tratamiento farmacológico.

Tratamiento farmacológico

Los fármacos que han resultado efectivos en el tratamiento de la fibromialgia, tienen dos principales mecanismos de acción; uno de ellos es la estimulación de los neurotransmisores inhibidores, como son la noradrenalina y la serotonina (antidepresivos tricíclicos, antidepresivos duales)^{60,61} o el ácido gammaaminobutírico (gammahidroxitirato)^{62,63}. El otro mecanismo de acción es la inhibición de los neurotransmisores estimuladores como el glutamato (gabapentina y derivados)⁶⁴.

La hiperactividad que se ha demostrado en el sistema opioide endógeno de los pacientes que padecen fibromialgia, puede ser la explicación a por qué los tratamientos con opioides no resultan efectivos y a por qué el tratamiento con dosis bajas de naltrexona se plantea como una prometedora opción⁶⁵. De hecho, los opioides no sólo no son efectivos sino que pueden incrementar el dolor en estos pacientes induciendo una situación conocida como hiperalgesia dependiente de opioides⁶⁶.

Hay diversos fármacos que se encuentran respaldados por una fuerte evidencia científica en lo referente a su efectividad en el tratamiento de la fibromialgia, como son los antidepresivos tricíclicos, los gabapentinoides, los inhibidores de la recaptación de la serotonina y la noradrenalina, y el gammahidroxibutirato.

Existen otras opciones farmacológicas con menor evidencia que las respalde, como son los antiguos inhibidores selectivos de la recaptación de la serotonina, la naltrexona a bajas dosis, la reboxetina y los derivados cannabinoides.

A menudo es necesaria la combinación de varios fármacos con diferentes mecanismos de acción para lograr el control de la enfermedad.

La eficacia de los analgésicos clásicos como los antiinflamatorios no esteroideos, los glucocorticoides y los opioides poseen una eficacia más bien escasa en el tratamiento del dolor crónico, dado que sólo se obtiene respuesta en un tercio de los pacientes.

Tratamiento no farmacológico^{67,68}

Las tres terapias no farmacológicas que han sido más estudiadas y poseen una mayor evidencia (1A) son la educación del paciente, la terapia cognitiva comportamental y el ejercicio. La respuesta a estas terapias no farmacológicas en ocasiones es superior a la del tratamiento farmacológico. Estas terapias pueden dar lugar a mejorías clínicas sostenidas de más de un año de duración.

Los tratamientos alternativos pueden resultar útiles como terapia coadyuvante; pero hay que tener en cuenta que, como en otras patologías, poseen muy poca evidencia que los respalde; por eso mismo, el principio a tener en cuenta para su utilización es siempre el de que no causen daño al paciente.

A pesar de creerse que la base fisiopatológica de la fibromialgia no está relacionada con el daño tisular o la inflamación, se ha demostrado en algunos pacientes la existencia de neuropatías de pequeña fibra en las biopsias⁶⁹.

Las nuevas técnicas de neuroestimulación central que se encuentran en desarrollo, van encaminadas a la estimulación de las áreas cerebrales encargadas del control del dolor, de manera que parecen opciones prometedoras para futuros tratamientos de la fibromialgia⁷⁰.

1.3 LA RETINA COMO VENTANA AL SNC

La retina tiene su origen embriológico en el tubo neural, de manera que es considerada una ventana para la exploración del estado del SNC. Consta de retina sensorial y retina neural, la primera se encarga de la fototransducción, y la segunda de iniciar el procesamiento de la información visual.

La retina es una estructura localizada en la zona interna del globo ocular y consta de 10 capas que son las siguientes (figura 7):

- Epitelio pigmentario de la retina: se trata de la capa más externa de la retina y consta de células cúbicas con gránulos de melanina.
- Capa de fotorreceptores: se trata de los segmentos más externos de los fotorreceptores.
- Membrana limitante externa: no es realmente una membrana, sino uniones intercelulares entre los fotorreceptores y las células de Müller.
- Capa nuclear externa: en ella se encuentran los núcleos de los fotorreceptores.
- Capa plexiforme externa: en ella es donde tiene lugar la sinapsis entre los fotorreceptores y las células bipolares.

- Capa granular interna: constituida por los núcleos de las células amacrinas, bipolares y horizontales.
- Capa plexiforme interna: en esta capa tiene lugar la sinapsis entre las células ganglionares, amacrinas y bipolares.
- Capa de células ganglionares: en ella encontramos los núcleos de las células ganglionares.
- Capa de fibras nerviosas de la retina: constituida por los axones de las células ganglionares de manera que, al unirse, constituyen el nervio óptico.
- Membrana limitante interna: sirve como separación entre la retina y el humor vítreo.

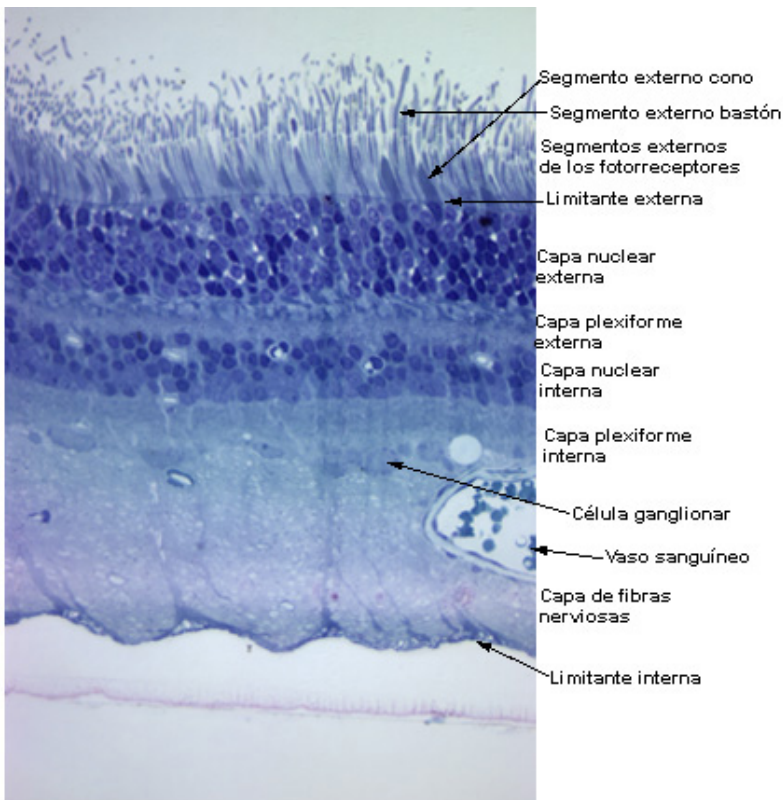


Figura 7. Histología de la retina

En este trabajo, vamos a centrarnos en la capa de fibras nerviosas de la retina como potencial biomarcador de la fibromialgia y la enfermedad de Alzheimer, por lo cual, vamos a hacer especial hincapié en esta capa.

1.3.1 CAPA DE FIBRAS NERVIOSAS DE LA RETINA Y NERVIO ÓPTICO

Los axones de las células ganglionares constituyen la capa de fibras nerviosas de la retina (CFNR) en su camino hacia el disco óptico. Esta capa tiene un mayor grosor en la zona peripapilar y un menor grosor en la zona periférica. Esta distribución se correlaciona con el patrón retinotópico de las células ganglionares, lo que significa que cada punto de la retina tiene su equivalente en una región dada del cuerpo geniculado lateral y de la corteza visual correspondiente⁷¹ (figura 8).

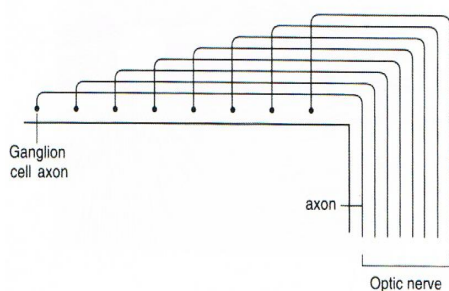


Figura 8. Organización de las fibras nerviosas

Los haces nasales de fibras nerviosas de la retina llevan una distribución recta hacia el disco óptico; por otro lado, los haces temporales llevan una distribución arciforme, dado que tienen que evitar la zona perimacular, por esto, reciben el nombre de haces arciformes⁷².

Aquellas fibras originadas en la zona nasal respecto a la fóvea tienen un recorrido rectilíneo hacia el disco óptico, constituyendo el haz papilomacular. En la zona temporal a la fóvea, se encuentra el rafe medio; esta estructura consiste en una banda estrecha localizada en el meridiano horizontal; en dicha zona, los axones de la zona superior e inferior sufren entrecruzamiento.

Los axones que constituyen la CFNR no se distribuyen de manera caótica en el nervio óptico, sino que siguen un patrón retinotópico, de forma que cada cuadrante del nervio óptico tiene su correspondencia con una cuadrante retiniano⁷³ (figura 9).

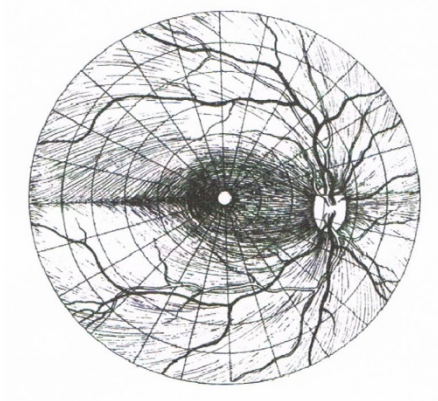


Figura 9. Organización de los axones de la retina

El tamaño de la papila oscila entre 1,15 y 4,94 mm², siendo de mayor tamaño en la población de raza negra que en la caucásica⁷⁴.

Aquellos haces que se localizan en la zona peripapilar externa constituyen lo que recibe el nombre de anillo neurorretiniano. La zona central del disco óptico no está constituida por axones, sino que contiene la arteria y la vena central de la retina con el tejido conectivo correspondiente y forma lo que conocemos como excavación del disco óptico⁷⁵ (figura 10).

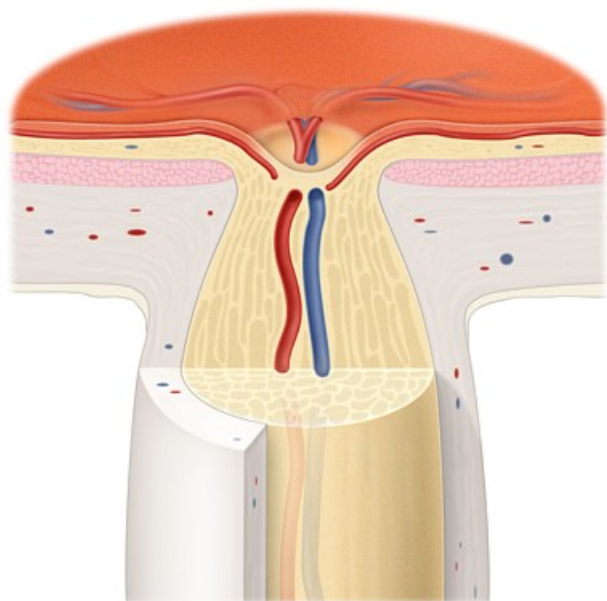


Figura 10. Cabeza del nervio óptico

El tamaño papilar influye directamente en el tamaño de la excavación, de manera que el diámetro de ésta puede variar entre 0 y 3.07 mm². La asimetría interocular en el tamaño de la papila es menor de 1 mm² en el 99 % de la población, por lo que ante la presencia de asimetría papilar clara, debemos plantearnos la existencia de patología.

El grosor del anillo neuroretiniano no sigue una distribución simétrica en todos los cuadrantes, de manera que de mayor a menor, se distribuye en el siguiente orden (figura 11): inferior, superior, nasal y temporal.

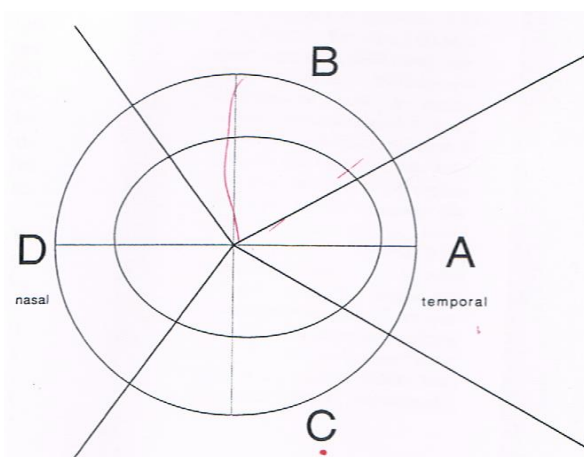


Figura 11. Grosor del anillo neuroretiniano.

El nervio óptico tiene su origen anatómico en el disco óptico y consta de cuatro porciones:

- Porción intraocular o intraescleral: es el lugar donde se produce la confluencia de aproximadamente 1-1,2 millones de axones de células ganglionares y atraviesa la esclera a través de la lámina cribosa, que consta de 200-300 canales que permiten el paso de los axones.
 - Porción intraorbitaria: en esta porción, el nervio óptico se encuentra recubierto por duramadre y aracnoides, que permiten el flujo de líquido cefalorraquídeo recubriendo el nervio óptico. Tras atravesar la lámina cribosa, el nervio óptico queda recubierto por una envoltura de mielina y aumenta su diámetro desde 1,5 mm (que tiene en el disco óptico) hasta los 3-4 mm. Esta porción mide aproximadamente unos 28 mm de longitud hasta el canal óptico.
 - Porción intracanalicular: al entrar el nervio óptico en el canal óptico, la envoltura meníngea se fusiona con la zona periorbitaria. Esta porción está rodeada así mismo por el anillo de Zinn; que es donde tienen su origen los 4 músculos rectos y el músculo oblicuo superior.
 - Porción intracraneal: en este recorrido, el nervio óptico pasa por debajo del ligamento falciforme (es una porción de duramadre). Una vez entra en la cavidad craneal, el nervio óptico pierde su envoltura meníngea.
1. El nervio óptico es una estructura recubierta por oligodendrocitos y no por células de Schwann. Esto guarda similitud con la estructura en el SNC; y es uno de los motivos por los que el nervio óptico es considerado SNC llevado a periferia. El otro motivo por el que se realiza esta consideración es que se encuentra recubierto por

una prolongación de las tres coberturas que hay en el SNC: duramadre, piamadre y aracnoides.

1.3.2 OCT COMO MÉTODO DE EXPLORACIÓN

Recuerdo histórico

La tomografía de coherencia (OCT) ha adquirido un importante papel diagnóstico en la práctica clínica de la oftalmología en un breve periodo de tiempo; ya que la primera OCT retiniana fue realizada en 1989 por David Huang, con una resolución de 15 micras en muestras de retina y de coronarias “ex-vivo”. La comparación con las muestras histológicas de los tejidos estudiados supuso un gran paso en la evolución de esta técnica de imagen.

El siguiente hito en el desarrollo de esta tecnología fue lograr acoplarla a un dispositivo similar a una lámpara de hendidura modificada en 1995. En 1996 se comercializa el primer dispositivo de OCT.a. El principal inconveniente era el elevado tiempo necesario para llevar a cabo la adquisición de imágenes y las limitaciones que presentaba por la sensibilidad a los movimientos oculares. Esto motivó que en el año 2001 surgiera la OCT de dominio espectral, que reducía de manera muy considerable el tiempo de adquisición, aunque tenía como contraposición un mayor tiempo de procesamiento de las imágenes.

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.

Principios de la tecnología OCT

La manera más sencilla de comprender el funcionamiento de la OCT, es comparándola con la ecografía, ya que se basan en el mismo principio de medición de la intensidad y de la latencia de la onda reflejada tras hacer incidir una onda sobre un determinado tejido. La principal diferencia entre la ecografía y la OCT es que en la primera se emplean ultrasonidos y en la segunda radiación luminosa; este dato es importante dada la diferencia de velocidad que existe entre estos dos tipos de radiación, ya que la primera viaja a una velocidad de 1500 m/s y la segunda viaja a una velocidad de 3×10^8 m/s. Esto conlleva que, mientras que en el caso de los ultrasonidos el retraso de tiempo entre la onda incidente y la onda reflejada es mensurable mediante cristales piezoeléctricos, en el caso de la radiación luminosa no es posible realizar esta medida de este modo, ya que hablamos de magnitudes del orden de femtosegundos.

La solución al problema que se plantea con la medida del retraso entre la onda incidente y la onda reflejada 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, 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 (figura 12).

La OCT está basada en la interferometría de baja coherencia, ya que se emplean fuentes de luz de banda ancha.

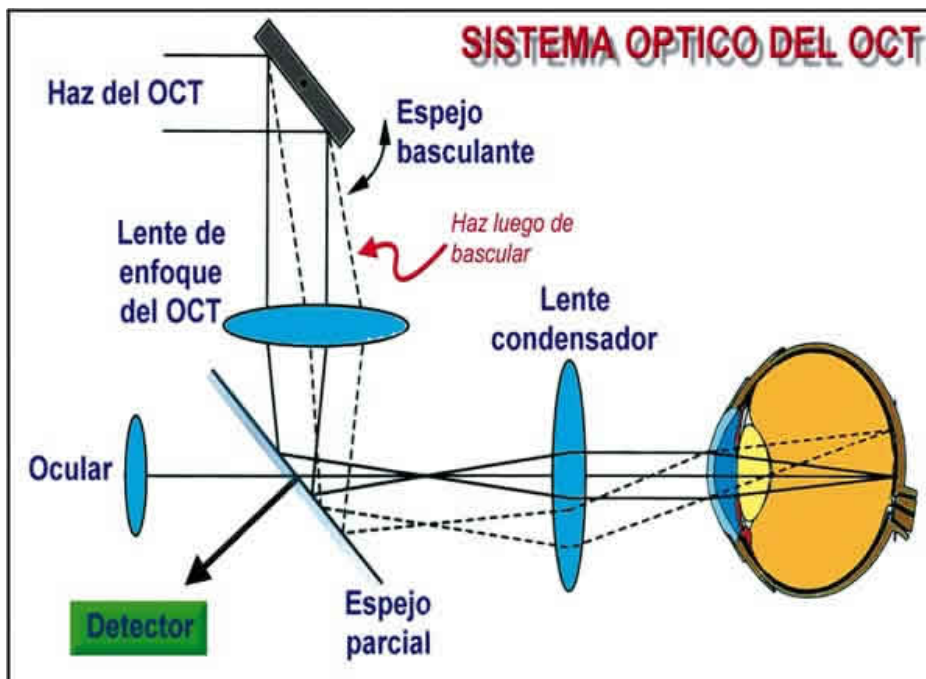


Figura 12. Interferometría de baja coherencia. Esquema de emisión y recepción de la luz

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 tiempo (TD-OCT) y las de dominio espectral (SD-OCT). Las diferencias entre estos dos sistemas son que 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, y que el receptor es un espectrómetro en la SD-OCT y único en la TD-OCT. Esto confiere a la OCT de dominio espectral una serie de ventajas respecto a la de dominio tiempo, que son las siguientes:

- **Mayor resolución axial:** El SD-OCT 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 SD-OCT permite entre 18000 y 40000 escaneos por segundo en contraposición de los 400 escaneos por segundo que permite la TD-OCT.

Esta tecnología nos permite la reconstrucción de las imágenes obtenidas en tres dimensiones (figura 13).

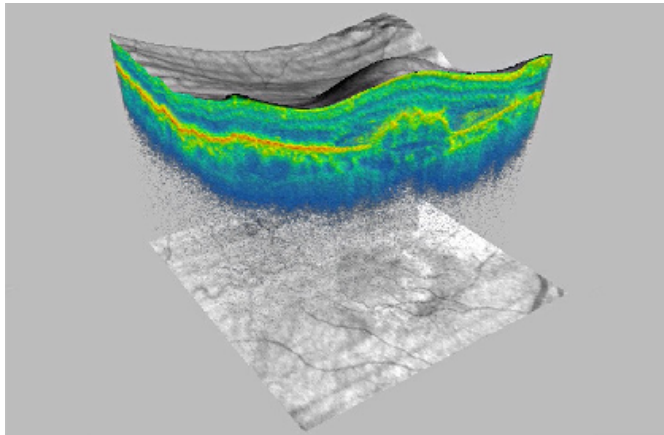


Figura 13. Reconstrucción en tres dimensiones de cubo macular obtenido por OCT

La configuración de las imágenes se basa en las propiedades de los tejidos:

- Alta reflectividad: indica una gran capacidad del tejido para la reflexión de la luz bloqueando su transmisión. La CFNR en la zona peripapilar tiene esta característica debido a la disposición perpendicular de las mismas respecto a la dirección del haz de luz.

- Media reflectividad: Corresponde a las capas que van desde la membrana limitante interna a la capa plexiforme externa

- Baja reflectividad: El tejido posee muy poca reflexión de la luz. La capa de fotorreceptores tiene esta característica por su disposición paralela al haz de luz.

Existe una correlación entre los cortes tomográficos que hace la OCT y la imagen histológica de la retina (figura 14).

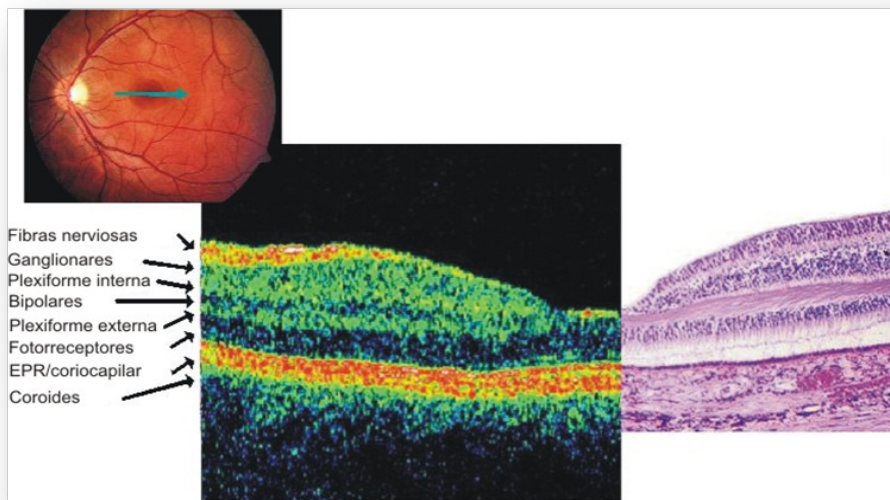


Figura 14. Correlación entre la imagen de OCT y la imagen histológica de la retina

El software de la OCT permite varios protocolos de adquisición de datos y de análisis tomográficos. Los softwares preexistentes permitían comenzar el barrido en la zona temporal dando un giro de 360° para volver a terminar en la zona temporal como se demuestra en la imagen (figura 15).

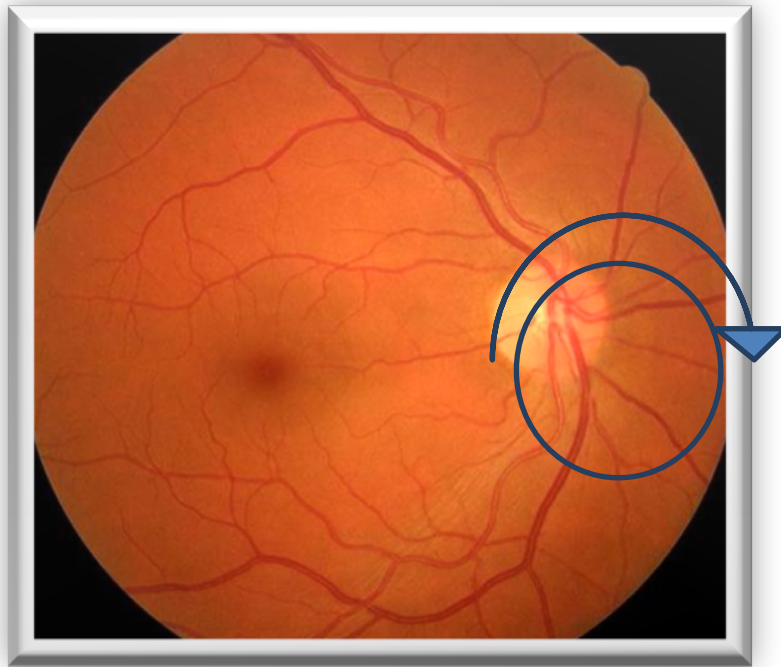


Figura 15. Esquema de barrido de la protocolo CFNR

El espesor de la CFNR en el sector temporal tiene especial interés dado que es el que lleva las fibras procedentes del polo posterior y de la mácula, que son las que nos permiten una visión con mayor nitidez⁷⁷.

Actualmente hay protocolos de captación de imágenes más avanzados que nos permiten la exploración en sentido inverso, iniciándose en zona nasal y dando un giro de 360° para terminar en zona nasal de nuevo, de manera que así obtenemos la medición más fiable en el sector temporal. Por otro lado estos nuevos softwares nos permiten obtener medidas de estructuras como el haz papilomacular y la razón entre el espesor de la retina en el sector nasal y temporal. La desventaja de este protocolo es que para su realización el paciente debe tener fijación macular, por lo que no es posible su realización en aquellos pacientes que carecen de la misma.

El otro protocolo de adquisición de datos de que disponemos es el del análisis de capa de células ganglionares de la retina, se trata de la adquisición de datos en área

macular para posteriormente analizar el espesor de dicha capa de células en esta zona, dado que es la que más precozmente se afecta en las enfermedades neurodegenerativas.

1.4 LA COLORIMETRÍA COMO MÉTODO DE ESTUDIO NEUROLÓGICO

El programa Laguna ONhE (Insoft SL, Tenerife, España) analiza tres componentes espectrales de las fotografías de la cabeza del nervio óptico: azul, verde y rojo. Las áreas del disco óptico con altos niveles de hemoglobina reflejan principalmente la luz roja. Por el contrario, las zonas con baja cantidad de hemoglobina reflejan una menor proporción del componente rojo en comparación con la luz verde y azul. Mediante el uso de diferentes concentraciones o diferentes espesores de varias diluciones de glóbulos rojos, se comprobó experimentalmente que las imágenes fotográficas analizadas con esta técnica se pueden usar para determinar la cantidad de hemoglobina. Así pues, se observó que la cantidad reflejada de luz roja, verde y azul a partir de las fotografías de las diluciones de hematíes, era linealmente proporcional a la cantidad de hemoglobina presente⁷⁸.

El software Laguna ONhE utiliza algoritmos matemáticos para la segmentación automática de la cabeza del nervio óptico, a partir de una delimitación semiautomática de los límites del disco óptico, siendo capaz de identificar los vasos de la retina central. Por lo tanto, el programa define dos áreas de la cabeza del nervio óptico: los vasos de la retina central y el propio tejido de la papila. Para poder obtener resultados absolutos y reproducibles, se necesita un patrón de referencia. El valor de referencia se debe obtener en el interior del ojo, y debe estar sujeto a las mismas variables (intensidad y composición espectral de la luz de iluminación, absorción de luz por el cristalino, etc). Por lo tanto, el resultado obtenido para los vasos centrales de la retina es usado como el valor de referencia para el cálculo del contenido de hemoglobina en el tejido de la cabeza del nervio óptico.

La imagen de la papila se divide automáticamente en ocho sectores radiales de 45°, y dos anillos concéntricos, que comprenden 1/3 y 2/3 de radio del disco, obteniendo la hemoglobina media y en los 24 sectores. El programa nos da una imagen de la papila analizada por escala de colores siendo las zonas “marrón-rojo” las que mayor cantidad de hemoglobina presentan, y las zonas “azul-verde” las que menos hemoglobina contienen. A continuación nos proporciona un esquema con la misma escala de color pero dividiendo la papila en 24 sectores. Los resultados también son proporcionados como porcentajes para cada uno de los 24 sectores, así como la media de hemoglobina, en una tabla en formato Excel (Figura 16).

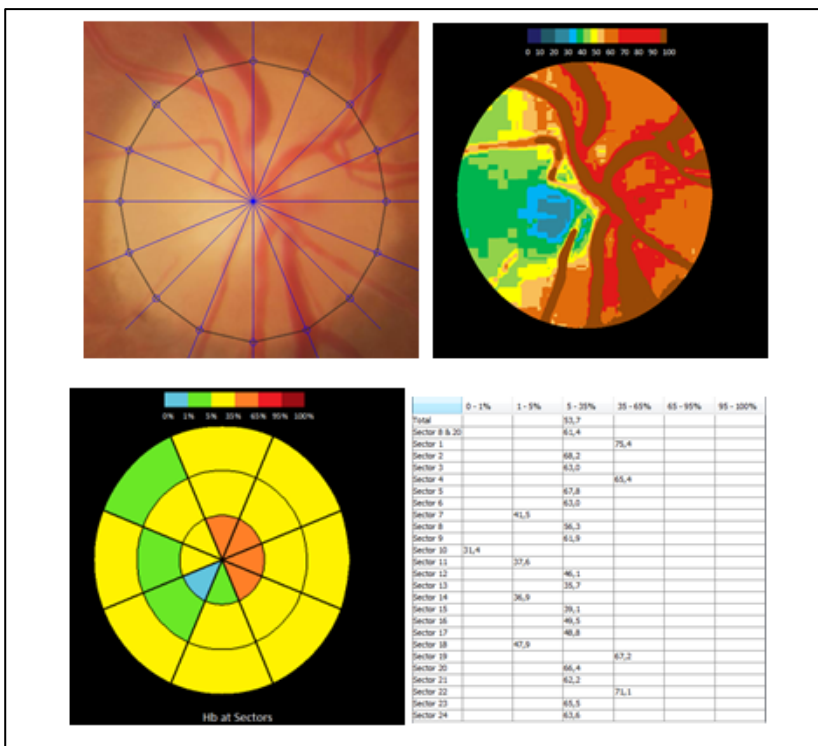


Figura 16: Resultados proporcionados tras el análisis de una fotografía del disco óptico con el software Laguna ONhE: división pseudo-automática de la papila (arriba/izquierda); imagen de la papila en escala de colores según los niveles de hemoglobina (arriba/derecha); imagen por escala de colores tras la división en 24 sectores (abajo/izquierda); y tabla Excel con los porcentajes de hemoglobina proporcionada por el software (abajo/derecha).

Hay varios factores que dificultan el análisis automático de las imágenes de la cabeza del nervio óptico: los problemas de iluminación, el tipo de cámara fotográfica utilizada, el nivel de saturación de las imágenes, la cooperación del paciente, etc. Por

esta razón, el programa cuenta con un sistema de pre-tratamiento de las imágenes que prepara y mejora las imágenes de la retina para la etapa de segmentación posterior. Este sistema de pre-procesamiento impide continuar con el análisis de las fotografías que incumplen ciertos criterios de luminancia y saturación, y a su vez, permite el uso de imágenes obtenidas mediante distintas cámaras. Por último, la influencia del estado del cristalino es compensada mediante el análisis de las diferencias entre los componentes de luz verde y azul antes de calcular el contenido de hemoglobina.

2. JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

2.1 ALZHEIMER

Dado que la EA es la principal causa de demencia en el mundo (con la previsión de un gran aumento es su prevalencia en las próximas décadas, tiene una enorme repercusión socioeconómica, ya que su evolución natural conlleva al final de la misma una absoluta dependencia funcional.

Esto ha sido el motor impulsor de grandes esfuerzos para aclarar la patogenia de la enfermedad y lograr encontrar un tratamiento efectivo o preventivo para ella.

Actualmente se desconoce la interacción entre la hiperfosforilación de la proteína Tau y la acumulación de péptido A β . Pero resulta evidente que ambas lesiones producen muerte neuronal por efecto neurotóxico. A pesar del desconocimiento exacto de la fisiopatología, se ha logrado desarrollar fármacos con resultados prometedores en modelos animales, que se encuentran en desarrollo en ensayos clínicos.

Ante la posibilidad de desarrollo de fármacos efectivos contra la EA, supone un reto el diagnóstico precoz de esta enfermedad, sobre todo teniendo en cuenta que la eficacia de algunos de estos fármacos depende de la aplicación de los mismos en las fases preclínicas de la enfermedad, previo al desarrollo de daño neurológico manifiesto.

El diagnóstico hoy en día se realiza por la presencia de deterioro cognitivo, de acuerdo a unos criterios establecidos por instituciones como es el National Institute of Neurological Communicative Disorders and Stroke-AD and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA). Aunque tienen una sensibilidad elevada (85%), presentan una muy baja especificidad, ya que la EA comparte muchas características clínicas con otros tipos de demencias. Por estos motivos, el

diagnóstico precoz o preclínico de la enfermedad representa todo un reto en la actualidad.

Existe evidencia de mecanismos neuropatológicos activos mucho antes de la aparición de los síntomas. En los últimos años se han tratado de definir las características de nuevas entidades que anticipan el desarrollo de la demencia por EA. Estas características se han condensado en los criterios que definen el DCL.

Casi todos los criterios para el diagnóstico tanto de la EA como del DCL se basan en test neuropsicológicos, aunque su precisión es limitada y su capacidad para medir la progresión es escasa, debido a una pobre confiabilidad por las influencias ajenas a la enfermedad sobre el estado cognitivo (situación emocional, ambiente, efectos secundarios de ciertos tratamientos...) y la capacidad de los pacientes para aprender los test. Otra limitación es la incapacidad para diferenciar entre los efectos modificadores del tratamiento o los efectos puramente sintomáticos, que mejoran el estado cognitivo, pero no influyen sobre el proceso neurodegenerativo.

Para contrarrestar las limitaciones de los criterios clásicos (clínicos y neuropsicológicos) de diagnóstico y progresión de la enfermedad, se han desarrollado biomarcadores capaces de complementar la información que nos facilite un diagnóstico preciso y una monitorización tanto de la progresión de la EA como de su respuesta al tratamiento. Los más prometedores hasta el momento han sido los marcadores genéticos, del LCR y de neuroimagen.

Numerosos estudios han relacionado la reducción en el espesor de la retina y de la CFNR con el daño axonal presente en la EA y el deterioro funcional.

En nuestro estudio se quiere demostrar la utilidad de la medida del espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina o del análisis colorimétrico de la cabeza del nervio óptico en la EA y su aplicación como biomarcadores precoces de neurodegeneración en EA. Para ello hemos empleado como herramientas fundamentales dos dispositivos de OCT de dominio espectral de última generación (Cirrus y Spectralis OCT) y una cámara fotográfica para analizar la colorimetría con el software Laguna ONhE. Posteriormente hemos analizado la confiabilidad de las pruebas y hemos establecido patrones basados en los parámetros proporcionados por la OCT y la colorimetría, que nos ayuden a definir su empleabilidad como marcador biológico.

2.2 FIBROMIALGIA

En lo que se refiere a la fibromialgia, se trata de una enfermedad con una prevalencia a nivel mundial del 2,1%, y un elevado coste económico asociado a la incapacidad que produce esta enfermedad para el desarrollo de una actividad normal, ya sea en la vida diaria y en la vida laboral (con la consiguiente necesidad de bajas laborales frecuentes).

Actualmente el diagnóstico de la enfermedad está basado en una serie de criterios que son de difícil valoración, motivo por el cual esta patología representa un reto diagnóstico para los especialistas. Por esta razón, presentamos la valoración colorimétrica del nervio óptico y la mediciones del espesor de la CFNR como posibles pruebas objetivas que puedan arrojar algo de luz al diagnóstico de esta enfermedad, permitiendo un diagnóstico más exacto y precoz de los pacientes, así como un abordaje terapéutico más directo.

En nuestro estudio, se ha pretendido demostrar la posibilidad del uso del análisis de la CFNR y del nervio óptico, así como la colorimetría de la cabeza del

nervio óptico analizada mediante el software Laguna ONhE, como biomarcadores de la fibromialgia. De esta manera se logrará tener pruebas objetivas, inocuas, de relativamente fácil y con una elevada reproducibilidad para el diagnóstico de esta enfermedad, que hasta ahora supone un reto.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. HIPOTESIS

El análisis colorimétrico de fotografías del nervio óptico utilizando el nuevo programa informático Laguna ONhE es útil para detectar diferentes patrones de cambio de color en el disco óptico que se producen como consecuencia de la hipoperfusión mantenida o la atrofia óptica en pacientes con enfermedad de Alzheimer y en sujetos con fibromialgia.

El análisis de los espesores de la capa de fibras nerviosas de la retina evaluados mediante tomografía de coherencia óptica permite detectar pérdida axonal en la enfermedad de Alzheimer y en la fibromialgia.

3.2 OBJETIVOS

I. Analizar la utilidad como biomarcador del análisis de la perfusión de la cabeza del disco óptico medida mediante el análisis colorimétrico con el software Laguna ONhE en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

II. Evaluar la correlación entre el espesor de capa de fibras nerviosas de la retina medida mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral y las alteraciones detectadas en el análisis de la retinografía mediante el software Laguna ONhE en pacientes afectados de enfermedad de Alzheimer.

III. Estudiar la perfusión de la cabeza del nervio óptico mediante la medición de la hemoglobina por el análisis de retinografías utilizando el software Laguna ONhE en pacientes afectados de fibromialgia.

IV. Analizar la existencia de defectos en el espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina, medidos mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral y los defectos de perfusión, en pacientes con fibromialgia.

V. Estudiar qué sectores de la capa de fibras nerviosas de la retina se afectan en mayor medida en la enfermedad de Alzheimer y en la fibromialgia.

VI. Evaluar si hay diferente afectación axonal según el fenotipo de fibromialgia.

VII. Demostrar que la enfermedad de Alzheimer causa pérdida axonal a nivel de la capa de fibras nerviosas de la retina y disminución del espesor de la retina a nivel macular.

VIII. Demostrar la utilidad de la tomografía de coherencia óptica de dominio espectral para detectar pérdida axonal y macular en pacientes afectados de fibromialgia.

4. RELACIÓN DE PUBLICACIONES

A continuación, se incluye una breve presentación de cada trabajo justificando su unidad temática.

ARTICULO 1: Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Pinilla J, Perez-Olivan S, Larrosa JM, Polo V, Pablo L. Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: a potential new biomarker. Clin Neurol Neurosurg. 2015 May;132:68-73. doi: 10.1016/j.clineuro.2015.02.016. Epub 2015 Mar 9. PubMed PMID: 25797847.

En este estudio observacional y prospectivo de cohortes, se pretendió demostrar la existencia de diferencias significativas en el espesor de la CFNR y de la colorimetría de la cabeza del nervio óptico entre un grupo de pacientes con enfermedad de Alzheimer (EA) (56 pacientes) y un grupo control (56 sujetos).

Los participantes fueron sometidos a un examen neurooftalmológico completo que incluía el análisis de la CFNR mediante OCT Cirrus, y fotografía de la cabeza del nervio óptico con análisis colorimétrico mediante el software Laguna ONhE.

Se detectó una disminución del espesor de la CFNR en el grupo de pacientes afectados de EA, así como una disminución en los niveles de hemoglobina en el anillo neuroretiniano,

El análisis colorimétrico de la cabeza del nervio óptico mediante el software Laguna ONhE reveló una palidez del mismo debido a pérdida axonal y a alteraciones en la perfusión. La aplicación de este sencillo protocolo exploratorio se postula como un buen biomarcador de EA.

ARTICULO 2: Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Magallon R, Roca M, Garcia-Campayo J, Perez-Olivan S, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE. Study of perfusion changes in the optic disc of patients with fibromyalgia syndrome using new colorimetric analysis software. J Fr Ophtalmol. 2015 Sep;38(7):580-7. doi: 10.1016/j.jfo.2015.01.010. Epub 2015 May 11. PubMed PMID: 25976129.

El objetivo de este estudio transversal fue demostrar la existencia de alteraciones en la perfusión de la cabeza del nervio óptico correlacionadas con las alteraciones en la CFNR encontradas en la exploración mediante OCT.

Se seleccionaron 118 pacientes afectados de fibromialgia y 76 controles sanos que fueron sometidos a examen oftalmológico, incluyendo la realización de un campo visual mediante la estrategia Spark en un campímetro Easyfield y de OCT utilizando el dispositivo Spectralis. Se llevó a cabo la adquisición de una imagen del disco óptico mediante el Cirrus Photo 800 multi-modality imager y se analizaron las imágenes con el software Laguna ONhE.

El porcentaje de hemoglobina en los pacientes con fibromialgia fue significativamente menor que en los controles en todos los sectores, pero principalmente en el anillo externo, correspondiente con el anillo neuroretiniano. La correlación obtenida entre el porcentaje de hemoglobina y el espesor de la CFNR fue débil.

La perfusión del disco óptico está claramente disminuida en los pacientes afectados de fibromialgia sin tener una clara relación con la pérdida de espesor de la CFNR.

ARTICULO 3: Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, Vilades E, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. Fibromyalgia is correlated with retinal nerve fiber layer thinning. PLoS One. 2016 Sep; 11(9):e0161574. doi: 10.1371/journal.pone.0161574. eCollection 2016. PubMed PMID: 27584145; PubMed Central PMCID: PMC5008644.

Se trata de un estudio observacional de cohortes prospectivo, en el que se incluyeron 116 enfermos con fibromialgia y 144 controles sanos. El objetivo de este estudio era demostrar la existencia de daño axonal en el nervio óptico detectable mediante OCT, dado que la CFNR está atrofiada en los pacientes con fibromialgia respecto a los controles sanos.

Los sujetos incluidos en el estudio fueron sometidos a exploración de la agudeza visual, y análisis estructural de la CFNR mediante dos dispositivos diferentes de OCT (Cirrus y Spectralis). Los pacientes con fibromialgia además fueron evaluados mediante la clasificación de Giesecke´s, el test de severidad Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) y el test de afectación de la calidad de vida European Quality of Life-5 Dimensiones (EQ5D).

Se compararon las diferencias entre los pacientes con fibromialgia y los controles, y se analizó la correlación entre las medidas obtenidas mediante OCT y la duración de la enfermedad, los subgrupos de fibromialgia, la severidad de la misma y la calidad de vida.

Se detectó una disminución del espesor de CFNR significativa en el grupo de pacientes con fibromialgia respecto al grupo de controles, con ambos dispositivos OCT.

El impacto de esta disminución del espesor fue mayor en los sectores temporales en pacientes afectos de fibromialgia biológica, lo que sugiere la presencia de un proceso neurodegenerativo de fondo en estos pacientes.

ARTICULO 4: Bambo MP, Garcia-Martin E, Largos JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, Villages E, Gil-Arribas L, Pablo LE. Retinal and optic disc alterations in Alzheimer's disease: the eye as a potential central nervous system window. Journal of Alzheimers Disease & Parkinsonism 2016;6:223. doi: 10.4172/2161-0460.1000223.

Se revisa a fondo el estado actual de la investigación acerca del uso de la exploración oftalmológica como posibilidad para la valoración del sistema nervioso central, con los avances obtenidos hasta ahora en este campo.

5. METODOLOGÍA

5.1 GRUPO DE ESTUDIO DE ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

5.1.1. Sujetos a estudio

Se trata de un estudio de cohortes longitudinal prospectivo que se ha llevado a cabo de modo coordinado con la Asociación de Familiares de Enfermos de Alzheimer de Zaragoza (AFEDAZ), el servicio de Neurología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza y el servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

Se propuso la participación a todos los pacientes afectos de EA que forman parte de la Asociación de Familiares de Enfermos de Alzheimer de Zaragoza (AFEDAZ). Basándose en los datos de estudios previos, el número de sujetos que fue necesario incluir en el estudio para poder detectar diferencias mayores o iguales a 5 μm en la CFNR asumiendo un error alpha del 5% y un error beta del 10% fue de 40. Sin embargo, con el objeto de incrementar su potencia y prevenir posibles pérdidas, se evaluaron a 56 pacientes con EA.

Para el correcto diseño del estudio, se incluyeron pacientes con diferentes estadios de la enfermedad (leve, moderado o grave) y voluntarios sanos, procedentes de personal trabajador del hospital y familiares de los mismos, pareados a los casos por edad y sexo.

Se seleccionó aleatoriamente un ojo de cada sujeto para el análisis.

Todos los participantes firmaron un consentimiento informado en el que se detallaban las características del estudio y sus objetivos, así como la posibilidad de abandonarlo en el momento que lo desearan.

Todos los procedimientos cumplieron con los criterios promulgados en la Declaración de Helsinki y el protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (Anexo 1).

1. Criterios de inclusión

- Enfermedad de Alzheimer confirmada por el servicio de neurología, según los criterios de National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (Anexo 3) y Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (Anexo 3).

- Mejor agudeza visual (AV) corregida de 0,1 o mayor (optotipo de Snellen) para facilitar el seguimiento del protocolo exploratorio.

- Presión intraocular (PIO) < 21 mmHg en cada ojo para excluir la posibilidad de adelgazamiento de la CFNR por otras causas, como el glaucoma crónico simple.

2. Criterios de exclusión

- Errores refractivos significativos, mayores o iguales a 5 dioptrías de equivalente esférico y/o 3 dioptrías de astigmatismo.

- Enfermedades sistémicas que puedan afectar al sistema visual.

- Historia de trauma ocular o enfermedades oculares concomitantes, como patología corneal, retiniana, o glaucoma (PIO > 21 mmHg, excavación del nervio óptico de 0,5 o mayor o defecto arciforme en el campo visual).

5.1.2 Protocolo exploratorio

Las exploraciones fueron llevadas a cabo por los dos Servicios que forman parte del estudio, con la siguiente distribución:

a. Servicio de Neurología: Realizó una valoración neurológica del paciente y registró los siguientes parámetros:

- Tiempo de evolución.
- Edad al diagnóstico.
- Puntuación en Mini Mental State Examination (Anexo 4).
- Tratamiento que lleva o ha llevado en el pasado.
- Estadio: leve, moderado o severo según el MMSE.

b. Servicio de Oftalmología: Realizó una valoración oftalmológica del paciente registrando los siguientes datos:

- Medición de la AV visual corregida con optotipo Snellen.
- Examen del segmento anterior del ojo mediante lámpara de hendidura.
- Medición de la PIO mediante tonometría de aplanación.
- Valoración del CV de forma monocular utilizando el dispositivo Humphrey Field analyzer, modelo 750i (Zeiss Humphrey Systems, Dublin, CA), con la estrategia Swedish Interactive Threshold Algorithm (SITA) Standard 30-2.
- Evaluación de la motilidad intrínseca y extrínseca.
- Evaluaciones de los espesores de la CFNR utilizando los dispositivos OCT Cirrus y Spectralis. Estas pruebas fueron realizadas por el mismo

operador, en tres momentos dentro de la misma visita, utilizando una fijación interna determinada por el aparato.

A- ESTUDIO FUNCIONAL DE LA CFNR⁷⁹

Incluye la medición de la AV, la perimetría automatizada convencional, los test de visión cromática y los de sensibilidad al contraste.

Agudeza visual

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 (Figura 17) para determinar la inclusión de pacientes (AV de 0,1 o mayor), de forma monocular, con la mejor corrección posible del defecto de refracción si era necesario y con el paciente a 6 metros de distancia.

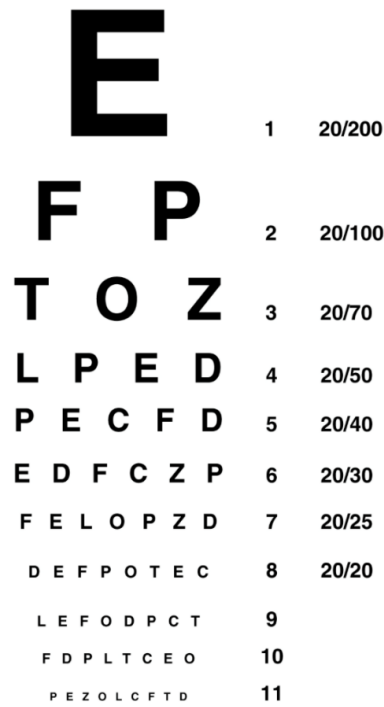


Figura 17. Optotipo de Snellen expresado en escala decimal.

Con la finalidad de evaluar la función visual de forma más precisa, estandarizada y reproducible, utilizamos también el optotipo ETDRS (Figura 18), basado en la carta logarítmica de Bailey-Lovie⁸⁰. Esta carta se basa en una progresión logarítmica con un salto de 0.10 en unidades logarítmicas entre dos líneas consecutivas, con el mismo número de optotipos para cada nivel de AV (5 optotipos por fila), seleccionados entre las 10 letras de igual legibilidad (familia de letras de Sloan: C D H K N O R S V Z, y letras de la Institución de Estandarización Británica: D E F H N P R U V Z) que se muestran separados por la anchura del optotipo dentro de la línea y la separación de cada línea corresponde a la anchura del optotipo de la línea siguiente (el tamaño decreciente de los optotipos guarda la proporción con la separación entre los optotipos y las líneas de los optotipos). Los resultados se expresan en la escala del logaritmo del mínimo ángulo de resolución (logMAR), donde el 0 equivale al 1 y el 1 equivale al 0,1 en la escala decimal, con un cambio de 0,10 unidades logarítmicas en cada salto de línea. A cada letra se le concede un valor de 0,02 unidades logarítmicas (resultado de dividir 0,10 para los

5 optotipos de cada línea) para poder cuantificar con mayor exactitud el resultado dentro de la línea donde se detiene el paciente. De esta forma se consigue mejorar la precisión y repetibilidad de las medidas de AV. Durante la exploración se midió la AV en condiciones fotópicas y mesópicas para la carta ETDRS y para dos cartas ETDRS de bajo contraste (al 2,5% y al 1,25%).

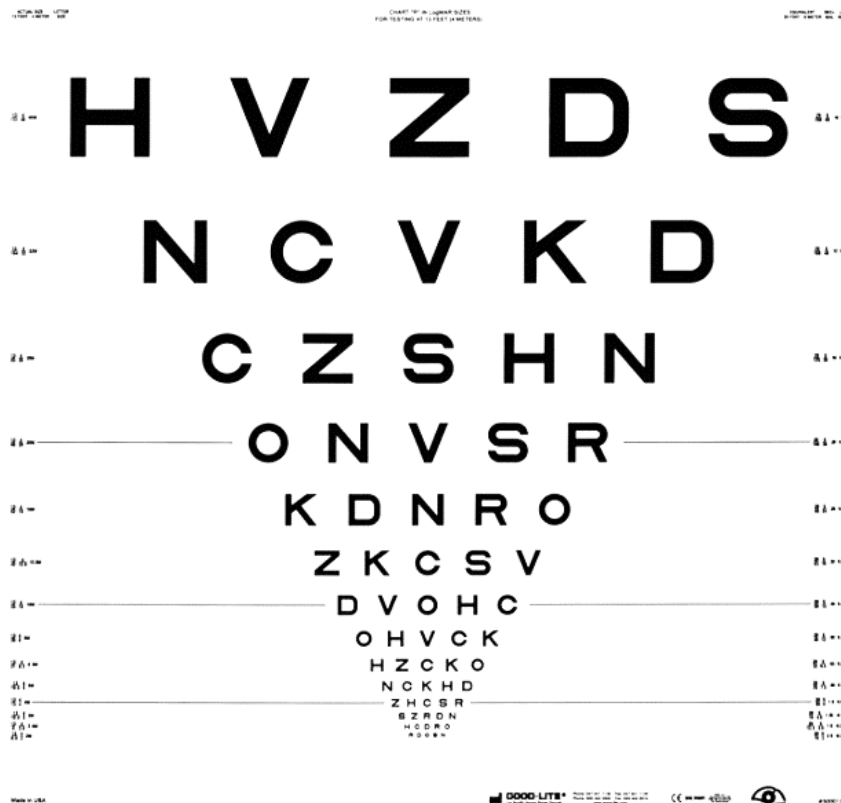


Figura 18. Optotipo ETDRS en escala logarítmica (logMAR).

Visión cromática

Las anomalías en la visión cromática pueden ser congénitas o adquiridas. En las congénitas se conservan las otras funciones visuales y los defectos son consistentes, reproducibles y simétricos. El paciente nombra los colores correctamente, ya que los ha aprendido asociándolos con los colores que ellos perciben.

Las discromatopsias adquiridas se caracterizan por ser asimétricas, inespecíficas y variables en el tiempo. Además, el paciente asocia otros déficits visuales y nombra incorrectamente los colores. Es frecuente la asociación de neuropatías a las formas adquiridas, generalmente afectando a la percepción en el eje rojo-verde del espectro y, con menor frecuencia, en el azul-amarillo cuando la afectación es más grave^{81,82}. También se han observado alteraciones adquiridas de la visión cromática en enfermedades neurodegenerativas como la EA⁸³ y la enfermedad de Parkinson⁸⁴. En la EA se ha relacionado con áreas lesionadas del córtex visual, pero también con el daño en fotorreceptores vinculado a la disminución de la melatonina, un potente antioxidante⁸⁵.

El gold standard para identificar y clasificar los defectos de la visión cromática son los anomaloscopios, basados en igualar un espectro amarillo con una mezcla de longitudes de onda rojo-verde. Por su complejidad y coste, su uso queda relegado al ámbito de la investigación.

El procedimiento más empleado para el diagnóstico son las cartas pseudoisocromáticas de Ishihara, una serie de 38 láminas en las que el sujeto debe identificar un objeto (números o líneas sinusoidales) de cierto color sobre un fondo de otro color.

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

dato. La disminución del espesor de la CFNR 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.

En 1945 se inició la era de la perimetría cinética cuantitativa con el desarrollo del perímetro de proyección hemisférica de Goldmann, que daría paso, tras el empujón tecnológico a partir de los años 70, a la PA o computarizada, que ha venido evolucionando hasta nuestros días.

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 Heijil-Krakau. Una vez obtenidos los datos los representa numéricamente y mediante una escala de grises (Figura 19).

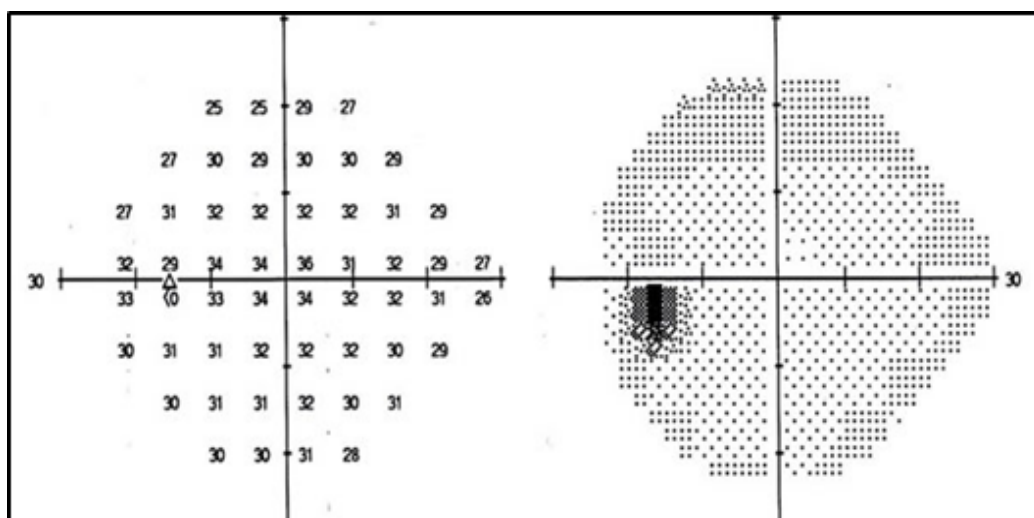


Figura 19. Representación del resultado de un CV con el ojo izquierdo

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. De todas formas, la reducción en el número de células ganglionares ha de ser importante para que sea detectable en la PA.

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 importantes. 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.

En el protocolo se realizó al menos una valoración del campo visual por ojo utilizando el dispositivo Humphrey Field analyzer, model 750i (Zeiss Humphrey Systems, Dublin, CA) (Figura 20), 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 repetía⁸⁶. Fueron excluidos los sujetos con perimetrías que no cumplían los estándares de confiabilidad o que mostraban defectos por alteraciones como accidentes cerebrovasculares, tumores, neuritis y otros diagnósticos que afectan a la vía óptica.



Figura 20. Perímetro Humphrey Visual Field Analyzer.

B- ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LA CFNR⁷⁸

El estudio estructural de la CFNR se llevó a cabo mediante técnicas de análisis digital de la imagen de la tomografía de coherencia óptica (OCT) de dominio espectral y alta definición obtenida por dos aparatos distintos: el Cirrus OCT (Cirrus HD -High Definition- OCT; Carl Zeiss, Dublin, California, Estados Unidos) y el Spectralis OCT (Heidelberg, Heidelberg Engineering, Alemania).

Cirrus OCT (Figura 21)



Figura 21. Dispositivo de OCT Cirrus (Carl Zeiss Meditec, Inc., Dublin, CA, USA)

En nuestro estudio se utilizaron los siguientes protocolos de adquisición y análisis:

- **Macular Cube 200 x 200:** escanea un área de 6 x 6 mm con 200 líneas (B-Scans) de 200 A-Scans cada una, excepto las líneas centrales horizontal y vertical que constan de 1000 A-Scans cada una. Este protocolo permite el análisis del volumen y espesor de la mácula, y genera un informe numérico de los espesores maculares comprendidos en un área central circular dividida en los nueve sectores definidos en el Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) (Figura 22). Consta de tres círculos concéntricos con diámetros de 1, 3 y 6 mm. Excepto en el círculo central que corresponde a la fóvea, se dividen en cuadrantes superior, nasal, inferior y temporal. El número contenido en cada sector informa del promedio del espesor. Los parámetros recogidos en nuestro estudio fueron el espesor medio y el volumen macular total calculado en el anillo de 6 mm de diámetro.

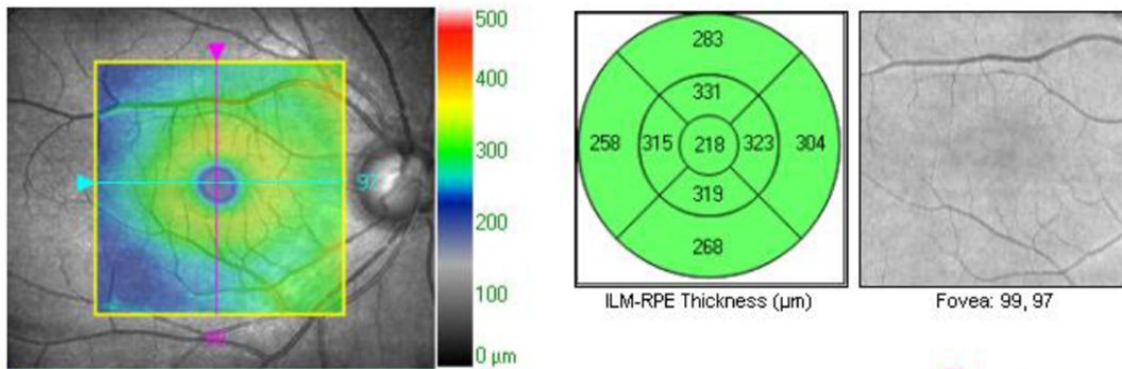


Figura 22. Representación de los nueve sectores ETDRS del cubo macular en el Cirrus OCT.

- **Optic Disc Cube 200 x 200:** escanea un área de 6 x 6 mm, capturando un cubo de datos de 200 x 200 barridos (40000 puntos) en 1,5 segundos y una resolución axial de 5 μ , El aparato identifica automáticamente el centro de la papila gracias a la identificación de la banda de hiperreflectividad correspondiente al epitelio pigmentario de la retina (EPR). Para identificar los límites de la CFNR, segmenta la imagen desde la interfase vitreoretiniana (límite interno) al área de baja reflectividad más interna que corresponde a la capa de células ganglionares (límite externo). De esta forma es capaz de generar un mapa de los espesores de la CFNR dentro de los 6 x 6 mm² de la región peripapilar. También se representan de forma numérica el espesor medio, los espesores por cuadrantes (superior, inferior, temporal y nasal) y los 12 sectores horarios, que fueron los parámetros analizados en nuestro estudio. (Figura 23).

	OD	OS
Average RNFL Thickness	99 μm	96 μm
RNFL Symmetry	84%	
Rim Area	1.34 mm^2	1.32 mm^2
Disc Area	2.88 mm^2	2.09 mm^2
Average C/D Ratio	0.72	0.60
Vertical C/D Ratio	0.69	0.54
Cup Volume	0.312 mm^3	0.150 mm^3

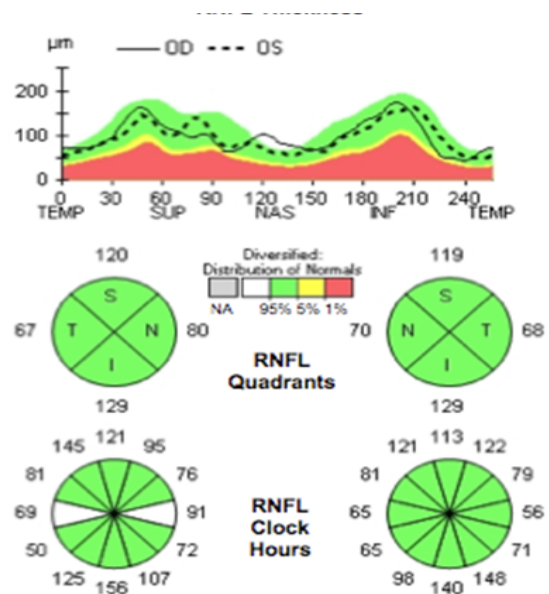


Figura 23. Imágenes extraídas del informe del Cirrus OCT (tomografía de coherencia óptica) correspondiente al análisis de la capa de fibras nerviosas de la retina peripapilar. A la izquierda se aprecia la tabla con distintos valores como espesor medio, área de disco y anillo o el volumen de la excavación entre otros. A la derecha se representan los espesores de forma gráfica, con la escala cromática y con los diagramas por cuadrantes y sectores.

Spectralis OCT (Figura 24)



Figura 24. Dispositivo de OCT Spectralis (Heidelberg Engineering, Inc., Heidelberg, Germany).

Es un instrumento formado por la combinación de un oftalmoscopio láser confocal y un OCT de dominio espectral con un sistema de fijación ocular láser. La resolución axial es de 7 y 4 tras el tratamiento digital de las imágenes (Heidelberg Noise Reduction™). Cuenta con un sistema de “eye tracking” activo que consiste en un sistema de guiado por rayo láser que toma el fondo como referencia y guía el segundo rayo a la posición precisa de escaneado, permitiendo un alineamiento

constante del OCT para realizar un mayor número de capturas (B-Scan) y obtener mejores resultados en la imagen final. Además, el sistema conserva esta alineación (AutoRescan) para escanear de forma precisa las mismas áreas a lo largo de diferentes exploraciones. Estas características se traducen en una alta repetibilidad y reproducibilidad.

En nuestro estudio se utilizaron los siguientes protocolos de adquisición y análisis:

- **Protocolo RNFL (retinal nerve fiber layer) de la aplicación clásica de glaucoma:** sistema de rastreo circular peripapilar para el análisis de la CFNR utilizando el sistema de alineamiento fóvea-disco (FoDi®) para evitar la variabilidad producida por los cambios en la posición de la cabeza y el ojo. El barrido se inicia y termina en el sector temporal, por lo que las mediciones más fiables y reproducibles corresponden al sector nasal. Como parámetros a registrar en nuestro estudio tomamos el mapa con los valores numéricos generado por el escaneo. Éste contiene el espesor medio y el espesor en seis cuadrantes (superonasal, nasal, inferonasal, inferotemporal, temporal y superotemporal). Además, se genera una base de datos con todas las mediciones de los espesores de la CFNR con un total de 768 puntos registrados durante el escaneo (figura 25).

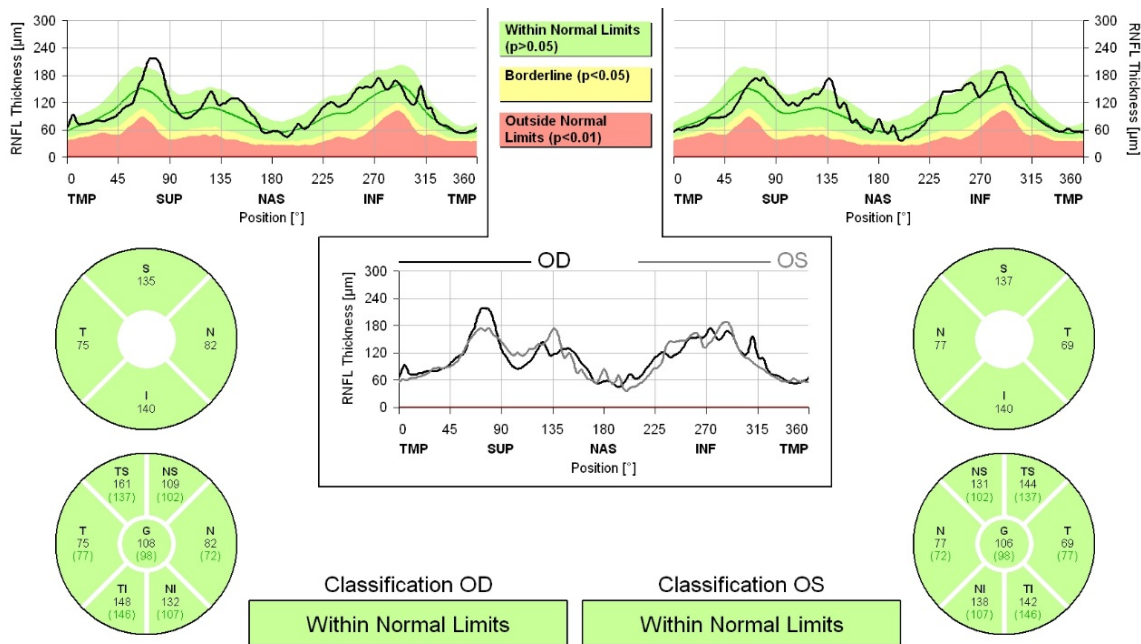


Figura 25. Presentación del informe con el análisis del protocolo RNFL de la aplicación clásica glaucoma del Spectralis OCT. De arriba abajo, el gráfico NITSN con la escala cromática, el diagrama de cuadrantes y el diagrama de sectores horarios. La figura central compara la simetría en los gráficos NITSN.

– Protocolo RNFL-N de la aplicación axonal: (Figura 26) aportó los

mismos parámetros (espesor medio y 6 cuadrantes) que la aplicación clásica de glaucoma, pero a diferencia de ésta, el barrido circular peripapilar se inicia y termina en el sector nasal para obtener medidas más precisas en el sector temporal, que es el primer sector afectado en las enfermedades neurodegenerativas. También aportó:

- El espesor medio del haz papilomacular (PMB), que corresponde con la sección del cuadrante temporal entre -22° y $+8^\circ$, y evalúa el espesor de las fibras que van del nervio óptico a la mácula.
- El índice N/T (sector nasal dividido por sector temporal) indica la diferencia entre sectores. Una disminución de este índice revela que el sector temporal está siendo dañado en mayor medida que el sector nasal, algo habitual en las fases incipientes de las patologías neurodegenerativas.

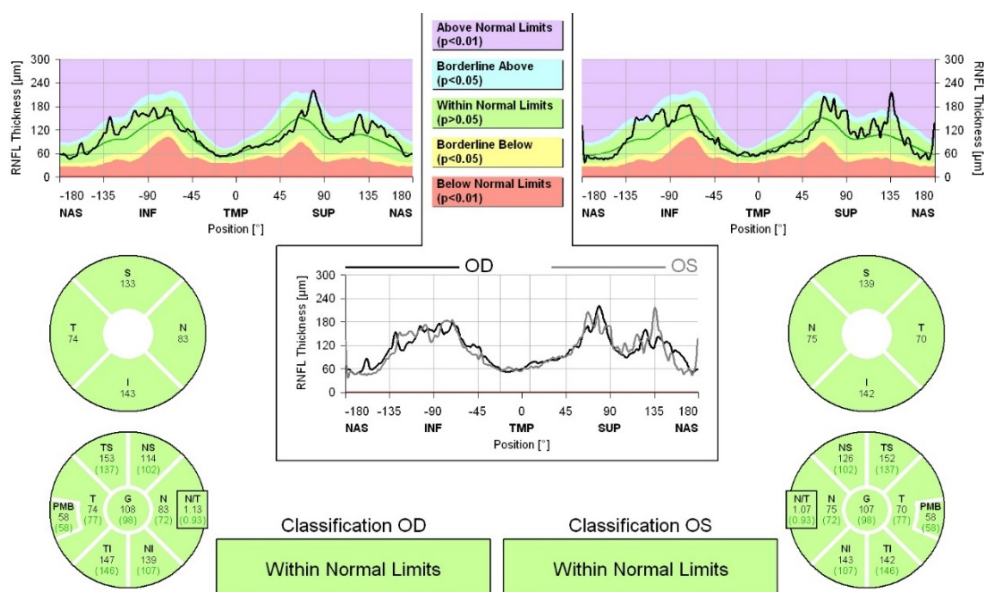


Figura 26. Presentación del informe con el análisis del protocolo RNFL-N de la aplicación axonal del Spectralis OCT. De arriba abajo, el gráfico NITSN con la escala cromática, el diagrama de cuadrantes y el diagrama de sectores horarios que incluye el índice N/T (nasal/temporal) y el espesor medio del haz papilomacular (PMB). La figura central compara la simetría en los gráficos NITSN.

C- ANÁLISIS COLORIMÉTRICO DE LA CABEZA DEL NERVIÓ ÓPTICO

Se llevó a cabo la adquisición de fotografías mediante retinógrafo Canon CF 60 DSi (Canon Incorporation, Tokio, Japan) conectado a una cámara Canon EOS 1DS Mark III o bien con el dispositivo Cirrus™ photo 800 multi-modality imagen (Carl Zeiss Meditec Incorporation, Dublin). Las retinografías se procesarán mediante el software semi-automático Laguna ONhE (*optic nerve hemoglobin*).

El software Laguna ONhE analiza 3 componentes espectrales de las fotografías del disco óptico: azul, verde y rojo. Las áreas del disco óptico con elevado contenido de hemoglobina reflejan fundamentalmente luz roja. Por el contrario, las áreas con bajo contenido de hemoglobina reflejan una baja proporción de luz roja en comparación con la azul y la verde. El programa Laguna ONhE utiliza algoritmos matemáticos para, de manera semiautomática, delimitar el borde del disco óptico y diferenciar los vasos centrales de la retina del resto del tejido. El resultado obtenido en los vasos centrales se usa como valor de referencia para calcular el contenido de hemoglobina en el resto del

disco óptico. La influencia de la variación en la opacidad del cristalino en cada sujeto, es compensada analizando las diferencias entre los componentes verde y azul previamente al cálculo de la cantidad de hemoglobina. La papila es dividida automáticamente en 8 sectores radiales y 2 anillos concéntricos, que dan lugar a un total de 24 sectores, de los cuales se proporciona una tabla formato Excell con los valores en porcentaje de hemoglobina en cada uno de ellos, junto con el porcentaje de hemoglobina total (figura 16).

Con el programa Laguna OHhE, se procesaron todas las imágenes seleccionadas, se compararon los resultados obtenidos entre sujetos sanos, y se analizaron los patrones obtenidos en cada caso.

5.1.3. Análisis estadístico

Todas las variables mencionadas fueron registradas en una base de datos elaborada con el programa FileMaker Pro 8.5 (FileMaker Inc., Santa Clara, CA).

Para los análisis estadísticos se utilizaron los programas SPSS versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, United States) y MedCalc (versión 9.6.4.0; MedCalc Software, Mariakerke, Belgium). Previamente al análisis de los datos, se comprobó su ajuste a la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Un nivel de $p < 0,05$ fue considerado significativo para todos los análisis estadísticos.

5.2 GRUPO DE ESTUDIO DE FIBROMIALGIA

5.2.1. Sujetos a estudio

Se incluyeron 118 pacientes afectados de fibromialgia y 76 controles sanos. Se llevó a cabo el análisis en 388 ojos, 236 de pacientes que padecían fibromialgia y 152 de sujetos sanos. Los controles fueron pareados por edad y sexo con los pacientes, y no demostraron diferencias significativas entre los dos

grupos en cuanto a edad ($p=0,550$) y sexo ($0,223$). La edad media en el grupo de pacientes fue de $52,90\pm 11,98$ años y en el grupo de controles de $52,09\pm 8,80$ años. Respecto a la distribución por sexos, el grupo de pacientes estaba compuesto por un 96,6% de mujeres y un 3,4% de varones; mientras que el 96% eran mujeres y el 3,9% varones en el grupo control.

Los pacientes a estudio fueron derivados por el servicio de psiquiatría del Hospital Universitario "Miguel Servet", tras haberles sido entregado el consentimiento informado por escrito aprobado por el Comité de Ética y Ensayos Clínicos de dicho hospital (ver anexo 2).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cumplir los criterios diagnósticos de fibromialgia:
 - o Historia de dolor generalizado
 - o Presencia de dolor a la palpación en al menos 11 de los 18 puntos sensibles definidos, siendo confirmado por un reumatólogo y un psiquiatra, con un tiempo de evolución de la menos un año.
 - o Diagnóstico definitivo realizado por un psiquiatra especializado en esta patología del servicio de psiquiatría del Hospital Universitario Miguel Servet de Zaragoza.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Presencia de errores refractivos significativos (presencia de más de 5 dioptrías de equivalente esférico o de más de 3 dioptrías de astigmatismo).
- Presencia de presión intraocular de 21 mm Hg o mayor medido mediante tonómetro de aplanamiento de Goldman.

- Presencia de opacidad de medios oculares (catarata; medida utilizando la escala LOCS 3) o condiciones sistémicas que puedan afectar al sistema visual.
 - Historia de traumatismo ocular.
 - Enfermedades oculares concomitantes (incluyendo patología retiniana, glaucoma, terapia láser, patología corneal, cristaliniiana o que afecte al nervio óptico).
 - Presencia de alteraciones neurooftalmológicas.
 - Pacientes cuya situación general no permitiera el correcto desarrollo del protocolo exploratorio.
- **5.2.2 Protocolo de estudio**

Las exploraciones que constituyen el protocolo exploratorio fueron llevadas a cabo por los diferentes Servicios que forman parte del estudio, de modo que la distribución fue la siguiente:

1. Servicio de Psiquiatría del Hospital Universitario Miguel Servet: Realizó una

valoración del paciente y registró los siguientes parámetros:

- Tiempo de evolución.
- Edad al diagnóstico.
- Cuestionario sobre el impacto del SFM FIQ (fibromyalgia impact questionnaire) (Anexo 6)
- Escala de severidad o intensidad de Fatiga (FSS) (Anexo 5)
- Escala de impacto de fatiga (FIS) (Anexo 7)
- Tratamiento que llevaba o había llevado el paciente en el pasado.

1. Servicio de Oftalmología del Hospital Universitario Miguel Servet: Realizó

la exploración oftalmológica que incluía las siguientes pruebas:

- Agudeza visual con test de Snellen y graduación del defecto de refracción si lo precisaba. Se realizó previo a la exploración, y para descartar aquellos pacientes que pudieran presentar algún criterio de exclusión en lo referente a los defectos refractivos.
- Examen del polo anterior y evaluación de la opacidad de cristalino según la escala LOCS-3, empleado para descartar aquellos pacientes que presentaban opacidad de medios oculares.
- Presión intraocular: empleando el tonómetro de aplanamiento de Goldman y los mm de Hg como unidad de medida. Se empleó para detectar los sujetos con valores de presión intraocular mayores o iguales a 21 mm Hg (uno de los criterios de exclusión del estudio).
- Agudeza visual con tests ETDRS, que fue realizada en visión lejana, monocular y binocular y con corrección bajo condiciones de iluminación mesópicas (5cd/m^2), con las láminas de contrastes variables ETDRS, en las que en cada línea hay el mismo número de letras, separadas por la misma distancia (Figura 17). Se mide en la escala LogMar. Se utilizaron tres contrastes en este estudio: al 100%, al 2,5%, y al 1,25%.
- Tomografía de coherencia óptica (OCT Cirrus, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA), realizando la adquisición de datos mediante el protocolo de análisis de capa de células ganglionares de la retina. Este protocolo se basa en la obtención de los datos a nivel macular para la posterior segmentación en capas, para la determinación del espesor de la capa de células ganglionares. Dado que el 30-50% de las células ganglionares se

encuentran en el área macular y que la variabilidad en la densidad foveal es menor que en la retina periférica, se emplea el protocolo de adquisición de datos de cubo macular, obteniéndose mediciones del espesor medio, del espesor de los sectores (nasal, nasal superior, nasal inferior, temporal inferior, temporal, temporal superior), el espesor de la capa plexiforme interna y el espesor foveal.

- Tomografía de coherencia óptica (OCT Spectralis, Heidelberg, Alemania), realizando la adquisición de datos mediante el protocolo de análisis de capa de fibras nerviosas de la retina, glaucoma y axonal.

5.2.3. Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos con todas las variables recogidas en los sujetos sanos y en los pacientes afectados de fibromialgia, que se analizó estadísticamente mediante el programa SPSS v 20.0 (SPSS Inc., Chicago, United States).

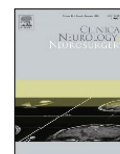
Previamente al análisis de los datos se comprobó su ajuste a la normalidad mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

Se trató de un estudio en que la variable independiente era “padecer fibromialgia o no padecerla” y las variables dependientes eran los parámetros proporcionados por las diferentes técnicas diagnósticas incluidas en el protocolo. Las variables modificadoras del efecto incluidas en el estudio fueron la edad, el sexo y las cifras de presión intraocular.

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 $p < 0,050$ fue considerado significativo para todos los análisis estadísticos.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: A potential new biomarker



Maria P. Bambo^a, Elena Garcia-Martin^{a,b,*}, Fernando Gutierrez-Ruiz^a, Juan Pinilla^a, Susana Perez-Olivan^{a,b}, Jose M. Larrosa^{a,b}, Vicente Polo^{a,b}, Luis Pablo^{a,b}

^a Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

^b Aragonese Institute of Health Sciences, Zaragoza, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 August 2014

Received in revised form 16 January 2015

Accepted 28 February 2015

Available online 9 March 2015

Keywords:

Alzheimer's disease

Hemoglobin

Optic coherence tomography

Optic disk

Retinal nerve fiber layer

ABSTRACT

Purpose: In the present study, we evaluated changes in the retinal nerve fiber layer (RNFL) and optic disk color (i.e., the level of paleness as an indirect sign of axonal loss) in patients with Alzheimer's disease (AD) compared with healthy controls. The usefulness of this method as a new biomarker for AD was also evaluated.

Methods: Fifty-six patients with mild or moderate AD and 56 sex- and age-matched healthy subjects were included in this cross-sectional study. All subjects underwent a complete neuro-ophthalmologic examination, including analysis of the RNFL thickness with Cirrus optical coherence tomography (OCT). One photograph of the optic disk was obtained using a Canon CF 60 DSI retinograph, and new colorimetric analysis software (Laguna ONhE) was used to detect color changes in the photographs based on hemoglobin (Hb) values as reference pigment.

Results: Mean Hb percentage and Hb content in the outer ring, which corresponds with the neuroretinal rim, calculated by the Laguna ONhE program were significantly lower in AD patients than in healthy controls ($P < 0.005$). OCT measurements revealed that the mean RNFL thickness was significantly decreased in AD patients compared with healthy controls ($P < 0.003$).

Conclusion: Analysis of the optic disk color assessed by Laguna ONhE software revealed papillary paleness due to axonal loss and perfusion alterations, even in the early stages of AD. Application of this simple method in routine clinical practice may provide a good biomarker of AD.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disorder, and its prevalence is increasing due to the aging of the general population. Scientific interest in this form of dementia continues to increase, and intense efforts have focused on the discovery of new biomarkers because of frequent delays in the diagnosis using currently available diagnostic methods. Visual symptoms are often among the earliest complaints of patients with AD and have been reported for more than 40 years, but they were initially considered to be of strictly cortical origin. In the last 20 years, some studies have described pathologic changes in the retina and optic nerve [1,2] that could appear during the preclinical stages of AD.

Optical coherence tomography (OCT) reveals thinning of the retinal nerve fiber layer (RNFL) [3,4] and central retina [5] in AD patients compared with healthy subjects. The RNFL comprises axons originating in retinal ganglion cells that eventually form the optic nerve, namely, the first neurons of the visual pathway. In animal models of AD and age-related macular degeneration, extracellular deposits of amyloid beta are a common pathologic feature [6]. The ability to observe microcirculation using a noninvasive technique such as fundus examination [7] makes the retina and optic nerve head a focus for potential biomarkers of AD.

Axonal loss in the optic nerve is also observed as a progressive pallor by fundus examination with an ophthalmoscope. The human eye, however, cannot quantify axonal loss or detect early axonal loss unless more than 50% of nerve fibers are lost. The Laguna ONhE (optic nerve head hemoglobin) program is a new software program designed by a group of ophthalmologists and engineers that allows for the measurement of hemoglobin (Hb) levels at the optic nerve head using conventional fundus color photographs that compensate for different variables, such as illumination or lens

* Corresponding author at: C/ Padre Arrupe, Consultas Externas de Oftalmología, 50009 Zaragoza, Spain. Tel.: +34 976 76 55 58.
E-mail address: egmvivax@yahoo.com (E. Garcia-Martin).

absorption and diffusion. Use of Laguna ONhE for early diagnosis of glaucomatous optic neuropathy has demonstrated high precision and reproducibility compared with the classic functional and structural tests used in glaucoma [8]. This new technology is easy to implement in routine clinical practice because it requires only a good photograph of the optic nerve head, and it has also proved useful for analyzing axonal loss in neuro-ophthalmologic patients, such as those with multiple sclerosis (MS) [9] or Parkinson's disease [10].

The aim of this study was to investigate changes in the RNFL as assessed by a high definition OCT in patients with AD, and to perform a colorimetric analysis of the optic disk in patients with AD by utilizing the Laguna ONhE program.

2. Materials and methods

The study design followed the Declaration of Helsinki Principles and the study protocol was approved by the Clinical Research Ethics Committee of Aragon (Zaragoza, Spain). Informed written consent was obtained from all participants.

2.1. Subjects and measurement protocol

Required inclusion criteria were: best-corrected visual acuity (BCVA) of 20/40 or better, refractive error within ± 5.00 diopters equivalent sphere and ± 2.00 diopters astigmatism, and transparent ocular media (nuclear color/opalescence, cortical or posterior subcapsular lens opacity < 1), according to the Lens Opacities Classification System III system [11]. Exclusion criteria included previous intraocular surgery, diabetes, or other diseases affecting the visual field or neurologic system, and current use of medications that could affect visual function. We also included as exclusion criteria glaucoma signs (applanation intraocular pressure over 20 mm Hg, previous intraocular surgery, cup-to-disk ratio of 0.5 or higher, or arcuate nerve fiber bundle visual field defects). Some studies have found a significantly high rate of occurrence of glaucoma among patients with AD, so it is important to avoid this possible bias [12,13].

Fifty-six patients with mild or moderate AD and 56 sex- and age-matched healthy subjects were included in the study from September 2012 through December 2013. Diagnosis of AD was determined by neurologists according to the National Institute of Neurologic and Communicative Disorders and Stroke-Alzheimer's Disease and Related Disorders Association [14] and the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM IV) criteria [15]. Twelve patients with severe dementia were not included due to their inability to complete an ophthalmologic examination and to provide reliable test results. Each subject underwent the Mini Mental State Examination [16], a practical method for grading cognitive state. The MMSE is a 10-min bedside measure of impaired thinking in underdeveloped, uneducated, diseased, or very old populations. The summed score of the individual items indicates the severity of cognitive impairment. Deterioration in cognition is indicated by decreasing scores of repeated tests over time. The items on the MMSE include tests of orientation, registration, recall, calculation, attention, naming, repetition, comprehension, reading, writing, and drawing. A score of 30 indicates 100% correct. The mean score for a community-dwelling population over 65 years old is about 27. Patients with AD lose 3–4 points per year of illness after the onset of memory disturbance, although there is wide variability [17].

All subjects underwent a complete neuro-ophthalmologic examination, including assessment of BCVA; color vision evaluation (using Ishihara's isochromatic charts); eye movement; pupillary, anterior segment, and fundoscopic examinations;

Goldmann applanation tonometry; and OCT examinations using the Cirrus HD OCT (Carl Zeiss Meditec, Dublin). One photograph of the optic disk was obtained using a Canon CF 60 DSI retinograph (Canon Incorporation, Tokyo, Japan) connected to a Canon EOS 1DS Mark III body camera. Each eye was considered separately and only one eye of each subject was randomly included in the analyses.

2.2. OCT evaluation

OCT scans were performed to obtain measurements of the peripapillary RNFL. The same experienced operator performed all scans. No manual correction was applied to the OCT output. Scan quality was assessed before the analysis, and poor-quality scans were rejected.

The Cirrus OCT optic disk protocol generates 200×200 voxel images from 200 linear scans that are performed by 200A-scans. This option analyzes a 6-mm cube around the optic nerve. In each series of scans, mean RNFL thickness, quadrant RNFL thickness (superior, inferior, temporal, and nasal), and thickness at the 12 clock hours of 30° RNFL were analyzed. The hour sectors were assigned a number from position H1 to H12 in the clockwise direction for the right eye, and in the counter-clockwise direction for the left eye.

2.3. Optic disk photograph evaluation

The Laguna ONhE program (Insoft SL, Tenerife, Spain) analyzed three spectral components of optic nerve head photographs: blue, green, and red. Red light is mainly reflected by optic nerve head areas with high Hb levels and in contrast, areas with a low Hb component reflect a lower proportion of the red component compared to the green and blue components [8]. The Laguna ONhE software uses mathematical algorithms for automatic component segmentation to perform a semiautomatic delimitation of the optic nerve head border and to identify the central retinal vessels. The program uses the amount of Hb in the central retinal vessels (i.e., the red color of these vessels) as a reference, and establishes different Hb concentrations in each of the 24 sectors in which the software divides the papilla image (Fig. 1A). The software grades the level of paleness of the different sectors in the optic disk and consequently the decreased in the microvascularization and the extent of ganglion cell axon loss that has occurred.

There are several factors that hinder the automatic analysis of the optic nerve head images: lighting issues, type of camera used, saturation level of the images, patient cooperation, etc. For this reason, the program has a pre-processing system of the images that prepares and improves retinal images for the subsequent segmentation stage. This pre-processing system prevents continued analysis of photographs that meet certain luminance and saturation criteria, and in turn, allows for the use of images from different cameras. Finally, the influence of the lens status was compensated for by analyzing the differences between the green and blue components before calculating the Hb content.

2.4. Statistical analysis

This was an observational, prospective cross-sectional study. All data analyses were performed using SPSS software version 20.0 (SPSS Incorporation, Chicago, IL) statistical software. The Kolmogorov–Smirnov test was used to assess sample distribution. Given the parametric distribution of the data, the OCT and Hb parameters between the healthy and AD groups were compared using Student's *t*-test with Bonferroni's correction for multiple comparisons. Correlations were examined by Pearson's test.

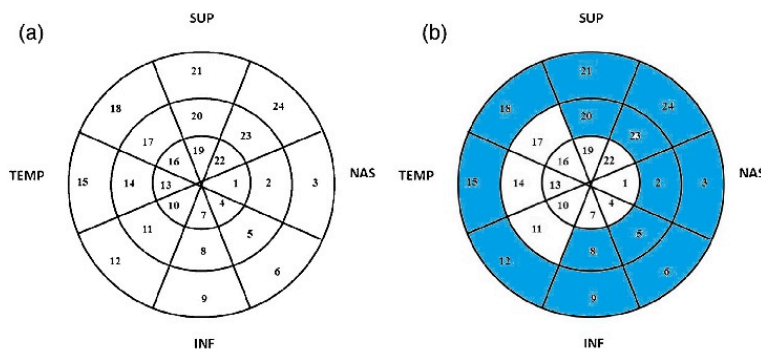


Fig. 1. (A) Representation of the automatized division of the optic disk image performed by the Laguna ONhE (optic nerve head hemoglobin) device into eight 45° radial sectors, and two concentric rings at 1/3 and 2/3 of the disk radius. The Laguna ONhE program analyzes the amount of hemoglobin in each of the resulting 24 sectors and the mean hemoglobin. (B) In blue, sectors of the papilla with significant differences between patients with Alzheimer's disease and healthy subjects. The majority of these sectors correspond with the outer ring of the papilla (i.e., the neuroretinal rim). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

3. Results

Epidemiologic and disease characteristics of patients with AD and healthy subjects are shown in Table 1. Mean age was 74.0 ± 8.1 years in the AD patient group and 76.4 ± 8.4 years in the healthy control group. The groups were not significantly different with respect to age, sex, or intraocular pressure (P = 0.784; 0.789, and 0.08 respectively). Duration of AD ranged from 2 to 7 years, with a mean of 3.74 years since diagnosis. BCVA was significantly different between groups, but we attach no significance to this finding because, based on our observations of the patients, the reduced visual acuity in some patients was due to memory impairments.

Mean Hb percentage and Hb content in sectors 2, 3, 5, 6, 8, 9, 12, 15, 18, 20, 21, 23, and 24 (which correspond to the outer ring of papilla as Fig. 1B shows) calculated by the Laguna ONhE program were significantly lower in the AD group than in the healthy control group (T-test, P's < 0.05; Table 2). Fig. 2 shows, as an example, the morphology of the papilla and the corresponding pseudo-images indicating the Hb levels provided by Laguna ONhE analysis in a healthy control and a patient with AD.

RNFL measurements evaluated in the study and the significance of the difference between healthy and AD groups are shown in Table 3. Cirrus OCT measurements revealed that RNFL mean thickness was significantly decreased in AD patients compared with healthy controls (P < 0.003). The other OCT parameters were lower in the AD group comparing with healthy subjects. Correlations between RNFL thickness and Hb parameters were slight and not statistically significant in either group. Correlations between Hb levels and disease severity (assessed by MMSE score) were also slight and not statistically significant in AD group.

Table 2

Mean (standard deviation) of hemoglobin percentage based on analysis of optic disk photographs with the Laguna ONhE program (optic nerve head hemoglobin) of patients with Alzheimer's disease and healthy subjects, and statistical significance (p).

	Healthy subjects	Patients with AD	P [*]
Mean Hb	64.9 (10.1)	58.1 (13.5)	0.003
Hb 1	74.5 (15.2)	68.2 (15.9)	0.034
Hb 2	74.3 (13.4)	65.9 (16.1)	0.003
Hb 3	67.7 (11.1)	60.1 (14.9)	0.003
Hb 4	70.6 (14.8)	64.6 (16.1)	0.041
Hb 5	74.2 (12.4)	65.9 (16.3)	0.003
Hb 6	67.8 (11.4)	60.2 (14.5)	0.003
Hb 7	62.2 (16.3)	57.7 (18.8)	0.190
Hb 8	70.1 (10.4)	61.3 (17.1)	0.001[†]
Hb 9	68.3 (10.0)	60.2 (14.6)	0.001[†]
Hb 10	53.9 (16.7)	49.2 (19.4)	0.168
Hb 11	55.2 (12.6)	50.1 (17.3)	0.077
Hb 12	59.1 (11.6)	51.1 (14.2)	0.001[†]
Hb 13	53.4 (17.3)	47.6 (19.3)	0.095
Hb 14	50.0 (13.4)	48.1 (17.1)	0.507
Hb 15	55.0 (12.6)	47.7 (14.6)	0.006
Hb 16	57.4 (19.9)	52.2 (18.6)	0.159
Hb 17	57.7 (13.8)	56.3 (16.8)	0.412
Hb 18	64.3 (11.4)	55.8 (14.0)	0.001[†]
Hb 19	64.5 (18.7)	60.3 (17.9)	0.224
Hb 20	73.5 (12.3)	67.4 (15.9)	0.027
Hb 21	73.7 (10.7)	66.9 (14.6)	0.006
Hb 22	72.4 (16.4)	68.2 (17.3)	0.190
Hb 23	80.2 (12.1)	72.5 (15.8)	0.005
Hb 24	73.9 (11.4)	66.9 (14.9)	0.007

Abbreviations: AD, Alzheimer disease; Hb, hemoglobin.

Bold values are statistically significant (p < 0.05).

^{*} Significant difference (P < 0.05) in Student's t test between healthy subjects and AD patients.

^{††} Significant difference (P < 0.002) in Student's t test with Bonferroni's correction for multiple comparisons between healthy subjects and patients with AD.

Table 1
Epidemiologic and disease characteristics of patients with Alzheimer's disease and healthy subjects.

	Healthy subjects (n: 56)	Patients with AD (n: 56)	P [*]
Age (years) [mean (SD)]	76.4 (8.4)	74.0 (8.1)	0.784
Women:Men (% women)	33:23 (58.93%)	32:24 (57.14%)	0.789
BCVA (Snellen scale) [mean (SD)]	0.85 (0.15)	0.76 (0.35)	0.001
Intraocular pressure [mean (SD)]	16.2 (4.3)	15.50 (3.4)	0.080
Disease duration (years) [mean (SD)]	–	3.74 (2.29)	–
MMSE score [mean (range)]	–	16.56 (14–19)	–

Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; SD, standard deviation; BCVA, best corrected visual acuity; MMSE, Mini Mental State Examination; n, number.

^{*} Statistical difference between healthy subjects and patients with Alzheimer's disease for each parameter.

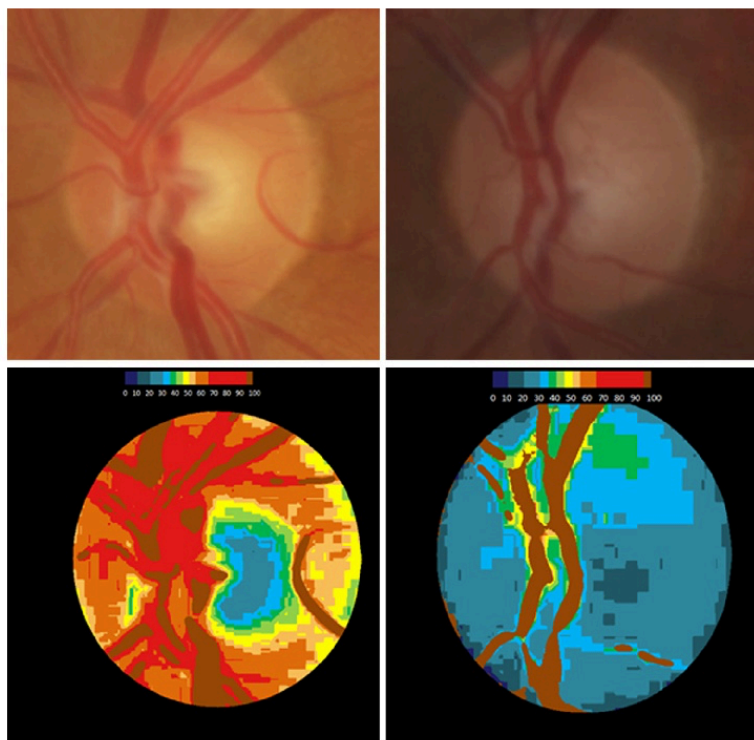


Fig. 2. Representative image of the left papilla in a healthy subject (left column) and a patient with Alzheimer's disease (right column). Upper images show color fundus photographs of the optic discs, and lower images show the corresponding pseudo-images representing the amount of hemoglobin. The papilla is paler in the patient with Alzheimer's disease than in the healthy subject. Laguna ONhE software quantified this paleness by assigning a color scale according to the percentage of hemoglobin (lower hemoglobin percentages appear in blues and higher hemoglobin percentages appear in reds).

Table 3

Mean (standard deviation) of retinal nerve fiber layer thicknesses obtained with the Cirrus optical coherence tomography device in healthy controls and patients with Alzheimer's disease.

	Parameters	Healthy controls	Patients with AD	<i>P</i> ^a
RNFL Cirrus measurements	Mean thickness	100.9 (11.7)	89.4 (10.4)	0.002
	Superior quadrant	227.6 (24.4)	109.4 (17.9)	0.042
	Nasal quadrant	82.1 (10.8)	70.1 (13.2)	0.004
	Inferior quadrant	129.9 (24.8)	117.1 (15.8)	0.033
	Temporal quadrant	64.2 (15.2)	60.9 (8.3)	0.318
	Sector 1	115.3 (21.1)	98.7 (26.1)	0.043
	Sector 2	103.0 (17.7)	84.4 (23.5)	0.012
	Sector 3	67.2 (10.4)	58.3 (10.8)	0.012
	Sector 4	76.5 (15.5)	68.3 (13.7)	0.076
	Sector 5	111.5 (30.9)	99.3 (22.3)	0.124
	Sector 6	142.3 (36.7)	128.1 (25.3)	0.121
	Sector 7	135.5 (26.0)	122.6 (22.3)	0.089
	Sector 8	66.2 (16.8)	65.8 (17.7)	0.943
	Sector 9	50.1 (12.9)	49.3 (5.6)	0.747
Sector 10	76.1 (20.4)	68.9 (11.3)	0.113	
Sector 11	130.8 (25.5)	116.6 (21.2)	0.051	
Sector 12	128.4 (40.8)	112.4 (26.7)	0.109	

Abbreviations: RNFL, retinal nerve fiber layer; AD, Alzheimer disease.

Bold values are statistically significant ($p < 0.05$).

^a Significant difference ($P < 0.003$) in Student's *t* test with Bonferroni's correction for multiple comparisons between healthy subjects and patients with AD.

4. Conclusions

The findings of the present study indicate that the retina and optic nerve are useful biomarkers of AD. Patients with AD exhibit histopathologic evidence of retinal ganglion cell loss and optic nerve degeneration [18,19]. Several studies using digital imaging technology such as OCT have demonstrated changes in the RNFL and central retinal thickness in AD patients. Significant thinning of the RNFL has been reported in the superior quadrant [3] and inferior quadrant [4]. Based on confirmed findings in an animal model [20], a recent study used spectral domain OCT and enhanced depth imaging techniques to assess choroidal thickness in patients with AD and to determine whether choroidal thickness is reduced compared to normal subjects [5]. In the present study, we observed that RNFL assessed by Cirrus OCT was thinner in AD patients, but only differences in the mean thickness value were significant. This finding could indicate that OCT evidenced changes in AD patients, but we could not distinguish these changes from those due to retinal aging. The lack of consistency between the results, however, could be accounted for by the small sample size, exclusion of patients with advanced dementia, or technical difficulties in performing the tests (poor cooperation, lens opacities, etc.).

Cerebral microcirculation has been widely evaluated in AD. Although cerebral small-vessel disease is implicated in the development and progression of AD [21], cerebral microcirculation is difficult to visualize directly in vivo. The retina provides a noninvasive window to assess microcirculation. Some authors, e.g., Cheung et al. [7], studied retinal photographs of patients with AD using a computer program; microvascular network alterations in the retina of the AD patients (narrower retinal venules and sparser and more tortuous retinal vessels) were detected compared with matched nondemented controls.

We used a new colorimetric software that analyzes color changes in the optic nerve using Hb as a reference pigment. The amount of Hb in each of the 24 sectors of the papilla obtained by the Laguna ONhE analysis was higher in healthy subjects than in AD patients, especially in sectors corresponding to the outer ring of the papilla (Fig. 1B). The outer ring mostly aligns with the neuroretinal rim, whereas the medium ring is the transitional area, and the inner ring mainly comprises the cup area. The neuroretinal rim is the papillary area with the greatest vascular supply; therefore, changes in axonal perfusion should be observed in this location, as evidenced in the present study. The purpose of this program was not to measure optic nerve head perfusion, but to detect paleness due to a decrease in capillary density and consequently axonal loss. The optic nerve head is the retinal area with the greatest vascular supply (from the choriocapillaris and branches of the central retinal artery); therefore, changes in perfusion should be observed first in this location, as evidenced in the present study. In AD optic disk ischemia would be chronic and stable, and for this reason it would be much better tolerated by the optic nerve. This might explain the finding of lower Hb levels in the neuroretinal rim of AD patients, without direct structural consequences to the optic disk (RNFL thickness). So, given that vascular pathology may be an important contributor to the development of AD, and given that retinal and cerebral microvasculature share many anatomical and physiological aspects; the lower amount of Hb in AD patients could be a consequence of primary retinal microvascular changes and concomitant cerebral microvascular changes. Future studies are needed to examine this hypothesis.

The Laguna ONhE program is inexpensive and easy to perform, and may be applicable in routine clinical practice; therefore, this technology could provide a new biomarker in patients with neurodegenerative diseases such as AD. Lower optic disk Hb levels were also found in a sample of Parkinson's disease patients compared with a control group, and main differences were also in the

outer ring of the papilla (corresponding mostly with neuroretinal rim) [10]. Correlations between optic disk Hb levels and disease severity (assessed by MMSE score) were slight and not statistically significant in our group. This result was similar to that of another recent study with Parkinson's disease patients [10] reporting no association of Hb percentages with disease severity and duration. It could be very interesting to investigate the relation between retinal and optic disk changes detected by different digital imaging technologies and disease severity in AD patients. Large studies with a greater sample size are needed to obtain statistically significant associations.

This study has some limitations. The small sample size could have limited our ability to detect statistically significant differences in the OCT results. In addition, the Hb values varied significantly in the AD group (probably due to the difficulty in obtaining a fundus photograph in some AD patients), with high standard deviations (Table 2). This variability could reduce the strength of the conclusions; nevertheless, our results demonstrated a clear tendency and increasing the sample size might reduce the variability. We did not include patients with advanced stages of dementia, due to the inability to perform the protocol examination. This could induce a study bias, but our aim was to evaluate axonal loss and color changes in the optic disk at the initial stages of dementia, even before the patient complained of visual disturbances. Another possible limitation was we did not exclude patients with arterial hypertension (except if the hypertension was not properly controlled with medication) and dyslipidemia. These vascular and metabolic factors could have affected colorimetric analysis results, but we consider that due to the high prevalence of these two cardiovascular risk factors, especially in elderly population, it is very difficult to recruit a sample without them.

In conclusion, evaluation of optic nerve head paleness assessed by the Laguna ONhE software could be a biomarker of axonal loss and perfusion deficits in patients with AD, even in early stages of the disorder. We consider this software potentially useful for early diagnosis. The differences detected in this study are consistent with previously reported findings of thinning of the RNFL and choroid. We present a new method that is easy to perform and to implement in routine clinical practice because it requires only a fundus photograph. Future studies with larger sample sizes are needed to confirm these findings. Longitudinal studies would be useful to assess whether this colorimetric optic disk evaluation could be used to monitor disease progression.

Competing interest

The authors have no proprietary interest. No conflicting relationship exists for any author.

Funding

Supported in part by the Institute of Health Carlos III grant PI0990617 and PI12/02301M.

Acknowledgments

The authors would like to thank Dr. Gonzalez de la Rosa for the creation and cession of Laguna ONhE software.

References

- [1] Krantic S, Torriglia A. Retina: source of the earliest biomarkers for Alzheimer's disease? *J Alzheimers Dis* 2014;40(2):237–43.
- [2] Tzekov R, Mullan M. Vision function abnormalities in Alzheimer disease. *Surv Ophthalmol* 2014;59(4):414–33.
- [3] Berisha F, Feke GT, Trempe CL, McMeel JW, Schepens CL. Retinal abnormalities in early Alzheimer's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(5):2285–9.

- [4] 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.
- [5] Gharbiya M, Trebbastoni A, Parisi F, Manganiello S, Cruciani F, D'Antonio F, et al. Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer's disease: evidence from enhanced depth imaging spectral domain optical coherence tomography. *J Alzheimers Dis* 2014;40(4):907–17.
- [6] Park SW, Kim JH, Mook-Jung I, Kim KW, Park WJ, Park KH, et al. Intracellular amyloid beta alters the tight junction of retinal pigment epithelium in 5XFAD mice. *Neurobiol Aging* 2014;35(9):2013–20.
- [7] Cheung CY, Ong YT, Ikram MK, Ong SY, Li X, Hilal S, et al. Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2014;10(2):135–42.
- [8] González de la Rosa M, González-Hernández M, Sigut J, Alayon S, Radcliffe N, Mendez-Hernandez C, et al. Measuring hemoglobin levels in the optic nerve head: comparisons with other structural and functional parameters of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;1(54):482–8.
- [9] Bambo M, García-Martin E, Perez-Olivan S, Sigut J, Fumero F, Fuentes JL, et al. Diagnostic ability of a new method for measuring hemoglobin levels in the optic nerve head in multiple sclerosis patients. *Br J Ophthalmol* 2013;97(12):1543–8.
- [10] Bambo MP, García-Martin E, Satue M, Perez-Olivan S, Alayon S, Gonzalez-Hernandez M, et al. Measuring hemoglobin levels in the optic disc of Parkinson's disease patients using new colorimetric analysis software. *Parkinson's Dis* 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/946540>. Epub 2014 Dec 23.
- [11] Chylack Jr LT, Wolfe JK, Singer DM, Leske MC, Bullimore MA, Bailey IL, et al. Longitudinal study of cataract study group. The lens opacities classification system III. *Arch Ophthalmol* 1993;111:831–6.
- [12] Tamura H, Kawakami H, Kanamoto T, Kato T, Yokoyama T, Sasaki K, et al. High frequency of open-angle glaucoma in Japanese patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci* 2006;246:79–83.
- [13] Bayer AU, Ferrari F, Erb C. High occurrence rate of glaucoma among patients with Alzheimer's disease. *Eur Neurol* 2002;47:165–8.
- [14] McKhann G, Drachman D, Folstein M, Katzman R, Price D, Stadlan EM. Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984;34:939–44.
- [15] Diagnostic and statistical manual of mental disorders (DSM-IV). 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994.
- [16] 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.
- [17] Rebok G, Brandt J, Folstein M. Longitudinal cognitive decline in patients with Alzheimer's disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol* 1990;3:91–7.
- [18] 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.
- [19] Blanks JC, Schmidt SY, Torigoe Y, Porrello KV, Hinton DR, Blanks RH. Retinal pathology in Alzheimer's disease II. Regional neuron loss and glial changes in GCL. *Neurobiol Aging* 1996;17:385–95.
- [20] Tsai Y, Lu B, Ljubimov AV, Girman S, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, et al. Ocular changes in TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(1):523–34.
- [21] Diomedì M, Misaggi G. Vascular contribution to Alzheimer disease: predictors of rapid progression. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2013;12(4):532–7.

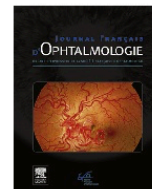
Journal français d'ophtalmologie (2015) 38, 580–587



Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com


ORIGINAL ARTICLE

Study of perfusion changes in the optic disc of patients with fibromyalgia syndrome using new colorimetric analysis software



Étude des changements de la perfusion dans le disque optique de patients avec le syndrome de fibromyalgie en utilisant un nouveau logiciel d'analyse colorimétrique

M. Pilar Bambo^{a,b}, E. Garcia-Martin^{a,b,*},
 F. Gutierrez-Ruiz^{a,b}, R. Magallon^{b,c}, M. Roca^d,
 J. Garcia-Campayo^{b,e}, S. Perez-Olivan^{a,b},
 V. Polo^{a,b}, J.M. Larrosa^{a,b}, L.E. Pablo^{a,b}

^a Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Isabel la Católica 1–3, 50009 Zaragoza, Spain

^b Aragonese Institute of Health Sciences, Service, Lozano Blesa University Hospital Clinic, Avenida San Juan Bosco, C/Domingo Miral, s/n. 15, 50009 Zaragoza, Spain

^c Centro Salud Arrabal, Red de Investigación en Atención primaria (REDIAPP), Zaragoza, Spain

^d Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut (IUNICS), University of Balearic Islands, Palma de Mallorca, Mallorca, Spain

^e Department of Psychiatry, Miguel Servet Hospital, University of Zaragoza, Red de Investigación en Atención primaria (REDIAPP), Zaragoza, Spain

Received 3 November 2014; accepted 5 January 2015

Available online 11 May 2015

KEYWORDS

Fibromyalgia;
 Hemoglobin levels;
 Optical coherence
 tomography;

Summary

Purpose. – We measured the amount of hemoglobin at the optic nerve head of fibromyalgia (FM) patients using new colorimetric analysis software. We also investigated whether perfusion defects of the optic nerve head in patients with FM lead to tissue atrophy and corresponding retinal nerve fiber layer (RNFL) thinning measured by optical coherence tomography (OCT).

* Corresponding author. Consultas Externas de Oftalmología, C/Padre Arrupe, 50009 Zaragoza, Spain.
 E-mail address: egmvivax@yahoo.com (E. Garcia-Martin).

Optic disc;
Optic nerve head;
Retinal nerve fiber
layer

Methods. – We recruited for this cross-sectional study 118 FM patients and 76 sex- and age-matched healthy controls. All subjects underwent a complete neuro-ophthalmologic examination, which also included visual field testing using the Spark strategy in an Easyfield perimeter, and OCT examinations using the Spectralis. One photograph of the optic disc was obtained using a Cirrus™ Photo 800 multi-modality imager. We analyzed fundus photographs using Laguna ONhE software, a new method that allows hemoglobin levels to be measured at the optic nerve head. We compared hemoglobin percentages in different sectors of the nerve head and RNFL thicknesses between the two groups.

Results. – Mean hemoglobin percentages and hemoglobin content in all optic nerve head sectors calculated by the Laguna ONhE program were significantly lower in FM patients than in healthy controls, and the main differences were detected in the outer ring, which corresponds with the neuroretinal rim. However, only the differences in the superotemporal RNFL were statistically significant. Correlations between the RNFL thickness and the percentage of hemoglobin in the different sectors were weak.

Conclusion. – Optic disc perfusion was decreased in patients with FM, especially within the neuroretinal rim, without clear involvement in the RNFL.

© 2015 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

MOTS CLÉS

Fibromyalgie ;
Taux d'hémoglobine ;
Tomographie par
cohérence optique ;
Disque optique ;
Tête du nerf
optique ;
Fibres nerveuses
rétiniennes

Résumé

But. – Nous avons mesuré la quantité d'hémoglobine à la tête du nerf optique des patients avec le syndrome de fibromyalgie (FM) en utilisant un nouveau logiciel d'analyse colorimétrique. Nous avons également cherché à savoir si les défauts de perfusion de la tête du nerf optique chez les patients avec FM conduisent à l'atrophie des tissus et à l'amincissement des fibres nerveuses rétiniennes (RNFL) correspondantes mesurés par tomographie en cohérence optique (OCT).

Méthodes. – Nous avons recruté, pour cette étude transversale, 118 patients avec FM et 76 témoins sains. Tous les sujets ont subi un examen neuro-ophtalmologique complet, qui comprenait également des tests de champ visuel en utilisant la stratégie de Spark dans un périmètre Easyfield, et des examens avec OCT en utilisant le Spectralis. Une photographie de la papille optique a été obtenue en utilisant le Cirrus™ Photo 800. Nous avons analysé les photographies du fond d'œil en utilisant le logiciel Laguna ONhE, une nouvelle méthode qui permet d'évaluer la quantité d'hémoglobine dans la tête du nerf optique. Nous avons comparé les pourcentages d'hémoglobine dans les différents secteurs de la papille et les épaisseurs des fibres nerveuses rétiniennes entre les deux groupes.

Résultats. – La moyenne des pourcentages d'hémoglobine et la teneur en hémoglobine dans tous les secteurs de la tête du nerf optique calculées par le programme Laguna ONhE étaient significativement plus faibles chez les patients fibromyalgiques que chez les témoins sains, et les principales différences ont été détectées dans l'anneau externe, qui correspond à l'anneau neuro-rétinien. Cependant, seules les différences dans les fibres nerveuses rétiniennes dans le secteur supérotemporal étaient statistiquement significatives. Les corrélations entre l'épaisseur des fibres rétiniennes et le pourcentage de l'hémoglobine dans les différents secteurs ont été faibles.

Conclusion. – Le disque optique de patients atteints de fibromyalgie a montré une diminution du taux d'hémoglobine comparativement à un groupe sain, en particulier dans l'anneau neuro-rétinien.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Introduction

Fibromyalgia (FM) is characterized by widespread chronic musculoskeletal pain, fatigue, poor sleep, frequent psychologic difficulties, and multiple tender points on physical examination. FM is the second most common rheumatologic disease, affecting 2 to 4% of the population in industrialized countries [1]. Patients with FM exhibit

hyperalgesia/allodynia with increased sensitivity to painful stimuli [2]. Although neither the etiology nor the pathogenesis of this condition is fully understood, FM appears to be a disorder of the central nervous system and a type of central sensitivity syndrome [3].

The symptoms of FM can be prolonged and debilitating, and negatively affects the lives of patients, the people around them, and the environment in which they live. Over

50% of patients with FM complain of memory decline and mental confusion [4]. Cognitive problems such as forgetfulness and concentration difficulties are among the more severe symptoms of this condition [5]. Accumulating evidence suggests that cognitive deficits are more prevalent in FM patients compared with controls [6].

The neurophysiology of pain processing has recently received increasing interest with the use of functional neuroimaging, which provides an invaluable tool to investigate the underlying mechanisms. Data obtained using various functional imaging techniques consistently identify that the brain structures that are activated during painful conditions are the same as the brain areas with altered metabolism and blood flow in patients with FM compared to healthy subjects. Together, these structures are referred to as the *pain matrix*. Fayed et al. [7] used proton magnetic resonance spectroscopy to examine the role of some neurotransmitters, such as glutamate, in the pathogenesis of FM and somatization disorder. Mountz et al. [3] observed hypoperfusion bilaterally in the thalamus and caudate nucleus using single-photon emission computed tomography (SPECT). A functional magnetic resonance imaging (MRI) study conducted by Gracely et al. [8] revealed a significant relative increase in signal intensity in multiple brain regions implicated in pain processing in patients with FM when both FM patients and healthy controls were challenged with the same painful stimulus. Based on a perfusion MRI study, Foerster et al. [9] suggested baseline alterations in brain perfusion in patients with FM, especially in the thalami. These functional imaging techniques are expensive, however, and not readily available in everyday clinical practice. Therefore, there are no easy and quick objective examinations for diagnosing FM or for assessing the severity of the disorder [10].

Despite some preliminary studies on visual function in FM patients and its relationship with the severity of the disorder [11], to our knowledge, there are no published studies measuring changes in optic nerve head (ONH) perfusion in FM patients. The Laguna ONhE (optic nerve head hemoglobin) program is a new method designed by a group of ophthalmologists and engineers that allows hemoglobin (Hb) levels to be measured at the ONH using conventional fundus color photographs that compensate for different variables, such as illumination or lens absorption and diffusion. The Laguna ONhE has already been used for diagnosis of glaucomatous optic neuropathy, demonstrating similar diagnostic ability compared with the classic functional and structural tests used in glaucoma [12]. This new technology has also proved useful for analyzing axonal loss in neuro-ophthalmologic patients, such as those with multiple sclerosis [13].

ONH perfusion basically depends on three factors: Hb content, blood flow rate, and oxygen saturation. Our objective was to measure the amount of Hb at the ONH using conventional fundus photographs that compensate for the aforementioned variables. When there are different types of tissue in a region of interest, and the intention is not to measure total perfusion but rather to determine oxygenation changes over time, it is useful to measure two or more wavelengths for which oxy- and deoxy-Hb show the same and different absorbances. We believe that this measure of Hb content provides additional useful information and has very promising applications. In addition, the Laguna ONhE

program is inexpensive and easy to perform, and may be applicable for clinical practice in ophthalmology.

We also investigated whether perfusion defects of the ONH in patients with FM lead to tissue atrophy and corresponding retinal nerve fiber layer (RNFL) thinning by analyzing the correlations between Hb content in different sectors of the papilla and RNFL thickness, measured by optical coherence tomography (OCT). To the best of our knowledge, RNFL thickness has not been examined in patients with FM compared to healthy subjects.

Material and methods

The design of the study followed the Declaration of Helsinki Principles and the study protocol was approved by the Clinical Research Ethics Committee of Aragon (Zaragoza, Spain). Informed written consent was obtained from all participants.

Subjects and measurement protocol

Required inclusion criteria were: best-corrected visual acuity (BCVA) of 20/40 or better, refractive error within ± 5.00 diopters equivalent sphere and ± 2.00 diopters astigmatism, and transparent ocular media. Exclusion criteria included previous intraocular surgery, presence of comorbid conditions and diseases affecting the visual field or neurologic system, and abuse of substances that could affect visual function.

The subjects comprised 118 patients who met the 1990 American College of Rheumatology criteria for FM [14] and therefore diagnosed with FM by a rheumatologist, and 76 sex- and age-matched healthy controls. To obtain this cohort we initially included 120 patients with FM and 77 control subjects: 2 patients in the FM group and 1 subject the control group were excluded due to the presence of undiagnosed ophthalmic pathology.

All subjects underwent a complete neuro-ophthalmologic examination, which included assessment of BCVA, fundoscopic examinations, Goldmann applanation tonometry, visual field testing using the Spark strategy in an Easyfield perimeter (Oculus Optikgeräte GmbH, Wetzlar, Germany), and OCT examinations using the Spectralis OCT (Heidelberg, Engineering Inc., Heidelberg, Germany). One photograph of the optic disc was obtained using a Cirrus™ Photo 800 multimodality imager (Carl Zeiss Meditec Incorporation, Dublin). One eye of each subject was randomly included in the analyses.

OCT evaluation

The OCT tests were performed to obtain measurements of the peripapillary RNFL using the Spectralis OCT device. The same experienced operator performed all scans. No manual correction was applied to the OCT output. An internal fixation target was used because it provides the highest reproducibility [15]. Scan quality was assessed before the analysis, and poor-quality scans were rejected. Eight images with artifacts or missing parts, or showing seemingly distorted anatomy, were excluded [16].

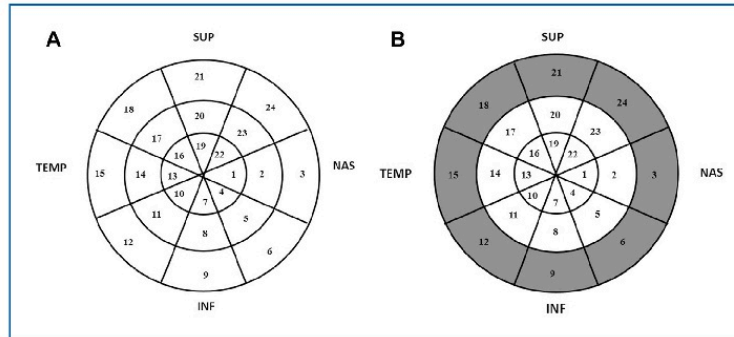


Figure 1. A. Representation of the automatized division of the optic disc image performed by the Laguna ONhE (optic nerve head hemoglobin) device into eight 45° radial sectors, and two concentric rings at 1/3 and 2/3 of the disc radius. The Laguna ONhE program analyzed the amount of hemoglobin in each of the resulting 24 sectors and the mean hemoglobin. B. Representation of the difference in the percentage of hemoglobin between control and fibromyalgia groups. Sectors with a difference greater than 25% are indicated in grey and located in the outer ring (equivalent with the neuroretinal rim). Hb: hemoglobin.

The RNFL Spectralis protocol generates a map showing mean thickness and six sector thicknesses (superonasal, nasal, inferonasal, inferotemporal, temporal, and superotemporal in the clockwise direction for the right eye and counterclockwise for the left eye).

Optic disc photograph evaluation

The Laguna ONhE program (Insoft SL., Tenerife, Spain) analyzed three spectral components of ONH photographs: blue, green, and red. ONH areas with high Hb levels reflect mainly red light. In contrast, areas with a low Hb component reflect a lower proportion of the red component compared to the green and blue light. Using different concentrations or different thicknesses of various red blood cell dilutions as standards, the photographic images obtained with this technique can be used to determine the amount of Hb [12].

The Laguna ONhE software uses mathematical algorithms for automatic component segmentation to perform a semi-automatic delimitation of the optic nerve head border and to identify the central retinal vessels. Thus, two areas of the optic nerve head were defined: the central retinal vessels and the optic nerve head tissue itself. The result obtained for the vessels was used as the reference value for calculating the Hb content in the tissue [17]. The image of the papilla was divided automatically into eight 45° radial sectors, and two concentric rings were also defined, comprising 1/3 and 2/3 of disc radius, obtaining average Hb and 24 sectors as shown in Fig. 1A. There are several factors that hinder the automatic analysis of the ONH images: lighting issues, type of camera used, saturation level of the images, patient cooperation, etc. For this reason the program has a pre-processing system of the images that prepares and improves retinal images for subsequent segmentation stage. Finally, the influence of the lens status was compensated for by analyzing the differences between the green and blue components before calculating the Hb content.

Statistical analysis

This was an observational, prospective cross-sectional study. All data analyses were performed using SPSS software version 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). The Kolmogorov-Smirnov test was used to assess sample distribution. Given the normal distribution of the data, the Student’s *t*-test was used to compare the OCT and Hb parameters between healthy controls and FM patients; and correlations were examined by Pearson’s test. Values of *P* less than 0.05 were considered to indicate a statistical significance. The Bonferroni correction for multiple comparisons was applied as necessary.

Results

Epidemiologic and disease characteristics of patients with FM and healthy subjects are shown in Table 1. Mean age in the FM patient group was 52.9 years (range: 43–51) and in the healthy control group 52.0 years (range: 40–64). Age, sex, and intraocular pressure did not differ significantly between groups (*P*=0.550, 0.304, and 0.312 respectively). In the FM group, 18.7% were smokers and 15.3% had a previous episode of transient visual loss of unknown cause. As for the characteristics of the patients, 52.6% had no other concomitant disease, 23.7% had chronic autoimmune or rheumatologic disease, and 23.7% showed no alteration in the psychopathologic sphere, specifically depression.

Mean Hb percentages and Hb content in all sectors calculated by the Laguna ONhE program were significantly lower in FM patients than in healthy controls (Student’s *t*-test, *P*<0.005; Fig. 2A). The main differences were detected in sectors 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, and 24 of the papilla, with a greater than 25% difference between groups (Table 2). Fig. 1B shows a papillary image that was automatically divided into each of the 24 sectors by the Laguna ONhE with dark grey indicating the sectors with a greater difference in the percentage of Hb. These sectors correspond precisely with the outer ring.

Table 1 Epidemiologic and disease characteristics of 118 patients with fibromyalgia syndrome and 76 healthy subjects included in the study, and statistical significance of comparisons between groups (P).

	Healthy subjects (n = 76)	Patients with fibromyalgia syndrome (n = 118)	P ^a
Age (years); mean (range)	52.09 (40–64)	52.90 (43–61)	0.550
Male:female (% women)	3:73 (96%)	4:114 (96.6%)	0.304
Intraocular pressure (SD)	14.12 (1.61)	14.01 (1.78)	0.312
BCVA (ETDRS scale); mean (SD)	0.00 (0.36)	0.00 (0.46)	0.440
Spark mean deviation (SD)	–	–0.193 (3.05)	–
Spark mean sensitivity (SD)	–	28.14 (3.59)	–

BCVA: best-corrected visual acuity; ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; SD: standard deviation.
^a Significant difference (P < 0.05) between normal subjects and fibromyalgia syndrome patients for each population.

RNFL measurements evaluated in the study and the significance of the difference between healthy and FM groups are shown in Table 3 and Fig. 2B. The Spectralis OCT revealed a statistically significant decreased thickness in

the superotemporal (129.7 μm in FM group versus 139.1 μm in controls; P=0.004) and inferotemporal (142.0 μm in FM group versus 150.6 μm in controls; P=0.012) regions. The Bonferroni correction for multiple comparisons indicated

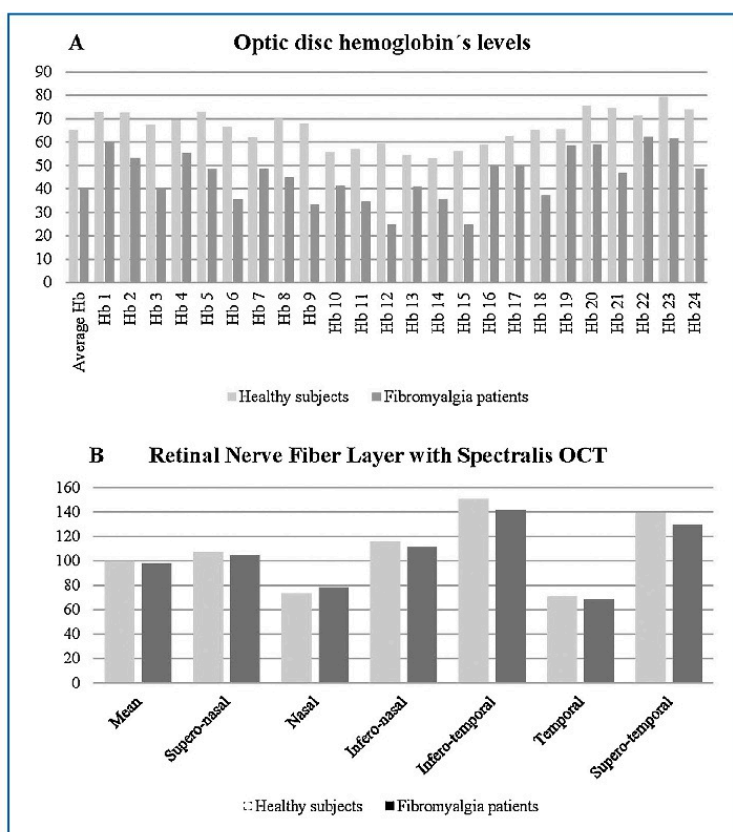


Figure 2. A. Hemoglobin percentages obtained with the Laguna ONhE (optic nerve head hemoglobin) program in each of the 24 sectors of the papilla and mean hemoglobin in healthy controls and patients with fibromyalgia syndrome. B. Retinal nerve fiber layer thicknesses obtained with the Spectralis optical coherence tomography device in healthy controls and patients with fibromyalgia syndrome.

Table 2 Mean and standard deviation in parenthesis of the percentage of hemoglobin based on analysis of optic disc photographs provided by the Laguna ONhE (optic nerve head hemoglobin) program of fibromyalgia syndrome patients and healthy subjects, and statistical significance of the comparison between groups (*P*).

	Healthy subjects	Fibromyalgia patients	<i>P</i> ^a
Average Hb	65.17 (10.64)	40.23 (10.51)	<0.001
Hb 1	72.84 (16.10)	59.56 (13.01)	<0.001
Hb 2	72.39 (14.34)	53.32 (12.01)	<0.001
Hb 3	67.18 (12.09)	39.95 (12.29)	<0.001
Hb 4	69.33 (15.08)	55.35 (14.15)	<0.001
Hb 5	73.05 (13.56)	48.52 (11.64)	<0.001
Hb 6	66.47 (11.92)	35.41 (12.19)	<0.001
Hb 7	62.20 (16.85)	48.55 (15.39)	<0.001
Hb 8	69.88 (11.20)	44.82 (11.35)	<0.001
Hb 9	68.00 (11.05)	33.15 (11.78)	<0.001
Hb 10	55.60 (18.71)	41.25 (20.49)	0.001
Hb 11	56.80 (15.95)	34.44 (15.74)	<0.001
Hb 12	59.34 (12.75)	24.50 (12.72)	<0.001
Hb 13	54.61 (18.63)	41.00 (20.26)	0.001
Hb 14	52.90 (16.50)	35.68 (15.40)	<0.001
Hb 15	55.92 (14.53)	24.66 (13.29)	<0.001
Hb 16	58.69 (19.61)	49.88 (17.65)	0.034
Hb 17	62.55 (15.70)	50.07 (13.49)	<0.001
Hb 18	65.04 (13.35)	37.30 (12.12)	<0.001
Hb 19	65.47 (18.27)	58.46 (14.56)	0.006
Hb 20	75.54 (13.48)	58.99 (12.28)	<0.001
Hb 21	74.52 (11.66)	46.88 (11.86)	<0.001
Hb 22	71.21 (16.74)	62.30 (14.31)	0.011
Hb 23	79.24 (13.14)	61.32 (10.74)	<0.001
Hb 24	74.06 (12.02)	48.68 (11.94)	<0.001

Hb: hemoglobin.
^a Significant difference (*P*<0.05) in Student's *t*-test between healthy subjects and fibromyalgia syndrome patients.

that the appropriate *P*-value for a statistically significant difference was *P*<0.0083. Therefore, only the differences in the superotemporal RNFL were statistically significant. All structural thicknesses except for that in the nasal quadrant tended to be decreased in patients with FM.

Correlations between the RNFL thickness obtained with Spectralis OCT and the percentage of Hb in the different

sectors provided by the Laguna ONhE program were slight. The inferotemporal RNFL thickness was significantly (*P*<0.001) correlated with total Hb (*r*=0.400), and Hb percentages in sectors 18 (*r*=0.414), 21 (*r*=0.441), and 24 (*r*=0.427).

Correlations between RNFL thickness and Spark parameters were slight and not statistically significant.

Table 3 Mean and standard deviation of retinal nerve fiber layer thicknesses obtained with the Spectralis optical coherence tomography device in healthy controls and patients with fibromyalgia syndrome.

RNFL measurements	Healthy controls	Fibromyalgia patients	<i>P</i> ^a
Mean thickness	100.00 (10.52)	97.58 (9.76)	0.141
Superior nasal	107.05 (18.51)	104.19 (26.25)	0.454
Nasal quadrant	73.11 (12.70)	78.13 (18.82)	0.066
Inferior nasal	115.46 (29.15)	111.45 (28.71)	0.394
Inferior temporal	150.60 (19.81)	142.01 (21.49)	0.012
Temporal quadrant	70.76 (11.03)	68.78 (15.29)	0.377
Superior temporal	139.06 (16.84)	129.65 (21.93)	0.004

RNFL: retinal nerve fiber layer.
^a Significant difference (*P*<0.05) in Student's *t*-test between healthy subjects and fibromyalgia patients.

Discussion

The findings of the present study indicate reduced perfusion in the ONH of patients with FM and the ability of the Laguna ONhE program to detect perfusion changes in the ONH. This program has been used to evaluate glaucoma and multiple sclerosis patients [12,13], but it has not been used for FM patients. Our findings suggest that this simple, inexpensive, and noninvasive technique may help to clarify the pathogenesis of FM.

Previous neuroimaging research studies, including functional and perfusion MRI, proton magnetic resonance spectroscopy, and SPECT studies, have identified and confirmed the presence of an anatomic circuit pathway characterizing a functional top-down influence on pain processing via brain stem structures [7,3,8,9,18–20]. Several studies suggest that a central nervous system-based processing problem causes the widespread pain sensitivity in FM [21,22]. Functional neuroimaging modalities have demonstrated differences in neuronal activity and blood flow in regions implicated in pain processing between patients with FM and controls [3,8,9,20]. Proton magnetic resonance spectroscopy studies have also revealed metabolic changes in patients with FM [7,18]. To our knowledge, however, no previous studies have used funduscopy imaging to investigate perfusion alterations in the ONH of FM patients.

The Hb amount in each of the 24 sectors of the papilla obtained by the Laguna ONhE analysis were higher in healthy subjects than in FM patients, especially in sectors corresponding with the outer ring of the papilla. The outer ring mostly aligns with the neuroretinal rim, whereas the medium ring is the transitional area and the inner ring mainly comprises the cup area. The neuroretinal rim is the papillary area with the greatest vascular supply; therefore, changes in axonal perfusion should be observed in this location, as evidenced in the present study. Optic disc perfusion was decreased in patients with FM without clear involvement in the RNFL (only the differences in the superotemporal sector were statistically significant and the correlations between Hb levels and RNFL thicknesses were slight and not significant). Therefore, it is difficult to explain why chronic ischemia produced no relevant defects in the RNFL thickness compared with other optic neuropathies, such as glaucoma, in which significant correlations are detected between Hb levels and the main optic disc structural parameters [12]. In glaucoma, it is likely that reduced mean optic disc perfusion is not the cause of the decrease in RNFL thickness, but rather the phenomena of vasospasm and reperfusion with a consequent release of mediators such as nitric oxide, endothelin-1, etc. [23]. If so, lower Hb levels in the optic disc of glaucoma patients would be a consequence of the main factor of the disease. In the case of FM, however, optic disc ischemia would be chronic and stable (due to a generalized reduction of cerebral perfusion), and for this reason it would be much better tolerated by the ONH. In addition to responding to perfusion pressure and structural changes in ocular blood vessels, ocular blood flow is markedly influenced by local regulation. Many factors determine regulation, and thus different types of dysregulation can occur. Ocular blood flow, in turn, is unstable if intraocular pressure fluctuates at a high enough level or perfusion pressure is low enough to exceed the capacity of

autoregulation, or if autoregulation itself is disturbed [24]. The optic disc blood flow is influenced by neurovascular coupling as well as by circulating factors diffusing from the choroid into the ONH. This might explain the finding of lower Hb levels in the neuroretinal rim of FM patients, without structural or functional consequences to the optic disc. Future studies are needed to examine this speculation.

To obtain absolute and reproducible results for the ONH, a reference pattern is needed to compensate for lens absorption and diffusion, as well as a change in the intensity and spectral composition of the light used for illumination. If this is not corrected, for example, in patients with cataracts, the relative redness of the image may lead to an overestimation of the Hb content in the tissue. Clinicians should take these limitations into account when using this method, as well as other digital image analysis technologies.

Analysis of Hb levels in ONH photographs using the Laguna ONhE program provided useful and reproducible information about the change in color and perfusion of the papilla. Our findings suggest that this program has important clinical applications and it only requires a good photograph of the ONH for image processing, but these findings should be confirmed and extended for other diseases with perfusion defects [25,26].

Disclosure of interest

The authors declare that they have no conflict of interest concerning this article.

Acknowledgments

Thanks to Professor González de la Rosa for allowing us to use Laguna ONhE program in this study.

Funding support: Supported in part by the Carlos III Institute of health, Madrid, Spain grant PI0990617 and PI12/02301M. The funding organization had no role in the design or conduct of the research.

References

- [1] Wolfe F, Ross K, Anderson J, Russell IJ, Hebert L. The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis Rheum* 1995;38:19–28.
- [2] Kosek E, Hansson P. Modulatory influence on somatosensory perception from vibration and heterotopic noxious conditioning stimulation (HNCS) in fibromyalgia patients and healthy subjects. *Pain* 1997;70:41–51.
- [3] Mountz JM, Bradley LA, Alarcon GS. Abnormal functional activity of the central nervous system in fibromyalgia syndrome. *Am J Med Sci* 1998;315:385–96.
- [4] Katz RS, Heard AR, Mills M, Leavitt F. The prevalence and clinical impact of reported cognitive difficulties (Fibrofog) in patients with rheumatic disease with and without fibromyalgia. *J Clin Rheumatol* 2004;10:53–8.
- [5] Bennett RM, Jones J, Turk DC, Russell IJ, Matallana L. An internet survey of 2,596 people with fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord* 2007;8:27.
- [6] Glass JM. Fibromyalgia and cognition. *J Clin Psychiatry* 2008;69:20–4.

- [7] Fayed N, Andres E, Rojas G, Moreno S, Serrano-Blanco A, Roca M, et al. Brain dysfunction in fibromyalgia and somatization disorder using proton magnetic resonance spectroscopy: a controlled study. *Acta Psychiatr Scand* 2012;126:115–25.
- [8] Gracely RH, Petzke F, Wolf JM, Clauw DJ. Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 2002;46:1333–43.
- [9] Foerster BR, Petrou M, Harris RE, Barker PB, Hoeffner EG, Clauw DJ, et al. Cerebral blood flow alterations in pain processing regions of patients with fibromyalgia using perfusion MR imaging. *Am J Neuroradiol* 2011;32:1873–8.
- [10] Goldenberg DL. Diagnosis and differential diagnosis of fibromyalgia. *Am J Med* 2009;122(Suppl.):14–21.
- [11] Türkyilmaz K, Türkyilmaz AK, Kurt EE, Kurt A, Öner V. Dry eye in patients with fibromyalgia and its relevance to functional and emotional status. *Cornea* 2013;32:862–6.
- [12] González de la Rosa M, González-Hernández M, Sigut J, Alayon S, Radcliffe N, Mendez-Hernandez C, et al. Measuring hemoglobin levels in the optic nerve head: comparisons with other structural and functional parameters of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;1:482–8.
- [13] Bambo M, Garcia-Martin E, Perez-Olivan S, Sigut J, Fumero F, Fuentes JL, et al. Diagnostic ability of a new method for measuring hemoglobin levels in the optic nerve head in multiple sclerosis patients. *Br J Ophthalmol* 2013;97:1543–8.
- [14] Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia: report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum* 1990;33:160–72.
- [15] 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;103:1889–98.
- [16] 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.
- [17] Dill DB, Costill DL. Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol* 1974;37:247–8.
- [18] Grachev ID, Fredrickson BE, Apkarian AV. Abnormal brain chemistry in chronic back pain: an in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Pain* 2000;89:7–18.
- [19] Hadjipavlou G, Dunckley P, Behrens TE, Tracey I. Determining anatomical connectivities between cortical and brainstem pain processing regions in humans: a diffusion tensor imaging study in healthy controls. *Pain* 2006;123:169–78.
- [20] Seghier ML, Lazeyras F, Vuilleumier P, Schneider A, Carota A. Functional magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging in a case of central poststroke pain. *J Pain* 2005;6:208–12.
- [21] Petzke F, Clauw DJ, Ambrose K, Khine A, Gracely RH. Increased pain sensitivity in fibromyalgia: effects of stimulus type and mode of presentation. *Pain* 2003;105:403–13.
- [22] Lorenz J. Hyperalgesia or hypervigilance? An evoked potential approach to the study of fibromyalgia syndrome. *Z Rheumatol* 1998;57(Suppl.):19–22.
- [23] Flammer J, Konieczka K, Bruno RM, Virdis A, Flammer AJ, Taddei S. The eye and the heart. *Eur Heart J* 2013;34:1270–8.
- [24] Pourmaras CJ, Rungger-Brandle E, Riva CE, Hardarson SH, Stefansson E. Regulation of retinal blood flow in health and disease. *Prog Retin Eye Res* 2008;27:284–330.
- [25] Denniss J. Estimation of hemoglobin levels in the optic nerve head for glaucoma management. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:1515.
- [26] Gonzalez de la Rosa M, Gonzalez-Hernandez M, Sigut J, Alayon S, Radcliffe N, Mendez-Hernandez C, et al. Author response: estimation of hemoglobin levels in the optic nerve head for glaucoma management. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:2011–2.

RESEARCH ARTICLE

Fibromyalgia Is Correlated with Retinal Nerve Fiber Layer Thinning

Elena Garcia-Martin^{1,2*}, Javier Garcia-Campayo^{2,3}, Marta Puebla-Guedea^{2,3}, Francisco J. Ascaso^{2,4}, Miguel Roca⁵, Fernando Gutierrez-Ruiz^{1,2}, Elisa Vilades^{1,2}, Vicente Polo^{1,2}, Jose M. Larrosa^{1,2}, Luis E. Pablo^{1,2}, Maria Satue^{1,2}

1 Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain, **2** Aragon Institute of Health Research, IIS-Aragon, Zaragoza, Spain, **3** Psychiatry Department, Red de Investigación en Atención primaria (REDIAPP), Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain, **4** Ophthalmology Department, Lozano Blesa University Hospital, Zaragoza, Spain, **5** Institut Universitari d'Investigació en Ciències de la Salut (IUNICS), University of Balearic Islands, Palma de Mallorca, Spain

* egmvivax@yahoo.com



click for updates

Abstract

Objective

To investigate whether fibromyalgia induces axonal damage in the optic nerve that can be detected using optical coherence tomography (OCT), as the retinal nerve fiber layer (RNFL) is atrophied in patients with fibromyalgia compared with controls.

Methods

Fibromyalgia patients ($n = 116$) and age-matched healthy controls ($n = 144$) were included in this observational and prospective cohort study. All subjects underwent visual acuity measurement and structural analysis of the RNFL using two OCT devices (Cirrus and Spectralis). Fibromyalgia patients were evaluated according to Giesecke's fibromyalgia subgroups, the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ), and the European Quality of Life-5 Dimensions (EQ5D) scale. We compared the differences between fibromyalgia patients and controls, and analyzed the correlations between OCT measurements, disease duration, fibromyalgia subgroups, severity, and quality of life. The impact on quality of life in fibromyalgia subgroups and in patients with different disease severity was also analyzed.

Results

A significant decrease in the RNFL was detected in fibromyalgia patients compared with controls using the two OCT devices: Cirrus OCT ganglion cell layer analysis registered a significant decrease in the minimum thickness of the inner plexiform layer (74.99 ± 16.63 vs 79.36 ± 3.38 μm , respectively; $p = 0.023$), nasal inferior, temporal inferior and temporal superior sectors ($p = 0.040$; 0.011 and 0.046 respectively). The Glaucoma application of the Spectralis OCT revealed thinning in the nasal, temporal inferior and temporal superior sectors ($p = 0.009$, 0.006 , and 0.002 respectively) of fibromyalgia patients and the Axonal application in all sectors, except the nasal superior and temporal sectors. The odds ratio (OR) to estimate the size effect of FM in RNFL thickness was 1.39 . RNFL atrophy was detected in

OPEN ACCESS

Citation: Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, et al. (2016) Fibromyalgia Is Correlated with Retinal Nerve Fiber Layer Thinning. PLoS ONE 11(9): e0161574. doi:10.1371/journal.pone.0161574

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

Received: February 11, 2016

Accepted: August 8, 2016

Published: September 1, 2016

Copyright: © 2016 Garcia-Martin et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

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

Funding: The authors received no specific funding for this work

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

patients with FIQ scores <60 (patients in early disease stages) compared with controls in the temporal inferior sector (78.74 ± 17.75 vs 81.65 ± 3.61 ; $p = 0.020$) and the temporal superior sector (78.20 ± 14.50 vs 80.74 ± 3.88 ; $p = 0.039$) with Cirrus OCT; in the temporal inferior sector (145.85 ± 24.32 vs 150.18 ± 19.71 ; $p = 0.012$) and temporal superior sector (131.54 ± 20.53 vs 138.13 ± 16.67 ; $p = 0.002$) with the Glaucoma application of the Spectralis OCT; and in all sectors, except the average, nasal superior, and temporal sectors, and parameters with the Axonal application of the Spectralis OCT. Temporal inferior RNFL thickness was significantly reduced in patients with severe fibromyalgia ($FIQ \geq 60$) compared with patients with mild fibromyalgia ($FIQ < 60$; 145.85 ± 24.32 vs 138.99 ± 18.09 μm , respectively; 145.43 ± 13.21 vs 139.85 ± 13.09 μm , $p = 0.032$ with the Glaucoma application and $p = 0.021$ with the Axonal application). The subgroup with biologic fibromyalgia exhibited significant thinning in the temporal inferior and superior sectors (115.17 ± 20.82 μm and 117.05 ± 24.19 μm , respectively) compared with the depressive (130.83 ± 22.97 μm and 127.71 ± 26.10 μm , respectively) and atypical (128.60 ± 26.54 μm and 125.55 ± 23.65 μm , respectively) subgroups ($p = 0.005$ and 0.001 respectively).

Conclusions

Fibromyalgia causes subclinical axonal damage in the RNFL that can be detected using innocuous and non-invasive OCT, even in the early disease stages. The impact on the RNFL in the temporal sectors is greater in patients with biologic fibromyalgia, suggesting the presence of neurodegenerative processes in this subgroup of patients with fibromyalgia.

Introduction

Fibromyalgia (FM) is a central nervous system disorder and a type of central sensitivity syndrome [1]. The neurophysiologic basis of pain processing was recently evaluated with greater resolution using functional neuroimaging. Mountz et al., using single-photon emission computed tomography, observed bilateral hypoperfusion in the thalamus and caudate nucleus in women with fibromyalgia [1]. Gracely et al., using functional magnetic resonance imaging (MRI), revealed a significant relative increase in signal intensity in multiple pain-related brain regions in patients with FM after challenging both FM patients and controls with the same painful stimulus [2]. Based on a perfusion MRI study, Foerster et al. reported baseline changes in brain perfusion in patients with FM, especially in the thalami [3,4].

Garcia-Campayo et al. suggested that neuroimaging findings could be used to identify subgroups of FM patients, which would allow for personalized patient treatment [5]. These functional imaging techniques are expensive, however, and not readily available in a typical clinical practice. Currently, there are no easy and quick objective examinations for diagnosing FM or for assessing the severity of the disorder [6].

Visual loss is a main cause of disability in patients with neurodegenerative disease, and axonal loss in the retinal nerve fiber layer (RNFL) correlates with the extent of functional disability in patients with neurodegenerative disease, such as multiple sclerosis [7–10], Parkinson disease [9,11,12], and Alzheimer disease [13,14]. The RNFL comprises retinal ganglion cell axons that send information from the retina to the lateral geniculate nucleus. RNFL axons within the eye have no myelin sheath. In addition to being the main retinal component near the optic nerve

(90% of retinal thickness), ganglion cells and their axons are also present in the macula (30%–35%) and can be quantified using noninvasive, rapid, objective, and reproducible ocular imaging technologies, such as optical coherence tomography (OCT), which is commonly used to evaluate the RNFL [13,15,16].

The aim of this study was to evaluate whether FM causes RNFL thinning and which subtypes or phases of this pathology exhibit high axonal damage in the optic nerve. We used two commonly available OCT devices to test which protocols more accurately detect whether FM causes axonal damage in the RNFL. Possible correlations of RNFL measurements in FM patients with disease duration, FM subgroup, functional ability, and quality of life were also analyzed.

Materials and Methods

This is a prospective cohort study aiming to compare patients with FM ($n = 119$) against age- and sex-matched controls ($n = 144$).

Based on our previous studies, 86 subjects were needed to be able to detect significant differences in the RNFL thickness, assuming an alpha error of 5% and a beta error of 10%. A standard sample size equation was used to calculate the number of subjects required. To further increase the power of the study, we included 119 FM patients and 144 controls.

Patients were recruited from the primary care research group study population of FM patients in Zaragoza, Spain. This research group periodically evaluates all subjects with FM diagnosis or clinical suspects among healthy individuals of Zaragoza, which has a population of 850,000.

All participants signed their written informed consent to participate in this study. The written informed consents for patients and controls and the study protocol were approved by the Ethic Committee of Clinic Research in Aragon (CEICA) and by the Ethic Committee of Miguel Servet University Hospital, in Zaragoza, Spain. This study was conducted in accordance with the guidelines established by the principles of the Declaration of Helsinki.

The inclusion criteria were: confirmed FM diagnosis according to the 1990 American College of Rheumatology criteria for FM [17]; best corrected visual acuity ≥ 0.1 using a Snellen chart to allow the patients to complete the protocol; and intraocular pressure less than 21 mmHg to exclude other processes, such as open angle chronic glaucoma, related to RNFL thinning [18]. The exclusion criteria were: history of refractive errors (more than 5 diopters of spherical equivalent refraction or 3 diopters of astigmatism); concomitant ocular disease (such as glaucoma or retinal pathology); systemic pathologies that could impair the visual system; ocular trauma, laser therapy; and pathology affecting the optic nerve, cornea, retina, or lens (such as glaucoma, optic neuritis, keratoconus, macular degeneration, and cataract). Controls presented with no evidence of any disease. All procedures were performed in adherence to the tenets of the Declaration of Helsinki, and the local ethics committee approved the experimental protocol. Informed consent to participate in the study was provided by all subjects.

The FM patients were evaluated by a psychiatrist specializing in FM (blind to the ophthalmology evaluation), who registered measurements of disease duration since diagnosis; evaluation of FM severity using the Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ); evaluation of activities of daily living and impact on quality of life using the Euro Quality of Life 5D (EQ-5D) scale.

All subjects were evaluated by two neuro-ophthalmologists (blind to the psychiatrist evaluation), who examined the anterior segment, assessed the best-corrected visual acuity based on the Snellen scale, and performed a visual field test, three different OCT protocols, and a fundoscopic exam. Each eye was considered independently and we randomly analyzed only one eye of each subject unless only one of the eyes met the exclusion criteria. We assessed the visual

field using a Humphrey Field Analyzer (Carl-Zeiss Meditec, Dublin, CA). Mean deviation (dB), defect pattern, and pattern standard deviation were measured using the Swedish Interactive Threshold Algorithm Standard strategy (program 30–2).

OCT evaluation

Peripapillary RNFL thickness measurements were obtained in all subjects using the Cirrus and Spectralis OCT devices. The OCT devices were used in random order to prevent fatigue bias. The same experienced operator performed all of the scans and was blinded to the results of the psychiatric and other ophthalmologic tests. A time delay was inserted between scan acquisitions and subject position and focus was randomly disrupted for adjustment of the alignment parameters at the beginning of each scan. The OCT output was not manually corrected. We used an internal fixation target to provide the highest level of reproducibility [19], and only analyzed images with a quality a score of >7 for the Cirrus OCT and >25 for Spectralis OCT. Three patients were excluded because poor fixation prevented us from acquiring a centered scan, and therefore only 116 patients were included in the statistical analysis. We also excluded 10 images due to artifacts, missing parts, or apparently distorted anatomy. Ten eyes were rescanned (six with the Cirrus OCT and four using the Spectralis OCT) to obtain good-quality and centered images [20].

The Cirrus Macular Cube 200 x 200 protocol was performed using the Cirrus OCT. Each scan was analyzed using the ganglion cell layer analysis application to measure the mean and minimum inner plexiform, the fovea, and the nasal and temporal sectors. With the Spectralis OCT, we used two different RNFL applications in each of the subjects: the classic Glaucoma application and the Axonal application (created specifically to evaluate neurologic diseases that impact the RNFL). The images were acquired using TruTrack eye-tracking technology. Both RNFL applications generate a thickness map indicating mean overall thickness, mean thickness for each of the superior, inferior, nasal and temporal quadrants, and mean thickness of the nasal superior, nasal, nasal inferior, temporal inferior, temporal, and temporal superior sectors (Fig 1). RNFL defects were identified by comparing each patient's measurements with those of the normative database provided with each instrument. The Axonal application utilizes fovea-to-disc technology to orient the anatomy correctly and to minimize variability due to differences in patient head orientation. In addition, the Axonal system places the temporal region of the scan in the center of the viewing window to enhance analysis of papillomacular bundle axonal loss, which occurs in neurodegenerative disease. The RNFL thickness graph displays the scan results in the quadrants, and provides two additional neuro-ophthalmologic parameters: papillomacular bundle thickness and nasal/temporal (N/T) ratio.

Assessment of the Fibromyalgia syndrome

Disease duration since diagnosis was recorded (in months) and all patients were classified following FM subgrouping at the Miguel Servet Hospital Fibromyalgia Unit, based on the pressure-pain thresholds and psychologic factors described by Giesecke et al [21]. Despite the existence of several FM subgroup classifications, Giesecke's classification method is considered highly reliable by FM researchers and specialists because it is based on both psychologic and biologic measures. The Giesecke classification includes three subgroups: Subgroup 1 (atypical): low tenderness, moderate depression/anxiety, moderate catastrophizing, and moderate control over pain; Subgroup 2 (depressive): high tenderness, high depression/anxiety, high catastrophizing, and low control over pain; and Subgroup 3 (biologic): high tenderness, low depression/anxiety, low catastrophizing, and high control over pain. The questionnaires and

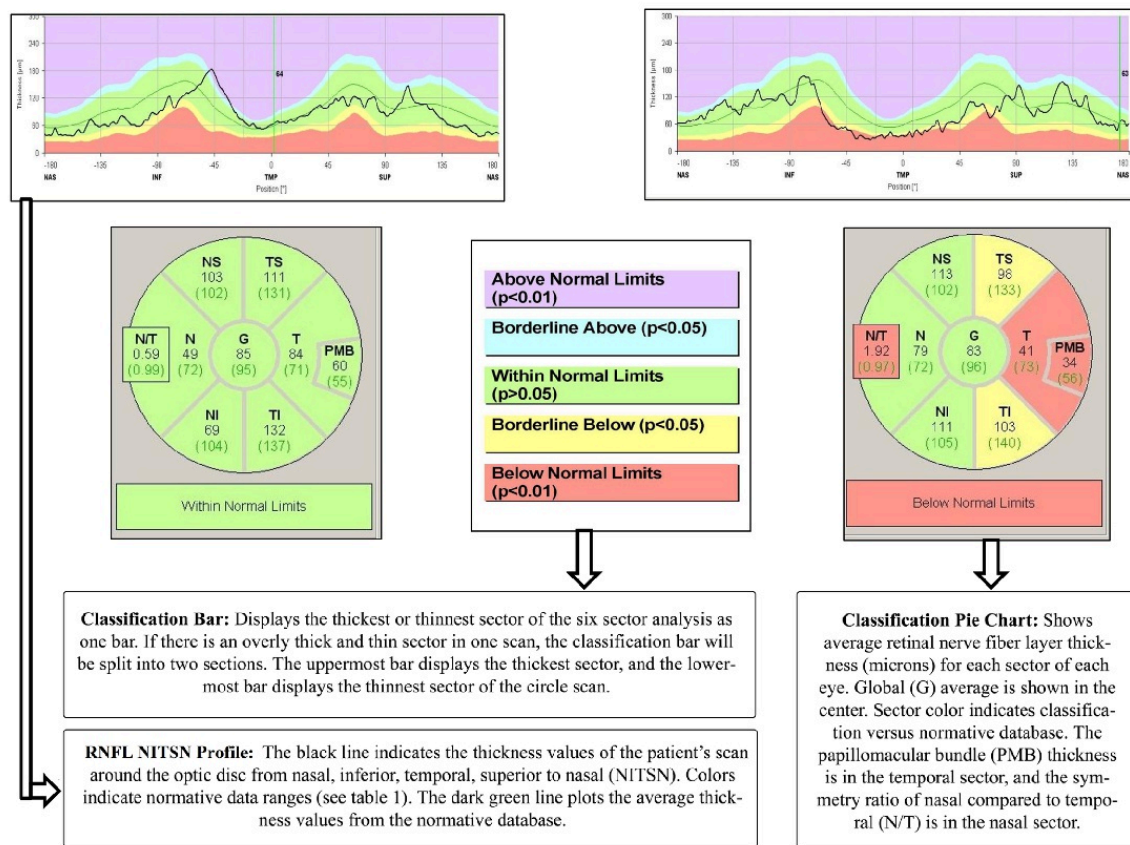


Fig 1. Representation and interpretation of the report from the Axonal application of the Spectralis optical coherence tomography in a control (left side) and in a patient with fibromyalgia and retina nerve fiber layer thinning (right side).

doi:10.1371/journal.pone.0161574.g001

examinations used to classify FM patients into these subgroups are described in Giesecke et al. [21].

We used the FIQ because it has reliable test-retest characteristics, credible construct validity, and good sensitivity for demonstrating therapeutic effects in patients with FM [22]. Patients in the present study completed the FIQ and were assigned a score of 0 through 100. The higher the score, the greater the disease impact. We used the validated Spanish version of the FIQ [23].

We assessed the symptoms of patients with FM and the impact on activities of daily living using the Euro-quality of life questionnaire (EQ-5D). It is critical to assess health-related quality of life outcomes in FM patients because of the multitude of symptoms, which include chronic pain, fatigue, weakness, hyperalgesia, secondary depression, and allodynia. These symptoms can substantially impair the patients' ability to work and disrupt their quality of life by interfering with social and family functioning. The EQ-5D comprises five questions with

three response categories involving the following dimensions: mobility, self-care, usual activities, pain, and anxiety/ depression. The EQ-5D results are expressed as the percentage of subjects with moderate or major problems [24]. We used the validated Spanish version of the EQ-5D [25].

Statistical analysis

Data were stored in a custom database (File Maker Pro, version 8.5) The Statistical Package for the Social Sciences (SPSS 20.0, SPSS Inc., Chicago, IL) was used for the statistical analyses. Sample distribution was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test, and therefore mean, standard deviation and standard error of the mean were used in the descriptive analysis, and parametric tests were used for comparison.

The OCT and ophthalmologic parameters were normally distributed and differences between controls and FM patients were assessed using unpaired Student's t-test (two sided) and analysis of variance (ANOVA). Bonferroni's correction for multiple comparisons was used to adjust for multiple comparisons (p-value with Bonferroni's correction was 0.012). The odds ratio (OR) was calculated to estimate the size effect of FM in RNFL thinning.

The FM population was divided in two subgroups: 68 patients with severe FM ($FIQ \geq 60$) and 48 patients with mild FM ($FIQ < 60$). We compared both subgroups with controls to evaluate the presence of RNFL atrophy in even the early stages of FM disease. We also evaluated the differences among the biologic FM, depressive FM, and atypical FM subgroups. Correlations between OCT measurements, disease duration, severity (measured by FIQ), and impact on quality of life (by EQ-5D) were calculated using Pearson's correlation coefficient. We analyzed which OCT measurements showed better sensitivity for detecting disease severity (FIQ) and impact on quality of life (EQ5D) in FM patients, using a multivariate logistical regression analysis.

Results

We evaluated a total of 116 patients with FM and 144 age- and sex-matched controls. Mean age was 52.13 ± 8.34 years in the FM group and 51.11 ± 8.98 years in the control group. Age, sex, and intraocular pressure did not differ significantly between FM and control groups.

Table 1 shows the epidemiologic and disease characteristics. FM duration ranged from 6 months to 24 years with a median of 7.9 years since diagnosis. The FM phenotype distribution was: biologic FM, 26 patients (22.4%); depressive FM, 34 patients (29.3); atypical FM, 56 patients (48.3%). The FIQ scores ranged from 18.39 to 97.61 (mean 62.15). The EQ-5D scores ranged from 5 to 95 (mean 45.05).

Best corrected visual acuity, mean deviation, and standard deviation of the visual field did not differ significantly between FM patients and controls (Table 1) (S1 Table. Minimal dataset)

RNFL thickness comparisons between FM and controls

Based on findings from both OCT devices, FM patients had significantly reduced RNFL thickness (Table 2, Fig 2). The Cirrus OCT ganglion cell layer analysis revealed significant differences in the minimum inner plexiform, the nasal inferior, temporal inferior, and temporal superior sector thicknesses in FM patients (see Table 2).

The odds ratio (OR) was calculated to estimate the size effect of FM in RNFL thinning using the following formula: $OR = (a \cdot d) / (b \cdot c)$. The coefficient "a" indicates FM patients who present with a thickness reduction in at least one temporal sector or the papillomacular bundle of the Axonal application of the Spectralis OCT (using the normative database of this device). The coefficient "b" indicates healthy subjects with a thickness decrease in those parameters.

Table 1. Epidemiologic and disease characteristics of 116 patients with fibromyalgia syndrome and 144 controls included in the study, and statistical significance of the comparisons between the groups (P).

	Patients with Fibromyalgia syndrome (n = 116)	Controls (n = 144)	P*
Age (years): mean (range)	52.1 (33–69)	51.1 (32–70)	0.393
Men:Women (% women)	4:112 (98.2%)	6:138 (95.83%)	0.103
Disease duration (years): mean (SD)	7.88 (4.23)	-	-
FIQ: mean (SD)	62.1 (18.72)	-	-
EQ-5D: mean (SD)	45.0 (18.84)	-	-
Intraocular pressure (SD)	14.1 (1.21)	14.0 (1.32)	0.540
BCVA (ETDRS scale): mean (SD)	-0.01 (0.46)	-0.02 (0.35)	0.607
MD Visual Field [mean (SD)]	1.9 (3.14)	-0.4 (2.22)	0.212
PSD Visual Field (dB) [mean (SD)]	1.2 (1.74)	1.34 (1.04)	0.324

Abbreviations: EQ-5D, FIQ, Fibromyalgia Impact Questionnaire; European Quality of Life-5 Dimensions; BCVA, best corrected visual acuity; ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; dB, decibels; MD, mean deviation of visual field; PSD, pattern standard deviation of visual field.

*Significant difference ($P < 0.05$) between normal subjects and Fibromyalgia syndrome patients for each population were calculated using unpaired Student's t-test (two sided).

doi:10.1371/journal.pone.0161574.t001

The coefficients “c” and “d” indicate FM patients and healthy controls without a thickness decrease in those parameters, respectively. The OR obtained was 1.39.

The two applications used with the Spectralis OCT (the classic Glaucoma application RNFL protocol and the Axonal application RNFL-N protocol) revealed significant differences in the nasal and temporal sectors in FM patients. The Axonal application also revealed that FM patients had a significant thinning of the papillomacular bundle and a significant increase in the N/T (nasal/temporal) index (Table 2; Fig 1). Although other sectors showed clear tendencies toward RNFL thinning (Fig 2), the differences were not statistically significant (Table 2).

Subgroup analysis

Based on the FIQ, the FM population was divided in two subgroups: 68 patients with severe FM ($FIQ \geq 60$) and 48 patients with mild FM ($FIQ < 60$). Both subgroups exhibited statistically significant differences when compared with controls in Temporal Inferior sector using Cirrus Ganglion cell layer analysis, in Temporal Superior and Temporal Inferior sectors using Glaucoma RNFL application of Spectralis OCT and in all measurements provided by Axonal RNFL-N application of Spectralis OCT (except Average thickness, Nasal Superior and Temporal sectors) (Table 3). The RNFL temporal inferior sector thickness obtained with both Spectralis OCT applications was significantly reduced in patients with severe FM ($FIQ \geq 60$) compared with patients with mild FM ($FIQ < 60$; $p = 0.032$ with the Glaucoma application and 0.021 with Axonal application). Based on Bonferroni's correction, the differences between severe and mild FM were not statistically significant. Based on the Axonal application, RNFL temporal superior thickness in patients with severe FM was significantly reduced compared with patients with an FIQ score lower than 60 ($p = 0.018$).

The FM population was also divided in three subgroups depending on Giesecke's classification of FM using the same instruments: biologic FM (26 patients), depressive FM (34 patients), and atypical FM (56 patients). Statistical differences were detected between patients with biologic FM and the other two groups in the thicknesses of the temporal inferior and temporal superior sectors using the Spectralis OCT Axonal application: the biologic FM subgroup had significant thinning in the temporal inferior and superior sectors ($115.17 \pm 20.82 \mu\text{m}$ and $117.05 \pm 24.19 \mu\text{m}$, respectively) compared with the depressive FM ($130.83 \pm 22.97 \mu\text{m}$ and 127.71

Table 2. Mean and standard error of the mean of retinal nerve fiber layer thicknesses obtained with the Cirrus and Spectralis optical coherence tomography devices in patients with Fibromyalgia syndrome and controls, and statistical significance.

		Fibromyalgia patients (n:116)		Controls (n:144)		P
		Mean	SEM	Mean	SEM	
Cirrus Ganglion cell layer analysis	Average Inner Plexiform	80.6	1.02	82.5	0.85	0.207
	Minimum Inner Plexiform	75.0	0.99	79.4	0.72	0.023
	Fovea	257.4	1.67	258.3	1.41	0.728
	Superior sector	81.3	1.19	83.5	0.78	0.166
	Nasal Superior sector	83.4	1.17	84.6	1.03	0.535
	Nasal Inferior sector	80.8	1.54	83.4	1.06	0.040
	Inferior sector	79.3	1.22	81.2	0.68	0.300
	Temporal Inferior sector	78.6	1.39	81.6	0.98	0.011*
	Temporal Superior sector	77.2	0.97	80.7	1.01	0.046
Spectralis RNFL(Glaucoma application)	Average	97.6	1.02	99.9	0.97	0.114
	Nasal Superior sector	104.3	2.73	107.2	2.72	0.376
	Nasal sector	73.0	1.96	78.5	1.17	0.009*
	Nasal Inferior sector	111.7	2.98	116.1	2.73	0.277
	Temporal Inferior sector	142.1	2.24	150.2	1.81	0.006*
	Temporal sector	68.8	1.59	70.1	0.96	0.498
	Temporal Superior sector	129.5	2.28	138.1	1.53	0.002*
Spectralis RNFL-N(Axonal application)	Average	97.5	1.12	100.0	1.01	0.047
	Nasal Superior sector	104.1	1.32	105.4	1.21	0.123
	Nasal sector	65.4	1.21	71.3	1.34	0.006*
	Nasal Inferior sector	103.6	1.60	108.9	1.55	0.002*
	Temporal Inferior sector	142.1	0.83	149.0	0.79	<0.001*
	Temporal sector	70.4	0.95	72.4	0.88	0.187
	Temporal Superior sector	143.9	1.32	150.0	1.21	<0.001*
	Papillomacular buddle	53.6	0.80	57.5	0.77	<0.001*
	Nasal/Temporal index	0.89	0.01	1.01	0.01	0.012*

Thickness measurements are in microns (µm). Abbreviations: SEM, standard error of the mean; RNFL, retinal nerve fiber layer. P: Student's t-test between normal and Fibromyalgia disease groups.

Numbers in bold indicate significant difference (P<0.05)

* indicate significant difference using Bonferroni correction for multiple comparisons for each application of optical coherence tomography device (p<0.012).

doi:10.1371/journal.pone.0161574.t002

±26.10 µm, respectively) and atypical FM (128.60±26.54 µm and 125.55±23.65 µm, respectively) subgroups (ANOVA; p = 0.005 for the temporal superior sector and p = 0.001 for the temporal inferior sector) (Table 4).

Correlation analysis and logistic regression between OCT and disease parameters

Measurements of the RNFL by the Cirrus OCT and by the Spectralis OCT's Glaucoma application were significantly positively correlated (r = 0.789, p<0.001 between the mean inner plexiform layer thickness of the Cirrus OCT and mean RNFL thickness of the Glaucoma application). Similarly, RNFL measurements by the Cirrus OCT and the Spectralis OCT's Axonal application were significantly positively correlated (r = 0.767; p<0.001, between the mean inner plexiform of the Cirrus, and the RNFL mean thickness of the Axonal application). Correlation between the two Spectralis applications was good (r = 0.881; p<0.001, RNFL mean

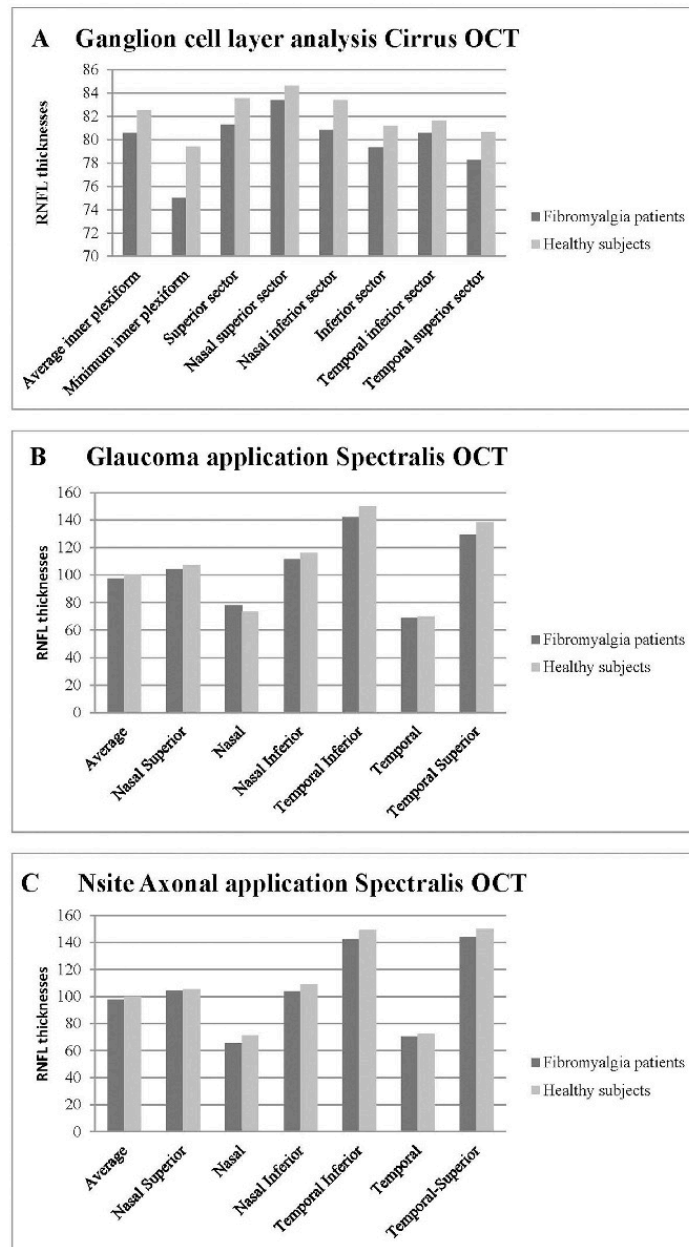


Fig 2. Bar charts representing optical coherence tomography (OCT) measurements in eyes from 116 fibromyalgia patients and 144 controls. A- Retinal nerve fiber layer measurements using the ganglion cell layer analysis of Cirrus OCT device. **B-** Retinal nerve fiber layer measurements using the Glaucoma analytic

application of the Spectralis OCT device. C- Retinal nerve fiber layer measurements using the Nsite RNFL Axonal application of the Spectralis OCT device.

doi:10.1371/journal.pone.0161574.g002

thickness). Mean RNFL thickness values obtained with the three applications differed significantly (ANOVA, $p = 0.016$). The RNFL thicknesses provided by the three applications did not significantly correlate with disease duration or with FIQ and EQ-5D scores. Based on stepwise logistic regression analysis (using step-forward selection), the OCT parameters did not predict disease severity in FM patients (low FIQ score) or impaired quality of life (low EQ-5D score).

Table 3. Mean and standard error of the mean of retinal nerve fiber layer thicknesses obtained with the Cirrus and Spectralis optical coherence tomography devices in patients with early and advantage stages of Fibromyalgia syndrome and statistical significance with controls.

		Fibromyalgia patients with FIQ<60 (n:48)			Fibromyalgia patients with FIQ≥60 (n:68)		
		Mean	SEM	P*	Mean	SEM	P**
Cirrus Ganglion cell layer analysis	Average Inner Plexiform	81.0	1.11	0.433	80.3	0.98	0.329
	Minimum Inner Plexiform	76.0	0.78	0.102	74.1	1.23	0.018
	Fovea	258.2	1.64	0.435	256.7	1.71	0.691
	Superior sector	81.8	1.05	0.237	81.1	1.34	0.430
	Nasal Superior sector	83.6	1.16	0.349	83.2	1.18	0.667
	Nasal Inferior sector	82.0	1.44	0.056	81.2	1.50	0.031
	Inferior sector	78.9	1.15	0.543	79.1	1.30	0.211
	Temporal Inferior sector	78.7	1.46	0.020	78.3	1.32	0.038
	Temporal Superior sector	78.2	1.02	0.039	77.8	0.95	0.067
Spectralis RNFL (Glaucoma application)	Average	98.1	0.91	0.609	97.8	1.13	0.078
	Nasal Superior sector	106.8	2.57	0.441	103.0	3.01	0.601
	Nasal sector	75.9	1.88	0.098	69.6	2.10	0.022
	Nasal Inferior sector	113.3	3.13	0.654	109.5	2.67	0.265
	Temporal Inferior sector	145.8	2.23	0.012*	139.0	2.26	0.003*
	Temporal sector	67.0	1.47	0.342	68.3	1.78	0.561
	Temporal Superior sector	131.5	2.29	0.002*	127.3	2.26	0.009*
Spectralis RNFL-N (Axonal application)	Average	98.7	1.10	0.078	97.8	1.08	0.038
	Nasal Superior sector	104.3	1.43	0.345	104.9	1.21	0.098
	Nasal sector	67.3	1.26	0.004*	64.9	1.16	0.007*
	Nasal Inferior sector	105.8	1.55	0.003*	102.6	1.66	0.002*
	Temporal Inferior sector	145.4	0.80	0.001*	139.8	0.87	<0.001*
	Temporal sector	71.9	0.80	0.453	71.0	1.34	0.089
	Temporal Superior sector	146.4	1.23	<0.001*	141.9	1.42	<0.001*
	Papillomacular bundle	55.9	0.83	0.003*	53.6	0.78	<0.001*
	Nasal/Temporal index	0.98	0.01	0.010*	0.98	0.01	0.008*

Thickness measurements are in microns (μm). Abbreviations: FIQ, Fibromyalgia Impact Questionnaire; SEM, standard error of the mean; RNFL, retinal nerve fiber layer.

P*: Student's t-test between controls and Fibromyalgia patients with smaller disease severity (FIQ<60).

P**: Student's t-test between controls and Fibromyalgia patients with higher disease severity (FIQ≥60). Numbers in bold indicate significant difference ($P<0.05$).

Numbers in bold indicate a significant difference ($P<0.05$)

* indicates a significant difference using the Bonferroni correction for multiple comparisons for each application of the optical coherence tomography device ($p<0.012$).

doi:10.1371/journal.pone.0161574.t003

Table 4. Mean and standard error of the mean of retinal nerve fiber layer thicknesses obtained with the Cirrus and Spectralis optical coherence tomography devices in patients with biologic fibromyalgia (26 patients), depressive fibromyalgia (34 patients), and atypical fibromyalgia (56 patients).

		Biologic fibromyalgia		Depressive fibromyalgia		Atypical fibromyalgia		P
		Mean	SEM	Mean	SEM	Mean	SEM	
Cirrus Ganglion cell layer analysis	Average Inner Plexiform	80.2	0.88	77.5	1.21	81.7	0.95	0.452
	Fovea	258.4	0.97	254.9	1.10	258.1	1.00	0.391
	Inferior sector	78.5	1.55	75.5	1.78	81.0	1.67	0.552
	Minimum Inner Plexiform	73.9	1.03	72.7	0.98	75.4	1.28	0.418
	Nasal Inferior sector	81.3	1.22	75.9	1.19	82.6	1.02	0.691
	Nasal Superior sector	82.7	1.50	79.5	1.59	85.2	1.57	0.379
	Superior sector	80.5	1.31	79.7	1.33	81.7	0.99	0.672
	Temporal Inferior sector	79.8	1.41	77.3	1.35	82.0	1.27	0.590
	Temporal Superior sector	78.8	0.94	76.4	0.97	78.2	1.01	0.872
Spectralis RNFL(Glaucoma application)	Average	96.2	1.23	94.1	1.11	98.6	0.92	0.315
	Nasal Superior sector	103.3	2.77	103.4	2.80	105.2	2.65	0.470
	Nasal sector	82.8	2.08	75.5	1.77	77.1	2.11	0.102
	Nasal Inferior sector	115.2	3.16	104.0	2.65	109.6	3.03	0.247
	Temporal Inferior sector	142.1	2.31	130.8	2.03	146.3	2.21	0.111
	Temporal sector	63.9	1.46	67.9	1.55	69.8	1.34	0.199
	Temporal Superior sector	117.0	1.80	127.7	1.96	133.7	2.09	0.367
Spectralis RNFL-N(Axonal application)	Average	97.0	1.23	97.8	1.13	99.1	1.01	0.890
	Nasal Superior sector	102.1	1.32	104.7	1.31	103.8	1.34	0.498
	Nasal sector	66.7	1.01	67.9	1.33	68.1	1.28	0.550
	Nasal Inferior sector	105.2	1.60	106.0	1.70	106.2	1.50	0.669
	Temporal Inferior sector	115.2	0.80	130.8	0.84	128.6	0.85	0.005
	Temporal sector	70.8	1.15	72.4	1.04	72.4	0.88	0.209
	Temporal Superior sector	117.0	1.27	127.7	1.35	125.5	1.31	0.001
	Papillomacular bundle	53.5	0.78	56.0	0.83	54.6	0.78	0.255
	Nasal/Temporal index	1.02	0.01	0.98	0.01	0.98	0.01	0.098

Thickness measurements are in microns (μm). Abbreviations: SEM, standard error of the mean; RNFL, retinal nerve fiber layer.

doi:10.1371/journal.pone.0161574.t004

Although we detected a correlation between OCT parameters, FIQ, and EQ-5D scores, this association did not demonstrate prognostic utility in this study.

Discussion

The main finding in the present study evaluating RNFL parameters in patients with FM was the presence of axonal damage in the optic nerve of FM patients, even in early stages of the disease. Our results revealed that even patients with mild FM (FIQ<60) exhibited subclinical RNFL atrophy in the temporal sectors.

Currently, FM lacks a specific and definitive diagnostic test. The results of the present study provide a new option to facilitate the diagnosis of FM. The ability to evaluate the optic nerve as an indicator of the disease is an important advance, and this examination can be easily implemented in clinical practice, because OCT tests are noninvasive, fast, and comfortable for patients, as well as inexpensive.

Previous studies described neurobiologic and structural brain abnormalities in FM [26,27]. Clauw described FM as a "central sensitization syndrome" caused by neurobiologic abnormalities

that produce neuropsychologic symptoms [27]. Our findings support this emerging theory and contribute new knowledge regarding the etiology of this little-known disease because we observed axonal damage in the optic nerve, which suggests that neurodegeneration contributes to the pathology of FM.

The ophthalmologic tests described in this study allow for the eye to be utilized as a “window” to the central nervous system, specifically to directly observe the axons in the optic nerve. Previous studies demonstrated that eye assessment can provide useful information for early diagnosis of some neurodegenerative diseases, such as Parkinson disease, multiple sclerosis, and Alzheimer disease [8,9,13,16]. The optic nerve is a cranial nerve considered part of the central nervous system because it derives from the diencephalon during embryonic development. Once the fibers exit the eye globe, they are covered with myelin produced by oligodendrocytes, which are myelinating cells in the central nervous system. Peripheral neuropathies, such as Guillain-Barré syndrome, do not affect the optic nerve.

The first portion of the optic nerve is one millimeter long and locates within the eyeball. This portion of the optic nerve lacks myelin or meningeal layers, and thus axonal damage can be evaluated in this segment using OCT and high resolution photographs. OCT is suggested to be more accurate than MRI for quantifying axonal damage in multiple sclerosis patients [28–30]. RNFL thickness is well-correlated with MRI measurements of the brain, such as the brain volumes and the parenchymal fraction, and mean RNFL thickness is strongly associated with normalized brain volume [29,31].

The fibers of the temporal quadrant follow the papillomacular bundle, so the temporal RNFL quadrant is most often affected in early neurodegenerative diseases [32]. Our results in FM patients are consistent with these findings: we have found that papillomacular bundle thickness decreased in patients with FM with the temporal sector being the most vulnerable (the N/T index was higher in the FM group because the temporal quadrant was affected more by the RNFL thinning than the other sectors).

We also detected differences between FM subgroups. Patients with biologic FM (low depression/anxiety/catastrophizing but high tenderness) had a significant decrease in the temporal inferior and temporal superior sectors compared with patients suffering from depressive or atypical FM, suggesting the presence of neurodegenerative processes in the biologic FM subgroup. These findings are reasonable because these patients have a high pain level but not the associated psychiatric disorders (depression/anxiety) that explain this pain, so a lesion of the tissues would be the most sensible explanation. Studies with a larger sample size will likely detect greater differences between the three FM subgroups.

OCT evaluation is noninvasive, inexpensive, fast, and comfortable for the patient. OCT does not require pupil dilation, and thus does not impact the patient's vision. While patients may occasionally be temporarily blinded following the test, this lasts only 1 or 2 minutes. Obviously, FM patients should be diagnosed and followed-up by a rheumatologist, but ophthalmologic tests are new, noninvasive, and cost-effective tools than can be used to facilitate the diagnosis of FM and may reduce the expenses associated with diagnosis of this disease. Evaluation of the RNFL in FM patients will enhance our knowledge of the disease etiology.

The two applications used with the Spectralis OCT (the classic Glaucoma application RNFL protocol and the Axonal application RNFL-N protocol) revealed significant differences in the nasal and temporal sectors in FM patients. The Axonal application also revealed that FM patients had a significant thinning of the papillomacular bundle and a significant increase in the N/T (nasal/temporal) index (Table 2; Fig 1). Although other sectors showed clear tendencies toward RNFL thinning (Fig 2), the differences were not statistically significant (Table 2).

This study has some limitations. First, although we checked that both groups (patients and controls) had no differences in refractive error, we did not evaluate axial length, which may

interfere with the results. Second, our logistic regression analysis found that OCT parameters did not predict disease severity in FM patients, although we did detect correlations. Studies with a larger sample size or longitudinal studies may find a predictive association between RNFL thinning and FM severity or changes in the quality of life. Third, in this study, we used no internal or external validation techniques to corroborate the results. Finally, we found that the RNFL temporal inferior sector thickness obtained with both Spectralis OCT applications was significantly reduced in patients with severe FM ($FIQ \geq 60$), but these results were not statistically significant when Bonferroni's correction was applied, so this difference is uncertain. Again, studies with a larger sample size might shed more light on this point.

Longer-term studies are required to evaluate the clinical application of RNFL measurements in FM patients as a diagnostic tool, to follow disease progression, to identify patients with worse prognosis or at higher risk for loss of quality of life, and to measure treatment effectiveness.

Supporting Information

S1 Table. Minimal Dataset that shows results of visual function parameters in our population. Abbreviations: ETDRS, Early Treatment Diabetic Retinopathy Study; OCT, Optical Coherence Tomography; GCL, Ganglion Cell Layer; IPL, Inner Plexiform Layer; CSV, Contrast Sensitivity Vision; CVR, Color Vision Recorder; AC CCI, age corrected color confusion index; CCI, color confusion index; C-index, confusion index; Conf Angle, confusion angle; S-index, scatter index. (DOCX)

Author Contributions

Conceptualization: EGM JGC.

Data curation: EGM JGC MPG MR MS.

Formal analysis: EGM JGC LEP.

Investigation: EGM JGC MPG MR MS.

Methodology: MPG FJA EV MS FGR.

Project administration: EGM MS LEP JGC.

Resources: LEP VP JML EV.

Supervision: EGM.

Validation: EGM JGC FGR.

Visualization: EGM.

Writing – original draft: EGM MS LEP.

Writing – review & editing: EGM JGC MPG FJA MR FGR EV VP JML LEP MS.

References

1. Mountz JM, Bradley LA, Alarcon GS. Abnormal functional activity of the central nervous system in fibromyalgia syndrome. *Am J Med Sci.* 1998; 315(6):385–96. PMID: [9638895](#)
2. Gracely RH, Petzke F, Wolf JM, Clauw DJ. Functional magnetic resonance imaging evidence of augmented pain processing in fibromyalgia. *Arthritis Rheum.* 2002; 46(5):1333–3. PMID: [12115241](#)

3. Foerster BR, Petrou M, Harris RE, Barker PB, Hoeffner EG, et al. Cerebral blood flow alterations in pain-processing regions of patients with fibromyalgia using perfusion MR imaging. *Am J Neuroradiol*. 2011; 32(10):1873–8. doi: [10.3174/ajnr.A2614](https://doi.org/10.3174/ajnr.A2614) PMID: [21868622](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21868622/)
4. Shokouhi M, Davis KD, Moulin DE, Morley-Forster P, Nielson WR, Bureau Y, St Lawrence K. Basal ganglia perfusion in fibromyalgia is related to pain disability and disease impact: An arterial spin labeling study. *Clin J Pain*. 2016; 32(6):495–505. doi: [10.1097/AJP.0000000000000295](https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000295) PMID: [26340652](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26340652/)
5. García-Campayo J, Fayed N, Serrano-Blanco A, Roca M. Brain dysfunction behind functional symptoms: neuroimaging and somatoform, conversive, and dissociative disorders. *Curr Opin Psychiatry* 2009; 22(2):224–31. doi: [10.1097/YCO.0b013e3283252d43](https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3283252d43) PMID: [19553880](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19553880/)
6. Goldenberg DL. Diagnosis and differential diagnosis of fibromyalgia. *Am J Med*. 2009; 122(Suppl):14–21.
7. Saidha S, Sotirchos ES, Oh J, Syc SB, Seigo MA, Shiee N, et al. Relationships between retinal axonal and neuronal measures and global central nervous system pathology in multiple sclerosis. *JAMA Neurol*. 2013; 70(1):34–43. doi: [10.1001/jamaneurol.2013.573](https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2013.573) PMID: [23318513](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23318513/)
8. Garcia-Martin E, Rodriguez-Mena D, Herrero R, Almarcegui C, Dolz I, Martin J, et al. Neuro-ophthalmologic evaluation, quality of life and functional disability in MS patients. *Neurology*. 2013; 81(1):1–8.
9. Garcia-Martin E, Satue M, Fuertes I, Otin S, Alarcia R, Herrero R, et al. Ability and reproducibility of Fourier-domain optical coherence tomography to detect retinal nerve fiber layer atrophy in Parkinson's disease. *Ophthalmology*. 2012; 119(10):2161–7. doi: [10.1016/j.ophtha.2012.05.003](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.05.003) PMID: [22749083](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22749083/)
10. Ratchford JN, Quigg ME, Conger A, Frohman T, Frohman E, Balcer LJ, et al. Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies. *Neurology*. 2009; 73(4):302–8. doi: [10.1212/WNL.0b013e3181af78b8](https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181af78b8) PMID: [19636050](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19636050/)
11. Aaker GD, Myung JS, Ehrlich JR, Mohammed M, Henchcliffe C, Kiss S. Detection of retinal changes in Parkinson's disease with spectral-domain optical coherence tomography. *Clin Ophthalmol*. 2010; 4:1427–32. doi: [10.2147/OP.TH.S15136](https://doi.org/10.2147/OP.TH.S15136) PMID: [21188154](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21188154/)
12. Satue M, Seral M, Otin S, Alarcia R, Herrero R, Bambo MP, et al. Retinal thinning and correlation with functional disability in Parkinson's disease patients. *Br J Ophthalmol*. 2014; 98(3):350–5. doi: [10.1136/bjophthalmol-2013-304152](https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304152) PMID: [24276697](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24276697/)
13. Larrosa JM, Garcia-Martin E, Bambo MP, Pinilla J, Polo V, Otin S, et al. New diagnostic tool for Alzheimer's disease using a linear discriminant function for Fourier domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014; 55(5):3043–51.
14. Polo V, Garcia-Martin E, Bambo MP, Pinilla J, Larrosa JM, Satue M, et al. Reliability and validity of Cirrus and Spectralis optical coherence tomography for detecting retinal atrophy in Alzheimer's disease. *Eye (Lond)*. 2014; 28(6):680–90.
15. Noval S, Contreras I, Muñoz S, Oreja-Guevara C, Manzano B, Rebollada G. Optical coherence tomography in Multiple sclerosis and neuromyelitis optica: an update. *Mult Scler Int*. 2011; 2011:472790. doi: [10.1155/2011/472790](https://doi.org/10.1155/2011/472790) PMID: [22096638](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22096638/)
16. Garcia-Martin E, Pablo LE, Herrero R, Satue M, Polo V, Larrosa JM, et al. Diagnostic ability of a linear discriminant function for Spectral domain optical coherence tomography in multiple sclerosis patients. *Ophthalmology*. 2012; 119(8):1705–11. doi: [10.1016/j.ophtha.2012.01.046](https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2012.01.046) PMID: [22480742](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22480742/)
17. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, Bennett RM, Bombardier C, Goldenberg DL, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia: report of the Multicenter Criteria Committee. *Arthritis Rheum*. 1990; 33(2):160–72. PMID: [2306288](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2306288/)
18. Gupta PK, Asrani S, Freedman SF, El-Dairi M, Bhatti MT. Differentiating glaucomatous from non-glaucomatous optic nerve cupping by optical coherence tomography. *Open Neurol J*. 2011; 5:1–7. doi: [10.2174/1874205X01105010001](https://doi.org/10.2174/1874205X01105010001) PMID: [21532867](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21532867/)
19. 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. PMID: [8942887](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8942887/)
20. 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(3):213–6. doi: [10.1097/IJG.0b013e31817eee20](https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e31817eee20) PMID: [19295375](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19295375/)
21. Giesecke T, Williams DA, Harris RE, Cupps TR, Tian X, Tian TX, et al. Subgrouping of fibromyalgia patients on the basis of pressure-pain thresholds and psychological factors. *Arthritis Rheum*. 2003; 48(10):2916–22. PMID: [14558098](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14558098/)
22. Bennett RM, Jones J, Turk DC, Russell IJ, Matalana L. An internet survey of 2,596 people with fibromyalgia. *BMC Musculoskelet Disord*. 2007; 8:27. PMID: [17349056](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17349056/)
23. Rivera J, Gonzalez T. The Fibromyalgia Impact Questionnaire: a validated Spanish version to assess the health status in women with fibromyalgia. *Clin Exp Rheumatol*. 2004; 22:554–60. PMID: [15485007](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15485007/)

24. Kind P, Dolan P, Gudex C, Williams A. Variations in population health status: results from a United Kingdom national questionnaire survey. *BMJ*. 1998; 316(7133):736–41. PMID: [9529408](#)
25. Badía X, Roset M, Herdman M, Segura A. La versión española del EuroQol: descripción y aplicaciones. *Med Clin (Barc)*. 1999; 112:79–86.
26. Jensen KB, Srinivasan P, Spaeth R, Tan Y, Kosek E, Petzke F, et al. Overlapping structural and functional brain changes in patients with long-term exposure to fibromyalgia pain. *Arthritis Rheum*. 2013; 65(12):3293–303. doi: [10.1002/art.38170](#) PMID: [23982850](#)
27. Clauw DJ, Arnold LM, McCarberg BH, FibroCollaborative. The science of fibromyalgia. *Mayo Clin Proc*. 2011; 86(9):907–11.
28. Garcia-Martin E, Polo V, Larrosa JM, Marques ML, Herrero R, Martin J, et al. Retinal layer segmentation in patients with multiple sclerosis using spectral domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*. 2014; 121(2):573–9. doi: [10.1016/j.ophtha.2013.09.035](#) PMID: [24268855](#)
29. Grazioli E, Zivadinov R, Weinstock-Guttman B, Lincoff N, Baier M, Wong JR, et al. Retinal nerve fiber layer thickness is associated with brain MRI outcomes in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2008; 268(1–2):12–7. PMID: [18054962](#)
30. Almarcegui C, Dolz I, Pueyo V, Garcia E, Fernandez FJ, Martin J, 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. doi: [10.1016/j.neucli.2009.12.001](#) PMID: [20513612](#)
31. Pulicken M, Gordon-Lipkin E, Balcer LJ, Frohman E, Cutter G, Calabresi PA. Optical coherence tomography and disease subtype in multiple sclerosis. *Neurology*. 2007; 69(22):2085–92. PMID: [18040015](#)
32. Garcia-Martin E, Pueyo V, Almarcegui C, Martin J, Ara JR, Sancho E, et al. Risk factors for progressive axonal degeneration of the retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis patients. *Br J Ophthalmol*. 2011; 95(11):1577–82. doi: [10.1136/bjo.2010.199232](#) PMID: [21785155](#)



Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window

Maria P Bambo^{1,2}, Elena Garcia-Martin^{1,2*}, Jose M Larrosa^{1,2}, Vicente Polo^{1,2}, Fernando Gutiérrez-Ruiz^{1,2}, Vilades², Laura Gil-Arribas^{1,2} and Luis E Pablo^{1,2}

¹Ophthalmology Department, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

²Aragon Institute for Health Research (IIS Aragon), University of Zaragoza, Zaragoza, Spain

Abstract

Pathologic changes in the retina and optic nerve are observed in patients with Alzheimer's disease (AD), even in early stages of the dementia. In our clinical ophthalmology practice, we use optical coherence tomography (OCT), a noninvasive, rapid, objective, and reliable technology that enables for quantification of the retinal nerve fiber layer (RNFL), namely the retinal ganglion cell axons that eventually form the optic nerve. The opportunity to analyze a part of the central nervous system by such a simple exploration led to several studies demonstrating thinning of the RNFL and central retina in AD patients compared with healthy subjects. Here we present some of our investigations in AD patients using Spectral Domain-OCT. Our results suggest that axonal loss secondary to pathologic alterations in the brains of AD patients can be observed by OCT. We also analyzed the association between retinal and RNFL thicknesses and neurologic characteristics, disease duration and severity, and found that mean RNFL thickness was significantly correlated with disease duration, indicating that the progression of AD is associated with a progressive loss of ganglion cells.

Keywords: Alzheimer's disease; Retinal nerve fiber layer; Retinal thickness; Optic disc; Optical coherence tomography

Introduction

Alzheimer disease's (AD) patients usually complain about visual symptoms such as blurry vision or reading difficulties. These complaints have been reported for more than 40 years, and they were initially considered to be of strictly cortical origin. In the last 20 years, however, some studies have identified pathologic changes in the retina and optic nerve [1,2] that could appear during the preclinical stages in patients with AD or in subjects with mild cognitive impairment.

The retinal nerve fiber layer (RNFL) comprises axons originating from retinal ganglion cells that finally form the optic nerve, namely, the first neurons of the visual pathway. The RNFL can be measured using ocular imaging technologies such as optical coherence tomography (OCT), Schuman [3] which provides noninvasive, rapid, objective, and reliable measurements. Ophthalmologists now use OCT as part of daily clinical practice and numerous studies have reported the ability of OCT to detect RNFL thickness abnormalities and changes in the macula of patients with neurodegenerative diseases [4,5]. OCT reveals thinning of the RNFL [6,7] and central retina [8] in AD patients compared with healthy subjects. There are some similarities between AD and certain eye diseases associated with aging. In animal models of AD and age-related macular degeneration, extracellular deposits of amyloid beta are a common pathologic feature [9]. The visual pathway provides occasion to use noninvasive explorations to study and follow-up biomarkers of axonal loss in neurodegenerative diseases such as AD. In fact, retrograde loss of nerve fibers in the retina and optic nerve could be an early biomarker of axonal loss in AD, even before hippocampal damage, which conducts to memory impairment [10].

Five years ago, our Ophthalmology Department initiated a research line focusing on AD patients. The retinal resolution of Time Domain-OCT (TD-OCT) is approximately 10 μ m, whereas the retinal resolution of the newer Spectral Domain-OCT (SD-OCT) to 5 μ m or less. Further, SD-OCT acquires images faster, registers the retinal location, and requires no pupil dilation. Faster acquisition is important for patients with cognitive impairment or patients who have

difficulty maintaining visual fixation, such as those with AD. Based on our experience, SD-OCT can detect axonal defects in AD patients, and specifically the Nsite Axonal application (especially designed for evaluating neuro-ophthalmic patients) of the Spectralis OCT device (Heidelberg Engineering, Inc., Heidelberg, Germany) has the greatest sensitivity for detecting subclinical RNFL atrophy in AD [11]. The temporal quadrant of the RNFL is the sector most often affected in early neurodegenerative diseases [12], as the fibers of the temporal quadrant follow the papillomacular bundle (PMB). In a recent study of 70 AD patients and 70 healthy subjects, we demonstrated that PMB thickness was decreased in patients with AD, with the temporal sector being the most susceptible (PMB thickness was 51.58 μ m in AD patients and 56.79 μ m in healthy subjects, $p=0.012$) [11]. Further, mean and superior RNFL thickness were more affected in patients with severe cognitive impairment [11,13]. Fast acquisition is an important feature of SD-OCT devices for examining patients with cognitive impairment or fixation difficulties, such as individuals with AD, and may improve the reliability of the technique. Due to the fast acquisition of SD-OCT, we found both retina and RNFL thickness measurements showed good reliability in AD patients (OCT measurements coefficient of variation ranged between 2.02 and 7.30; OCT measurements intraclass correlation coefficient ranged between 0.812 and 0.985) [11]. SD-OCT, therefore, is a useful and accurate clinical tool to evaluate subjects with AD, and the test is very fast and comfortable for the patient, who sits with the head positioned in a chin rest while the SD-OCT acquires

*Corresponding author: Elena Garcia-Martin, C/ Padre Arrupe. Consultas Externas de Oftalmología 50009-Zaragoza, Spain, Tel: 0034-976765558; E-mail: egmvivax@yahoo.com

Received March 09, 2016; Accepted March 14, 2016; Published March 21, 2016

Citation: Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, et al. (2016) Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window. J Alzheimers Dis Parkinsonism 6: 223. doi: 10.4172/2161-0460.1000223

Copyright: © 2016 Bambo MP, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

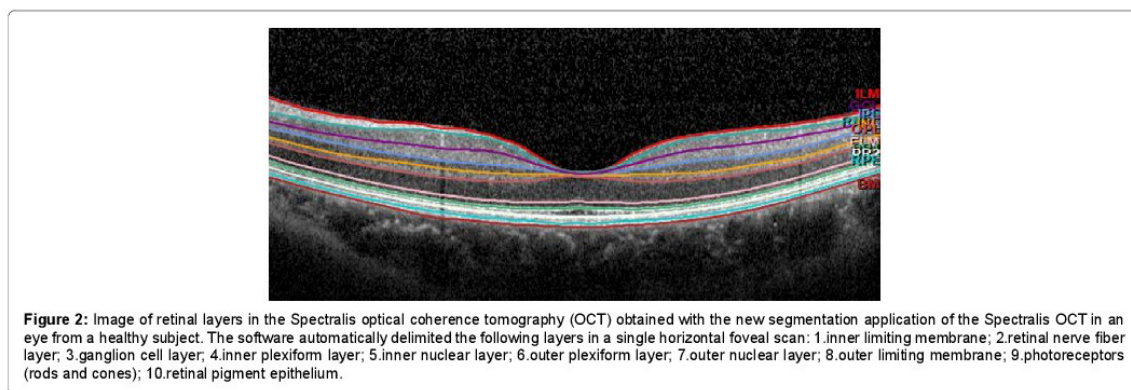
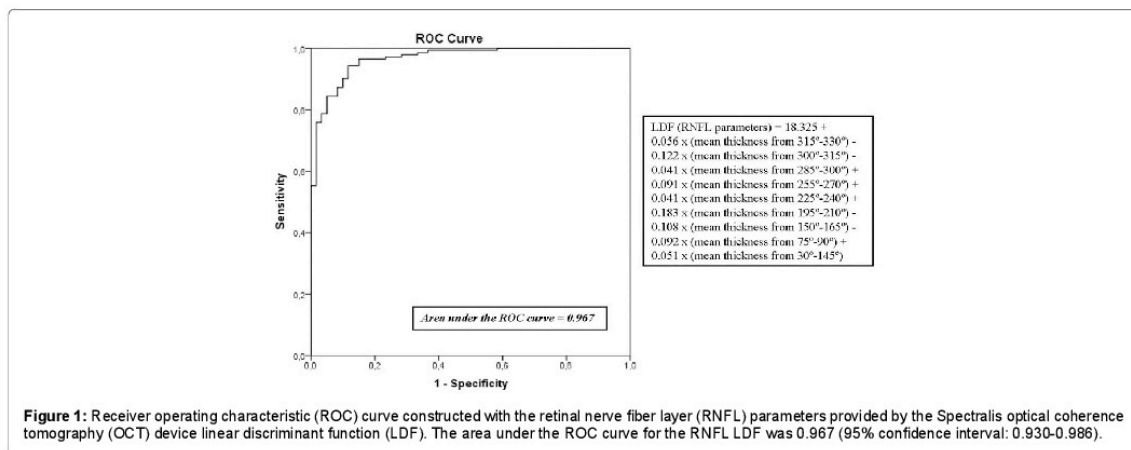
Citation: Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, et al. (2016) Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window. *J Alzheimers Dis Parkinsonism* 6: 223. doi: 10.4172/2161-0460.1000223

images in 2 s. This type of imaging can easily be incorporated into eye exams for AD patients. The advent of the newer Swept source (SS)-OCT provides additional advantages over SD-OCT, including reduced fringe washout, better sensitivity with imaging depth, and a longer imaging range. SS-OCT increases penetration into the choroid and optic nerve head with reduced sensitivity to ocular opacities [14].

Currently, ophthalmologists don't know what retinal or RNFL parameters provided by OCT could be better biomarker to diagnose AD. According to the area under the receiver operating characteristic (ROC) curve, RNFL mean thickness is the best diagnostic parameter assessed by OCT to identify various inner retinal or optic neuropathies, such as glaucoma, and it is the most sensitive parameter for identifying neurodegenerative diseases [15-17]. However, it's probably that we achieve the optimal neurodegenerative disease detection by using different OCT parameters. In another study, we performed a logistic regression analysis to establish the relative importance of each independent variable using the forward Wald method, so the calculated linear discriminant function (LDF) has better diagnostic capability compared with individual OCT parameters. We obtained that the LDF built using RNFL measurements provided by Spectralis OCT procured the highest sensitivity at a high specificity compared to any single measurement obtained using OCT (Figure 1) [18].

The latest commercialized OCT devices have excellent reproducibility and better resolution, making it possible to segment retinal layers (Figure 2). Ctori [19] recently observed that the retinal layers are differentially affected by AD: the disease causes a general decrease in RNFL foveal thickness, but only the inner retinal layers exhibit significant thinning compared with those of healthy subjects. Further, patients with longer AD duration (≥ 3 years) exhibited more thinning of the RNFL, ganglion cell, and inner plexiform layers ($p < 0.05$) [20]. This could be due to degeneration of the retinal ganglion cells and axons or to retrograde transsynaptic degeneration of the retinal ganglion cell layer and its axons in AD patients in association with posterior visual pathway lesions. Albrecht et al. [21] previous studies reported transsynaptic retinal ganglion cell degeneration in patients with homonymous hemianopsia due to retrogeniculate lesions. Jindahra et al. [22] and Reich et al. [23] reported an association between RNFL loss and retrogeniculate lesions, suggesting that measurements performed by OCT can reveal combined posterior and anterior abnormalities in the visual pathway.

Our results suggest that axonal loss secondary to pathologic alterations in the brains of AD patients can be observed by OCT. The new technologies can quantify and measure retinal ganglion cells, and changes detected by OCT in the RNFL may reflect similar pathologic alterations that occur elsewhere in the patient's brain. OCT allows



Citation: Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, et al. (2016) Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window. *J Alzheimers Dis Parkinsonism* 6: 223. doi: [10.4172/2161-0460.1000223](https://doi.org/10.4172/2161-0460.1000223)

for observation of the axonal constituents of the visual pathway and direct visualization of the anterior part of the central nervous system through the eye [24]. We also analyzed the association between retinal and RNFL thicknesses and neurologic characteristics, disease duration, and severity, and found no significant correlation between the mean retinal and RNFL and the Mini Mental Examination (MMSE) score. Mean RNFL thickness (provided by the glaucoma application of the Spectralis OCT) was, however, significantly correlated with disease duration ($r = 0.551$, $p = 0.043$), indicating that progression of AD is associated with a progressive loss of ganglion cells. Mean RNFL mean and superior thicknesses were significantly reduced in patients with severe cognitive impairment ($MMSE \leq 9$) compared with those with mild cognitive impairment ($MMSE$ between 19 and 24 points) [11].

These technologies still have some limitations: media opacity (like cataract), instrument variability, retinal pigment epithelium status, and centering and positioning of the images all affect the quality of the data obtained by these imaging devices. In patients in advanced stages of AD, good-quality scans are often not possible to acquire, so the number of severe AD patients included in these studies is limited. Some other ophthalmologic diseases and optic neuropathies can cause a reduction in RNFL and retinal thickness, and patients with these conditions were excluded in our investigations; however it is possible that some preclinical stages or normal-tension glaucoma could be included by error. These limitations must be taken into account when interpreting OCT data obtained from patients with AD.

Additional studies should be performed to evaluate the ability of OCT measurements to distinguish AD from other kinds of dementia, and the ability of the thickness of each layer to predict AD. This would be especially useful in the evaluation of AD patients in incipient phases or with a difficult or atypical diagnosis. OCT measurements are tools that can be used in combination with clinical explorations and other neurologic parameters, with the advantage that OCT is an inexpensive and non-invasive examination that only takes a few minutes. Future studies of AD using the new SS-OCT are needed, because the ability to rapidly acquire three-dimensional OCT data over a wide field of view, and zoom and image fine structures with high speed and high density promises to simplify ophthalmic examination protocols and to improve performance for ophthalmic instrumentation. The eye offers us a direct window to the central nervous system, and OCT allows for objective and reproducible evaluation.

Acknowledgment

Supported in part by the Fundación Mutua Madrileña grant FMMA 02/12. The authors would like to thank the Aragon Federation of Alzheimer's Disease Patients and other Dementias (FARAL) for helping with patient inclusion.

References

- Dehabadi MH, Davis BM, Wong TK, Cordeiro MF (2014) Retinal manifestations of Alzheimer's disease. *Neurodegener Dis Manag* 4: 241-252.
- Tzekov R, Mullan M (2014) Vision function abnormalities in Alzheimer disease. *Surv Ophthalmol* 59: 414-433.
- Schuman JS, Pedut-Kloizman T, Hertzmark E, Hee MR, Wilkins JR, et al. (1996) Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements using optical coherence tomography. *Ophthalmology* 103: 1889-1898.
- Kallenbach K, Frederiksen J (2007) Optical coherence tomography in optic neuritis and multiple sclerosis: a review. *Eur J Neurol* 14: 841-849.
- Yu JG, Feng YF, Xiang Y, Huang JH, Savini G, et al. (2014) Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: a meta-analysis. *PLoS One* 9: e85718.
- Lu Y, Li Z, Zhang X, Ming B, Jia J, et al. (2010) Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: evidence in optical coherence tomography. *Neurosci Lett* 480: 69-72.
- Coppola G, Di Renzo A, Ziccardi L, Martelli F, Fadda A, et al. (2015) Optical Coherence Tomography in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *PLoS One* 10: e0134750.
- Gharbiya M, Trebbastoni A, Parisi F, Manganiello S, Cruciani F, et al. (2014) Choroidal thinning as a new finding in Alzheimer's disease: evidence from enhanced depth imaging spectral domain optical coherence tomography. *J Alzheimers Dis* 40: 907-917.
- Park SW, Kim JH, Mook-Jung I, Kim KW, Park WJ, et al. (2014) Intracellular amyloid beta alters the tight junction of retinal pigment epithelium in 5XFAD mice. *Neurobiol Aging* 35: 2013-2020.
- Valenti DA (2011) Alzheimer's disease and glaucoma: imaging the biomarkers of neurodegenerative disease. *Int J Alzheimers Dis* 2010: 793931.
- Polo V, Garcia-Martin E1, Bambo MP1, Pinilla J1, Larrosa JM1, et al. (2014) Reliability and validity of Cirrus and Spectralis optical coherence tomography for detecting retinal atrophy in Alzheimer's disease. *Eye (Lond)* 28: 680-690.
- Garcia-Martin E, Pueyo V, Almarcegui C, Martin J, Ara JR, et al. (2011) Risk factors for progressive axonal degeneration of the retinal nerve fibre layer in multiple sclerosis patients. *Br J Ophthalmol* 95: 1577-1582.
- Bambo MP, Garcia-Martin E, Pinilla J, Herrero R, Satue M, et al. (2014) Detection of retinal nerve fiber layer degeneration in patients with Alzheimer's disease using optical coherence tomography: searching new biomarkers. *Acta Ophthalmol* 92: e581-2.
- Esmaeelpour M, Povazay B, Hermann B, Hofer B, Kujic V, et al. (2010) Three-dimensional 1060nm OCT: Choroidal thickness maps in normals and improved posterior segment visualization in cataract patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51: 5260-5266.
- Ratchford JN, Quigg ME, Conger A, Frohman T, Frohman E, et al. (2009) Optical coherence tomography helps differentiate neuromyelitis optica and MS optic neuropathies. *Neurology* 73: 302-308.
- Bennett JL, de Seze J, Lana-Peixoto M, Palace J, Waldman A, et al. (2015) Neuromyelitis optica and multiple sclerosis: Seeing differences through optical coherence tomography. *Mult Scler* 21: 678-688.
- Mailankody P, Battu R, Khanna A, Lenka A, Yadav R, et al. (2015) Optical coherence tomography as a tool to evaluate retinal changes in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 21: 1164-1169.
- Larrosa JM, Garcia-Martin E, Bambo MP, Pinilla J, Polo V, et al. (2014) Potential new diagnostic tool for Alzheimer's disease using a linear discriminant function for Fourier domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55: 3043-3051.
- Ctori I, Huntjens B (2015) Repeatability of Foveal Measurements Using Spectralis Optical Coherence Tomography Segmentation Software. *PLoS One* 10: e0129005.
- Garcia-Martin E, Bambo MP, Marques ML, et al. (2016) Ganglion cell layer measurements correlate with disease severity in patients with Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol*.
- Albrecht P, Ringelstein M, Müller AK, Keser N, Dietlein T, et al. (2012) Degeneration of retinal layers in multiple sclerosis subtypes quantified by optical coherence tomography. *Mult Scler* 18: 1422-1429.
- Jindhra P, Petrie A, Plant GT (2009) Retrograde trans-synaptic retinal ganglion cell loss identified by optical coherence tomography. *Brain* 132: 628-634.
- Reich DS, Smith SA, Gordon-Lipkin EM, Ozturk A, Caffo BS, et al. (2009) Damage to the optic radiation in multiple sclerosis is associated with retinal injury and visual disability. *Arch Neurol* 66: 998-1006.
- Siger M, Dziegielewska K, Jasek L, Bieniek M, Nicpan A, et al. (2008) Optical coherence tomography in multiple sclerosis: thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss and brain atrophy. *J Neuro* 255:1555-1560.

Citation: Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, et al. (2016) Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window. *J Alzheimers Dis Parkinsonism* 6: 223. doi: [10.4172/2161-0460.1000223](https://doi.org/10.4172/2161-0460.1000223)

7. APORTACIONES DEL DOCTORANDO

Los artículos que conforman el cuerpo de esta tesis doctoral, aportan a la comunidad científica evidencia acerca de nuevas e inocuas herramientas para el diagnóstico tanto de la EA como de la fibromialgia.

Demostramos la correlación entre las alteraciones en los espesores de la CFNR, el análisis colorimétrico de la cabeza del nervio óptico y la función visual en la EA y en la fibromialgia.

El estudio de la colorimetría y de la CFNR cumple con una serie de requisitos para poder ser adaptado como biomarcador tanto en la EA como en la fibromialgia. Se trata de procedimientos no invadidos e inocuos de relativa sencillez en lo referente a su realización, ya que no requiere un entrenamiento excesivo por parte del examinador. La adquisición de las imágenes se lleva a cabo en pocos minutos y aporta datos con una elevada reproducibilidad y muy poca dependencia del examinador.

Los presentes estudios sugieren, por todo ello, que tanto la evaluación neurooftalmológica con realización de análisis de imágenes topográficas de la CFNR como el análisis colorimétrico de la cabeza del nervio óptico, pueden ser útiles en el diagnóstico y en el seguimiento de la EA y de la fibromialgia; así como para valorar la respuesta a los diferentes tratamientos en ambas enfermedades estimada como una ralentización en la progresión del daño axonal.

Como conclusión, se aporta un enfoque multidisciplinar en ambas enfermedades, en el caso de la EA basándose en la colaboración entre neurólogos y oftalmólogos; y en el de la fibromialgia entre psiquiatras y oftalmólogos; permitiendo esta colaboración la valoración de nuevos biomarcadores.

8. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

En el caso de la EA se vio comprometida la realización de algunas pruebas (como la campimetría) que requerían de la colaboración del paciente, lo que motivó la exclusión de algunos sujetos.

El estudio se llevó a cabo con unos criterios de inclusión-exclusión estrictos para evitar la presencia de factores de confusión que son habituales en la práctica clínica diaria y pueden alterar los resultados, como el glaucoma subclínico, las patologías oculares concomitantes o las enfermedades neurodegenerativas o sistémicas que dificultan la valoración de los resultados en los casos de la EA y fibromialgia.

La presencia de diferencias entre enfermos y sanos a pesar de ser estadísticamente significativa, cuantitativamente es de pequeña magnitud, lo que requiere del desarrollo de nuevas fórmulas que integren las mediciones con otras variables para darle una mayor fortaleza diagnóstica. Para ello, se requiere del desarrollo de nuevas y mejores técnicas de adquisición de imagen y de software para el análisis de las mismas. Para esto se proponen los siguientes diseños:

- Aumentar la cohorte de pacientes.
- Estudios prospectivos que clasifiquen la evolución del daño axonal.
- Desarrollo de estudios con los nuevos protocolos de segmentación de las diferentes capas de la retina.
- Análisis big-data o incorporación de técnicas de inteligencia artificial para mejorar la potencia diagnóstica de nuestras herramientas.

9. CONCLUSIONES

- I. La evaluación de la palidez de la cabeza del nervio óptico mediante el software Laguna ONhE es un biomarcador de daño axonal y de déficit de perfusión en pacientes con enfermedad de Alzheimer.
- II. Las alteraciones encontradas en la coloración del nervio óptico son consistentes con la reducción encontrada en el espesor de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con enfermedad de Alzheimer.
- III. El análisis de los niveles de hemoglobina en la cabeza del nervio óptico mediante el software Laguna ONhE nos aporta información acerca de los cambios de color y de la perfusión de la papila en los pacientes afectados de fibromialgia.
- IV. Se ha encontrado daño axonal subclínico a nivel de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes afectados de fibromialgia, detectable mediante tomografía de coherencia óptica de dominio espectral, incluso en los estadios más precoces de la enfermedad.
- V. El haz papilomacular en su sector temporal es el más afectado en los pacientes con enfermedad de Alzheimer o con fibromialgia.
- VI. Se demuestra un mayor daño axonal en los pacientes con fibromialgia biológica respecto a los que presentaban fibromialgia atípica o depresiva.
- VII. La enfermedad de Alzheimer causa pérdida axonal a nivel de la capa de fibras nerviosas de la retina y una disminución del espesor de la retina a nivel macular, especialmente en los sectores temporales.
- VIII. La pérdida axonal y la reducción del espesor macular en la fibromialgia son detectables mediante la tomografía de coherencia óptica de dominio espectral.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Serrano-Pozo, A., Frosch, M. P., Masliah, E. *et al.* Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **1**, a006189 (2011).
2. World Alzheimer Report 2018: The Global Impact of Dementia | Alzheimer's Disease International. at <<http://www.alz.co.uk/research/world-report-2018>>
3. Mayeux, R. & Stern, Y. Epidemiology of Alzheimer disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, (2012).
4. Sosa-Ortiz, A. L., Acosta-Castillo, I. & Prince, M. J. Epidemiology of dementias and Alzheimer's disease. *Arch. Med. Res.* **43**, 600–608 (2012).
5. Datos Estadística de Defunciones por Causa de Muerte - np896.pdf. at <<http://www.ine.es/prensa/np896.pdf>>
6. Tinetti, M. E. *et al.* Contribution of individual diseases to death in older adults with multiple diseases. *J. Am. Geriatr. Soc.* **60**, 1448–1456 (2012).
7. Wimo, A., Winblad, B. & Jönsson, L. The worldwide societal costs of dementia: Estimates for 2009. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **6**, 98–103 (2010).
8. Farrer, L. A. *et al.* Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* **278**, 1349–1356 (1997).
9. 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. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **7**, 263–269 (2011).
10. Markowitsch, H. J. & Staniloiu, A. Amnesic disorders. *Lancet Lond. Engl.* **380**, 1429–1440 (2012).
11. Han, L., Cole, M., Bellavance, F., McCusker, J. *et al.* Tracking cognitive decline in Alzheimer's disease using the mini-mental state examination: a meta-analysis. *Int. Psychogeriatr. IPA* **12**, 231–247 (2000).
12. Peters, M. E. *et al.* Neuropsychiatric symptoms as predictors of progression to severe Alzheimer's dementia and death: the Cache County Dementia Progression Study. *Am. J. Psychiatry* **172**, 460–465 (2015).

13. Larson, E. B. *et al.* Survival after initial diagnosis of Alzheimer disease. *Ann. Intern. Med.* **140**, 501–509 (2004).
14. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* **69**, 89–95 (2001).
15. Fiandaca, M. S., Mapstone, M. E., Cheema, A. K., *et al.* The critical need for defining preclinical biomarkers in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **10**, S196–212 (2014).
16. Harper, L., Barkhof, F., Scheltens, P., *et al.* An algorithmic approach to structural imaging in dementia. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **85**, 692–698 (2014).
17. Mueller, S. G. *et al.* The Alzheimer's disease neuroimaging initiative. *Neuroimaging Clin. N. Am.* **15**, 869–877, xi–xii (2005).
18. Weiner, M. W. *et al.* The Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative: a review of papers published since its inception. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **9**, e111–194 (2013).
19. Frisoni, G. B. *et al.* The pilot European Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative of the European Alzheimer's Disease Consortium. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **4**, 255–264 (2008).
20. Mueller, S. G. *et al.* Ways toward an early diagnosis in Alzheimer's disease: the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI). *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **1**, 55–66 (2005).
21. Perrin, R. J., Fagan, A. M. & Holtzman, D. M. Multimodal techniques for diagnosis and prognosis of Alzheimer's disease. *Nature* **461**, 916–922 (2009).
22. Teipel, S. *et al.* Multimodal imaging in Alzheimer's disease: validity and usefulness for early detection. *Lancet Neurol.* **14**, 1037–1053 (2015).
23. Sweeney, M. D., Sagare, A. P. & Zlokovic, B. V. Cerebrospinal fluid biomarkers of neurovascular dysfunction in mild dementia and Alzheimer's disease. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **35**, 1055–1068 (2015).
24. McKhann, G. *et al.* Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA Work Group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* **34**, 939–944 (1984).

25. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Edition, Text Revision.* (American Psychiatric Association, 2000).
26. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.* (American Psychiatric Association, 2013).
27. Flicker, C., Ferris, S. H. & Reisberg, B. Mild cognitive impairment in the elderly: predictors of dementia. *Neurology* **41**, 1006–1009 (1991).
28. Ritchie, K. Mild cognitive impairment: an epidemiological perspective. *Dialogues Clin. Neurosci.* **6**, 401–408 (2004).
29. Tierney, M. C. *et al.* Prediction of probable Alzheimer's disease in memory-impaired patients: A prospective longitudinal study. *Neurology* **46**, 661–665 (1996).
30. 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. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* **7**, 280–292 (2011).
31. Huang, Y. & Mucke, L. Alzheimer Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Cell* **148**, 1204–1222 (2012).
32. Matsunaga, S., Kishi, T. & Iwata, N. Memantine monotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *PloS One* **10**, e0123289 (2015).
33. Rafii, M. S. & Aisen, P. S. Advances in Alzheimer's Disease Drug Development. *BMC Med.* **13**, (2015).
34. Sperling, R., Mormino, E. & Johnson, K. The Evolution of Preclinical Alzheimer's Disease: Implications for Prevention Trials. *Neuron* **84**, 608–622 (2014).
35. Sadun, A. A., Borchert, M., DeVita, E., *et al* Assessment of visual impairment in patients with Alzheimer's disease. *Am. J. Ophthalmol.* **104**, 113–120 (1987).
36. Katz, B. & Rimmer, S. Ophthalmologic manifestations of Alzheimer's disease. *Surv. Ophthalmol.* **34**, 31–43 (1989).
37. Cogan, D. G. Visual disturbances with focal progressive dementing disease. *Am. J. Ophthalmol.* **100**, 68–72 (1985).

38. Mendez, M. F., Mendez, M. A., Martin, R., *et al* Complex visual disturbances in Alzheimer's disease. *Neurology* **40**, 439–443 (1990).
39. 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).
40. Lewis, D. A., Campbell, M. J., Terry, R. D., *et al*. Laminar and regional distributions of neurofibrillary tangles and neuritic plaques in Alzheimer's disease: a quantitative study of visual and auditory cortices. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **7**, 1799–1808 (1987).
41. Crutch, S. J. *et al*. Posterior cortical atrophy. *Lancet Neurol.* **11**, 170–178 (2012).
42. Renner, J. A. *et al*. Progressive posterior cortical dysfunction: a clinicopathologic series. *Neurology* **63**, 1175–1180 (2004).
43. Bokde, A. L. *et al*. The effect of brain atrophy on cerebral hypometabolism in the visual variant of Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* **58**, 480–486 (2001).
44. 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).
45. Andrade, K. *et al*. Visuospatial deficits in posterior cortical atrophy: structural and functional correlates. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **83**, 860–863 (2012).
46. Hof, P. R., Bouras, C., Constantinidis, J. & Morrison, J. H. Selective disconnection of specific visual association pathways in cases of Alzheimer's disease presenting with Balint's syndrome. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **49**, 168–184 (1990).
47. Wolfe F, Smythe HA, Yunus MB, *et al*; Report of the Multicenter Criteria Committee. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of fibromyalgia. *Arthritis Rheum.* 1990;33(2):160-172.
48. Wolfe F, Ross K, Anderson J, *et al* The prevalence and characteristics of fibromyalgia in the general population. *Arthritis Rheum.* 1995;38(1):19-28.
49. McBeth J, Jones K. Epidemiology of chronic musculoskeletal pain. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2007;21(3):403-425.
50. Vincent A, Lahr BD, Wolfe F, *et al*. Prevalence of fibromyalgia: a population-based study in Olmsted County, Minnesota, utilizing the Rochester Epidemiology Project. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(5):786-792.

51. Bradley LA, McKendree-Smith NL. Central nervous system mechanisms of pain in fibromyalgia and other musculoskeletal disorders: behavioral and psychologic treatment approaches. *Curr Opin Rheumatol*. 2002;14:45-51.
52. Montoya MG, Martín AP, Salio AM, *et al*. Documento de Consenso interdisciplinar para el tratamiento de la fibromialgia. *Actas Esp Psiquiatr* 2010;38(2):108-120.
53. Quitner, International Statistical Classification of Diseases and Related Problems. ICD-10. WHO, Geneva. 1992.
54. Valentine M. Aetiology of fibrositis: a review. *Ann Rheum Dis*. 1947;6:241-250.
55. Carmona L, Ballina FJ, Gabriel R, Laffon A, EPISER Study Group. The burden of musculoskeletal diseases in the general population of Spain: results from a nationwide study. *Ann Rheum Dis* 2001;60:1040-1045.
56. Sicras-Mainar A, Blanca-Tamayo M, Navarro-Artieda R, *et al*. Use of resources and costs profile in patients with fibromyalgia or generalized anxiety disorder in primary care settings. *Aten Primaria* 2009;41:77-84.
57. Buskila D, Neumann L. Fibromyalgia syndrome (FM) and nonarticular tenderness in relatives of patients with FM. *J Rheumatol*. 1997;24:941-944.
58. Crofford LJ, Demitrack MA. Evidence that abnormalities of central neurohormonal systems are key to understanding fibromyalgia and chronic fatigue syndrome. *Rheum Dis Clin North Am*. 1996;22:267-284.
59. Wolfe F, Clauw J, Fitzcharles MA, *et al*. Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia and Measurement of Symptom Severity. *Arthritis Care & Research*. 2010;62(5):600-610.
60. Fishbain D. Evidence-based data on pain relief with antidepressants. *Ann Med*. 2000;32(5): 305-316.
61. Hauser W, Wolfe F, Tolle T, *et al*. The role of antidepressants in the management of fibromyalgia syndrome: a systematic review and meta-analysis. *CNS Drugs*. 2012;26(4): 297-307.
62. Russell IJ, Holman AJ, Swick TJ, *et al*; Sodium Oxybate 06-008 FM Study Group. Sodium oxybate reduces pain, fatigue, and sleep disturbance and improves functionality in fibromyalgia: results from a 14-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pain*. 2011;152(5):1007-1017.
63. Foerster BR, Petrou M, Edden RA, *et al*. Reduced insular γ -aminobutyric acid in fibromyalgia. *Arthritis Rheum*. 2012;64(2):579-583.

64. Harris RE, Napadow V, Huggins JP, et al. Pregabalin rectifies aberrant brain chemistry, connectivity, and functional response in chronic pain patients. *Anesthesiology*. 2013;119(6):1453-1464.
65. Younger J, Mackey S. Fibromyalgia symptoms are reduced by low-dose naltrexone: a pilot study. *Pain Med*. 2009;10(4):663-672.
66. Brummett CM, Janda AM, Schueller CM, et al. Survey criteria for fibromyalgia independently predict increased postoperative opioid consumption after lower-extremity joint arthroplasty: a prospective, observational cohort study. *Anesthesiology*. 2013;119(6):1434-1443.
67. Williams DA, Cary MA, Groner KH, et al. Improving physical functional status in patients with fibromyalgia: a brief cognitive behavioural intervention. *J Rheumatol*. 2002;29(6):1280-1286.
68. Goldenberg DL, Burckhardt C, Crofford L. Management of fibromyalgia syndrome. *JAMA*. 2004;292(19):2388-2395.
69. Caro XJ, Winter EF, Dumas AJ. A subset of fibromyalgia patients have findings suggestive of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and appear to respond to IVIg. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(2):208-211.
70. Hargrove JBBR, Bennett RM, Simons DG, et al. A randomized placebo-controlled study of noninvasive cortical electrostimulation in the treatment of fibromyalgia patients. *Pain Med*. 2012;13(1):115-124.
71. Morrison JC. The microanatomy of the optic nerve. En: Drance sm (ed). *Optic nerve in glaucoma*. Amsterdam: kugler; 1995. p. 57-78.
72. Ramirez JM, Triviño A, Salazar JJ et al. Organización microscópica de la cabeza del nervio óptico. En: Honrubia FM, García-Sánchez J, Pastor JC. (eds). *Diagnóstico precoz del glaucoma*. Zaragoza: Edelvives, 1997. p. 145-79.
73. Fitzgibbon T, Taylor SF. Retinotomy of the human retina nerve fiber layer and optic nerve head. *J Comp Neurol* 1996;375:238-251.
74. Jonas JB, Gusek GC, Naumann GOH. Optic disc cup and neuroretinal rim size, configuration and correlations in normal eyes. *Invest Ophthalmol Bis Sci* 1998;29:1151-1158.
75. Varma R, Tielsch JM, Quigley HA, et al. Race-, age-, gender-, and refractive error-related differences in the normal optic disc. *Arch Ophthalmol* 1994;112:1068-1076.

76. Huang D, Swanson EA, Lin CP, *et al.* Optical coherence tomography. *Science* 1991; 254:1178–1181.
77. Casado A, Rebolleda G, Guerrero L, *et al.* Measurement of retinal nerve fiber layer and macular ganglion cell-inner plexiform layer with spectral-domain optical coherence tomography in patients with optic nerve head drusen. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2014.
78. González de la Rosa M, González-Hernández M, Sigut J, *et al.* Measuring hemoglobin levels in the Optic Nerve Head: comparisons with other structural and functional parameters of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013;1(54):482-8.
79. Pinilla J, Garcia-Martin E, Polo V. Correlación del grosor de las capas de la retina con la gravedad en la enfermedad de Alzheimer [Trabajo de Fin de Máster en Internet]. [Zaragoza]: Universidad de Zaragoza; 2014. Recuperado a partir de: <https://zaguan.unizar.es/record/31329?ln=es#>
79. Bailey, I. L. & Lovie, J. E. New design principles for visual acuity letter charts. *Am. J. Optom. Physiol. Opt.* **53**, 740–745 (1976).
80. Grigsby, S. S., Vingrys, A. J., Benes, S. C. *et al.* Correlation of chromatic, spatial, and temporal sensitivity in optic nerve disease. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **32**, 3252–3262 (1991).
81. Almog, Y. & Nemet, A. The correlation between visual acuity and color vision as an indicator of the cause of visual loss. *Am. J. Ophthalmol.* **149**, 1000–1004 (2010).
82. Pache, M. *et al.* Colour vision deficiencies in Alzheimer's disease. *Age Ageing* **32**, 422–426 (2003).
83. Price, M. J., Feldman, R. G., Adelberg, D. *et al.* Abnormalities in color vision and contrast sensitivity in Parkinson's disease. *Neurology* **42**, 887–890 (1992).
84. Savaskan, E. *et al.* Distribution of melatonin MT1 receptor immunoreactivity in human retina. *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc.* **50**, 519–526 (2002).
85. Savaskan, E. *et al.* Distribution of melatonin MT1 receptor immunoreactivity in human retina. *J. Histochem. Cytochem. Off. J. Histochem. Soc.* **50**, 519–526 (2002).
86. Heijl, A., Lindgren, A. & Lindgren, G. Test-retest variability in glaucomatous visual fields. *Am. J. Ophthalmol.* **108**, 130–135 (1989).

11. APÉNDICES

APÉNDICE I: FACTOR DE IMPACTO DE LAS REVISTAS Y ÁREAS TEMÁTICAS

1. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Pinilla J, Perez-Olivan S, Larrosa JM, Polo V, Pablo L. Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: a potential new biomarker. Clin Neurol Neurosurg. 2015;132:68-73. doi: 10.1016/j.clineuro.2015.02.016. Epub 2015 Mar 9. PubMed PMID: 25797847.

Revista: Clinical Neurology and neurosurgery

Áreas temáticas: Neurología Clínica / Cirugía

Índice de Impacto (JCR 2013): 1,248

Posición entre las revistas de Neurología clínica (JCR 2016):. Cuartil 4.

Posición entre las revistas de Cirugía (JCR 2016): Cuartil 3.

ISSN: 0303-8467

Factor de impacto (JCR 2016): 1.381

Eigenfactor: **0.010070**

2. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Magallon R, Roca M, Garcia-Campayo J, Perez-Olivan S, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE. Study of perfusion changes in the optic disc of patients with fibromyalgia syndrome using new colorimetric analysis software. J Fr Ophtalmol. 2015;38(7):580-7. doi: 10.1016/j.jfo.2015.01.010. Epub 2015 May 11. PubMed PMID: 25976129.

Revista: Journal Française d'Ophtalmologie

Área temática: Oftalmología

Posición entre las revistas de oftalmología en el JCR 2015:.. Cuartil 4.

ISSN: 01815512

:Factor de impacto (JCR 2015): 0.567

Eigenfactor: 0.001100

3. Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, Vilades E, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. Fibromyalgia is correlated with retinal nerve fiber layer thinning. PLoS One. 2016;11(9):e0161574. doi: 10.1371/journal.pone.0161574. eCollection 2016. PubMed PMID: 27584145; PubMed Central PMCID: PMC5008644.

Revista: Plos One

Área temática: Ciencias multidisciplinares

Índice de Impacto (JCR 2016): 2,806

Posición entre las revistas de Ciencias Multidisciplinares (Multidisciplinary Sciences) en el JCR 2016: Cuartil 1.

ISSN: 1932-6203

Open Access

:Eigenfactor: 1.921760

4. Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, Villages E, Gil-Arribas L, Pablo LE. Retinal and optic disc alterations in Alzheimer's disease: the eye as a potential central nervous system window. J Alzheimers Dis Parkinsonism 2016;6:223. doi: 10.4172/2161-0460.1000223

Revista: Journal of Alzheimers Disease and Parkinsonism

Área temática: Neurología

APÉNDICE II: JUSTIFICACIÓN DE LA CONTRIBUCIÓN DEL DOCTORANDO.

1. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Pinilla J, Perez-Olivan S, Larrosa JM, Polo V, Pablo L. Analysis of optic disk color changes in Alzheimer's disease: a potential new biomarker. Clin Neurol Neurosurg. 2015 May;132:68-73. doi: 10.1016/j.clineuro.2015.02.016. Epub 2015 Mar 9. PubMed PMID: 25797847.

El doctorando realizó todo el trabajo de campo con los pacientes y las pruebas oftalmológicas, coordinó el resto de pruebas, realizó la recogida de datos y participó en la realización de los diversos análisis estadísticos, en la redacción, revisión y corrección del artículo científico.

2. Bambo MP, Garcia-Martin E, Gutierrez-Ruiz F, Magallon R, Roca M, Garcia-Campayo J, Perez-Olivan S, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE. Study of perfusion changes in the optic disc of patients with fibromyalgia syndrome using new colorimetric analysis software. J Fr Ophtalmol. 2015 Sep;38(7):580-7. doi: 10.1016/j.jfo.2015.01.010. Epub 2015 May 11. PubMed PMID: 25976129.

El doctorando realizó todo el trabajo de campo con los pacientes y las pruebas oftalmológicas, coordinó el resto de pruebas, realizó la recogida de datos y participó en la realización de los diversos análisis estadísticos, en la redacción, revisión y corrección del artículo científico.

3. Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, Vilades E, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. Fibromyalgia Is Correlated with Retinal Nerve Fiber Layer Thinning. PLoS One. 2016 Sep 1;11(9):e0161574. doi: 10.1371/journal.pone.0161574. eCollection 2016. PubMed PMID: 27584145; PubMed Central PMCID: PMC5008644.

El doctorando realizó todo el trabajo de campo con los pacientes y las pruebas oftalmológicas, coordinó el resto de pruebas, realizó la recogida de datos y participó en la realización de los diversos análisis estadísticos, en la redacción, revisión y corrección del artículo científico.

4. Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, Vilades E, Gil-Arribas L, Pablo LE. Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window. J Alzheimers Dis Parkinsonism 2016;6:223a r

El doctorando realizó todo el trabajo de campo con los pacientes y las pruebas oftalmológicas, coordinó el resto de pruebas, realizó la recogida de datos y participó en la realización de los diversos análisis estadísticos, en la redacción, revisión y corrección del artículo científico.

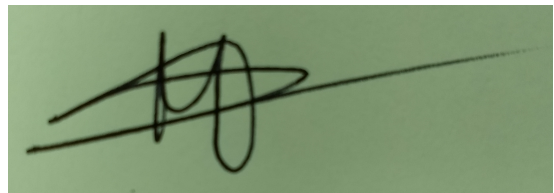
APÉNDICE III: RENUNCIA DE LOS COAUTORES NO DOCTORES A PRESENTAR LOS TRABAJOS CITADOS EN OTRA TESIS DOCTORAL.

Yo, Marta Puebla Guedea, que figuro como coautor en el siguiente artículo:

Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, Vilades E, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. Fibromyalgia Is Correlated with Retinal Nerve Fiber Layer Thinning. PLoS One. 2016;11(9):e0161574.

Renuncio a presentar dicho trabajo como parte de mi tesis doctoral.

En Zaragoza, a 17 de Octubre de 2018.

A handwritten signature in black ink on a light green background. The signature is stylized and appears to be 'MP' followed by a long horizontal line extending to the right.

Fdo: Marta Puebla

Yo, Elisa Vilades Palomar, que figuro como coautora en los siguientes artículos:

Bambo MP, Garcia-Martin E, Larrosa JM, Polo V, Gutiérrez-Ruiz F, Vilades E, Gil-Arribas L, Pablo LE. Retinal and Optic Disc Alterations in Alzheimer's Disease: the Eye as a Potential Central Nervous System Window. J Alzheimers Dis Parkinsonism 2016;6:223 3

Garcia-Martin E, Garcia-Campayo J, Puebla-Guedea M, Ascaso FJ, Roca M, Gutierrez-Ruiz F, Vilades E, Polo V, Larrosa JM, Pablo LE, Satue M. Fibromyalgia Is Correlated with Retinal Nerve Fiber Layer Thinning. PLoS One. 2016;11(9):e0161574.

Renuncio a presentar dicho trabajo como parte de mi tesis doctoral.

En Zaragoza, a 17 de Octubre de 2018.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Elisa Vilades Palomar', with a long horizontal stroke extending to the right.

Fdo: Elisa Vilades Palomar

12. ANEXOS

ANEXO 1: RESOLUCIÓN FAVORABLE DEL COMITÉ ÉTICO DE ARAGÓN

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE

Se le va a realizar una evaluación de su función visual. Con el objetivo de mejorar continuamente la calidad asistencial a los pacientes, los Servicios de Oftalmología, Neurología y Neurofisiología del Hospital Miguel Servet de Zaragoza están desarrollando un estudio de investigación en que se pretende cuantificar la afectación visual en pacientes del área sanitaria.

Para ello se le llevarán a cabo las exploraciones enumeradas a continuación: agudeza visual (que consiste en cuantificar cuántas letras puede usted discriminar a 6 metros de distancia), sensibilidad al contraste (que consiste en cuantificar cuántas letras puede usted discriminar a 1 metro de distancia variando la luminosidad de las letras), visión de colores (que consiste en cuantificar si es capaz de distinguir los colores entre si), Tomografía de coherencia óptica (que consiste en una fotografía del ojo que nos permite observar sus estructuras), Potenciales evocados visuales y Electroretinograma (que son dos pruebas en las que usted deberá mirar un punto fijo en una pantalla mientras le registramos su actividad cerebral con un casco colocado sobre su cabeza). Todas estas exploraciones son no invasivas ni dolorosas y se llevarán a cabo en las consultas externas del Hospital Miguel Servet, en una revisión a cargo del Servicio de Oftalmología y otra del Servicio de Neurofisiología. Estas pruebas nos permiten evaluar el estado de su sistema visual y detectar la presencia de patologías del mismo en caso de que existan, posibilitando así su posterior tratamiento si se considerara adecuado.

Su participación en este estudio no implica la realización de exploraciones complementarias que no le serían realizadas en caso de no participar en el mismo, sino la aceptación de que, de modo absolutamente confidencial, sean recogidos y utilizados los resultados de sus exploraciones con el objetivo de dicho proyecto de investigación. Su participación es voluntaria y puede abandonar el estudio en el momento en que lo decida, sin que esto tenga repercusión alguna en su atención sanitaria futura.

El equipo investigador encargado de dicho estudio serán las doctoras Elena García Martín y María Pilar Bambó Rubio, oftalmólogas del Hospital Miguel Servet de Zaragoza; con las que podrá contactar a lo largo del estudio en cualquier momento que así lo desee, acudiendo al servicio de oftalmología de dicho hospital.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: “Evaluación de la función visual y de la capa de fibras nerviosas de la retina en pacientes con enfermedad de Alzheimer”.

Yo, (nombre y apellidos) he leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio, habiendo recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en el momento en que lo desee, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercute en mis cuidados médicos.

De este modo, presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y para que mis datos clínicos sean revisados para los fines del mismo, consciente de que este consentimiento es revocable.

Firma del paciente

DNI:

Fecha:

Firma del representante legal:

DNI:

Fecha:

Como investigador del estudio he explicado la naturaleza y el propósito del mismo al paciente mencionado.

Firma del investigador

Nº Colegiado:

Fecha:

/CEIC Aragón (CEICA)

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 Nº 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:


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

COMPOSICIÓN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA DE ARAGÓN

Dra. María González Hinjós, 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 Aibar Remón; Médico. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Profesional Sanitario experto en epidemiología clínica.
- **Secretaria:** María González Hinjós; 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 Bellc;** 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 Ejarque;** 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


Firmado: María González Hinjós
INVESTIGACIÓN CLÍNICA



ANEXO 2: RESOLUCIÓN FAVORABLE COMITÉ ÉTICO DE ARAGÓN

HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL PACIENTE

Título del estudio: “Evaluación de la función visual y valoración de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de disfunción neurológica en pacientes con Fibromialgia”.

Lea detenidamente la información y pregunte a su médico cualquier duda que tenga.

La fibromialgia es una enfermedad caracterizada por un grupo de síntomas y trastornos músculoesqueléticos poco entendidos, que se caracteriza fundamentalmente por fatiga extrema, dolor persistente, rigidez de intensidad variable de los músculos, tendones y tejido blando circundante, y un amplio rango de otros posibles síntomas psicológicos, como dificultades para dormir, rigidez matutina, dolores de cabeza y problemas con el pensamiento y la memoria, que suelen impedir el funcionamiento rutinario del sujeto. Puesto que, aun hoy en día, su diagnóstico y tratamiento sigue siendo tema de controversia; pretendemos con este estudio ayudar a esclarecer las causas que intervienen en esta enfermedad mediante la evaluación estructural del nervio óptico y si existe algún tipo de alteración en la función y calidad visual de estos pacientes.

Se le realizarán una serie de pruebas oftalmológicas que implicarán su colaboración y dilatación de la pupila en algunos casos. No serán dolorosas ni suponen ningún riesgo para usted o para sus ojos. Las pruebas funcionales como la evaluación de la agudeza visual, test de visión de colores o de sensibilidad al contraste pueden tardar en realizarse entre 3 y 7 minutos, mientras que las pruebas de imagen se completan en unos pocos segundos. En todo momento será informado sobre su estado y sobre los hallazgos encontrados en las pruebas.

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria y puede negarse a participar así como retirarse libremente en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. Su participación o no en el estudio no condicionará la calidad de la atención médica que pueda requerir. Aunque los datos de las pruebas sean almacenados y analizados por ordenador, se mantendrá una estricta confidencialidad en todo momento de su historia clínica. En caso de publicarse los resultados de este estudio, no se utilizarán su nombre o sus datos personales.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: “Evaluación de la función visual y valoración de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de disfunción neurológica en pacientes con Fibromialgia”.

Yo, (nombre y apellidos) he leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio, habiendo recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en el momento en que lo desee, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

De este modo, presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y para que mis datos clínicos sean revisados para los fines del mismo, consciente de que este consentimiento es revocable.

Firma del paciente

DNI:

Fecha:

Firma del representante legal:

DNI:

Fecha:

Como investigador del estudio he explicado la naturaleza y el propósito del mismo al paciente mencionado.

Firma del investigador

Nº Colegiado:

Fecha:

HOJA DE INFORMACIÓN PARA EL CONTROL SANO

Título del estudio: “Evaluación de la función visual y valoración de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de disfunción neurológica en pacientes con Fibromialgia”.

Lea detenidamente la información y pregunte a su médico cualquier duda que tenga.

La fibromialgia es una enfermedad caracterizada por un grupo de síntomas y trastornos músculoesqueléticos poco entendidos, que se caracteriza fundamentalmente por fatiga extrema, dolor persistente, rigidez de intensidad variable de los músculos, tendones y tejido blando circundante, y un amplio rango de otros posibles síntomas psicológicos, como dificultades para dormir, rigidez matutina, dolores de cabeza y problemas con el pensamiento y la memoria, que suelen impedir el funcionamiento rutinario del sujeto. Puesto que, aun hoy en día, su diagnóstico y tratamiento sigue siendo tema de controversia; pretendemos con este estudio ayudar a esclarecer las causas que intervienen en esta enfermedad mediante la evaluación estructural del nervio óptico y si existe algún tipo de alteración en la función y calidad visual de estos pacientes.

Usted va a participar como control sano, de tal manera que los resultados obtenidos durante la exploración oftalmológica se compararán con la de los pacientes afectados de fibromialgia para ver si existe algún tipo de diferencia relevante.

Se le realizarán una serie de pruebas oftalmológicas que implicarán su colaboración y dilatación de la pupila en algunos casos. No serán dolorosas ni suponen ningún riesgo para usted o para sus ojos. Las pruebas funcionales como la evaluación de la agudeza visual, test de visión de colores o de sensibilidad al contraste pueden tardar en realizarse entre 3 y 7 minutos, mientras que las pruebas de imagen se completan en unos pocos segundos. En todo momento será informado sobre su estado y sobre los hallazgos encontrados en las pruebas.

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria y puede negarse a participar así como retirarse libremente en cualquier momento sin tener que dar explicaciones. Su participación o no en el estudio no condicionará la calidad de la atención médica que pueda requerir. Aunque los datos de las pruebas sean almacenados y analizados por ordenador, se mantendrá una estricta confidencialidad en todo momento de su historia clínica. En caso de publicarse los resultados de este estudio, no se utilizarán su nombre o sus datos personales.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: “Evaluación de la función visual y valoración de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de disfunción neurológica en pacientes con Fibromialgia”.

Yo, (nombre y apellidos) he leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio, habiendo recibido suficiente información sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en el momento en que lo desee, sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

De este modo, presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y para que mis datos clínicos sean revisados para los fines del mismo, consciente de que este consentimiento es revocable.

Firma del paciente

DNI:

Fecha:

Firma del representante legal:

DNI:

Fecha:

Como investigador del estudio he explicado la naturaleza y el propósito del mismo al paciente mencionado.

Firma del investigador

Nº Colegiado:

Fecha:

/CEIC Aragón (CEICA)

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

CERTIFICA

1º. Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 05/09/2012, Acta Nº CP15/2012 ha evaluado la propuesta del investigador referida al estudio:

Título: Evaluación de la función visual y valoración de la capa de fibras nerviosas de la retina como marcador de disfunción neurológica en pacientes con Fibromialgia.

Investigador Principal: Elena García Martín. HU Miguel Servet

Versión Protocolo: julio/ 2012

Hoja de información al paciente y consentimiento informado

julio/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.**

Lo que firmo en Zaragoza, a 5 de septiembre de 2012

Fdo:



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

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 5 de septiembre de 2012, correspondiente al Acta nº CP15/2012, 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.

2º El CEIC de Aragón, tanto en su composición, como en sus PNT, cumple con las normas de BPC.

3º La composición del CEIC de Aragón en la citada fecha, era la siguiente:

- **Presidente:** Carlos Aibar Remón; Médico. Servicio de Medicina Preventiva y Salud Pública. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Profesional Sanitario experto en epidemiología clínica.
- **Vicepresidente:** Cesar Loris Pablo; Médico. Servicio de Pediatría. Hospital Universitario Miguel Servet. Representante de Comisión de Investigación.
- **Secretaria:** María González Hinjos; Farmacéutica.
- **Pilar Comet Cortés;** Enfermera. Unidad Mixta de Investigación. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.
- **Ignacio Jlménez López;** Médico. Investigador del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.
- **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 Idolpe 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 Bello;** 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 Ejarque;** 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.
- **Diego Serrano Gómez;** Biólogo. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.
- **Mónica Torrijos Tejada;** Médico. Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud.

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

Zaragoza, a 5 de septiembre de 2012



Criterios diagnósticos DSM-IV para el diagnóstico de la Enfermedad de Alzheimer

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

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 test 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 hipertonía, 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 4: Mini Mental State Examination (MMSE)

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 delirium⁹¹ (Figura 27).

Baremo de puntuaciones:

- Entre 30 y 27: Sin Deterioro.
- Entre 26 y 25: Dudoso 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 para obtener los criterios diagnósticos de la enfermedad (anexo II).

¿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, pídale que deletree la palabra MUNDO al revés. 30 0-1 27 0-1 24 0-1 21 0-1 18 0-1 (0 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)	
.DENOMINACIÓN: 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 .REPETICIÓN. Pedirle que repita la frase: "ni sí, ni no, ni pero" (o "En un trigal había 5 perros") 0-1 .ÓRDENES. Pedirle que siga la orden: "coja un papel con la mano derecha, dóblelo por la mitad, y póngalo en el suelo". Coje con mano d. 0-1 dobla por mitad 0-1 pone en suelo 0-1 .LECTURA. Escriba legiblemente en un papel "Cierre los ojos". Pídale que lo lea y haga lo que dice la frase 0-1 .ESCRITURA. Que escriba una frase (con sujeto y predicado) 0-1 .COPLA. Dibuje 2 pentágonos intersectados y pida al sujeto que los copie tal cual. Para otorgar un punto deben estar presentes los 10 ángulos 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)	

Figura 27. Adaptación del Mini Mental State Examination del Dr. Lobo.

ANEXO 5: ESCALA DE SEVERIDAD DE LA FATIGA (FSS)

ESCALA DE LA SEVERIDAD DE LA FATIGA

Durante la pasada semana he encontrado que:	Completamente en desacuerdo			Ni de acuerdo ni en desacuerdo			Completamente de acuerdo
	1	2	3	4	5	6	7
1. Mi motivación es menor cuando estoy fatigado	1	2	3	4	5	6	7
2. El ejercicio me hace que este fatigado.	1	2	3	4	5	6	7
3. Me fatigo fácilmente	1	2	3	4	5	6	7
4. La fatiga interfiere en mi funcionamiento físico.	1	2	3	4	5	6	7
5. La fatiga me causa problemas frecuentemente.	1	2	3	4	5	6	7
6. La fatiga me impide un funcionamiento físico prolongado.	1	2	3	4	5	6	7
7. La fatiga interfiere en llevar a cabo algunas labores y responsabilidades.	1	2	3	4	5	6	7
8. La fatiga está entre uno de los síntomas que más me invalidan.	1	2	3	4	5	6	7
9. La fatiga interfiere en mi trabajo, familia y vida social.	1	2	3	4	5	6	7

ANEXO 6: FIBROMIALGIA IMPACT QUESTIONNAIRE

Fibromyalgia Impact Questionnaire (FIQ) Versión en español

INSTRUCCIONES: En las preguntas que van de la a a la i, por favor rodee con un círculo el número que mejor describa cómo se encontró en general durante la última semana. Si no tiene costumbre de realizar alguna de las siguientes actividades, tache la pregunta.

1. Ha sido usted capaz de:

	Siempre	La mayoría de las veces	En ocasiones	Nunca
a. Hacer la compra	0	1	2	3
b. Hacer la colada con lavadora	0	1	2	3
c. Preparar la comida	0	1	2	3
d. Lavar los platos y los cacharros de la cocina a mano	0	1	2	3
e. Pasar la fregona, la mopa o la aspiradora	0	1	2	3
f. Hacer las camas	0	1	2	3
g. Caminar varias manzanas	0	1	2	3
h. Visitar a amigos / parientes	0	1	2	3
i. Utilizar transporte público	0	1	2	3

2. ¿Cuántos días de la última semana se sintió bien?

0 1 2 3 4 5 6 7

3. ¿Cuántos días de la última semana faltó usted al trabajo por causa de su fibromialgia? (Si no trabaja usted fuera de casa, deje esta pregunta en blanco)

0 1 2 3 4 5

(En las siguientes preguntas, ponga una marca como esta | en el punto de la línea que mejor indique cómo se sintió en general durante la última semana)

4. Cuando fue a trabajar, ¿cuánta dificultad le causaron el dolor u otros síntomas de su fibromialgia en el desempeño de su trabajo?

Sin Mucha
problema dificultad

5. ¿Cómo ha sido de fuerte el dolor?

Sin Dolor
dolor muy fuerte

6. ¿Cómo se ha encontrado de cansada?

Nada Muy
cansada cansada

7. ¿Cómo se ha sentido al levantarse por las mañanas?

Bien Muy cansada

8. ¿Cómo se ha notado de rígida o agarrotada?

Nada Muy
rígida rígida

9. ¿Cómo se ha notado de nerviosa, tensa o angustiada?

Nada Muy
nerviosa nerviosa

10. ¿Cómo se ha sentido de deprimida o triste?

Nada Muy
Deprimida deprimida

ANEXO 7: ESCALA FIS

	No problem 0	Small problem 1	Moderate problem 2	Big problem 3	Extreme problem 4
1. Because of fatigue, I feel less alert.					
2. Because of fatigue, I have to reduce my workload or responsibilities.					
3. Because of fatigue, I am less motivated to do anything that requires physical effort.					
4. Because of fatigue, I have trouble maintaining physical effort for long periods.					
5. Because of fatigue, I find it difficult to make decisions					
6. Because of fatigue, I am less able to finish tasks that require thinking.					
7. Because of fatigue, I feel slowed down in my thinking.					
8. Because of fatigue, I have to limit my physical activities.					