

NUEVAS TERAPIAS MOLECULARES EN LA LUCHA CONTRA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

TRABAJO FIN DE GRADO

Autor: Sara Delgado Gómez

Tutor: Ángel José Acebes Vindel

Área de conocimiento: Fisiología

Facultad: Ciencias de la salud - Sección de Farmacia

ÍNDICE

1. ABSTRACT	3
2. ABREVIATURAS	3
3. INTRODUCCIÓN	3
3.1 El Alzheimer como enfermedad neurodegenerativa	3
3.2 Factores de riesgo	4
3.3 Tratamiento	4
3.4 Biomarcadores anatomopatológicos	4
3.5 Búsqueda de biomarcadores	6
4. OBJETIVO	7
5. RESULTADOS	7
5.1 AMBAR	7
5.2 Neurogénesis	9
5.3 Neurofilamento ligero	13
5.4 La retina como biomarcador de Alzheimer	16
6. DISCUSIÓN	19
7. CONCLUSIÓN	20
8. BIBLIOGRAFÍA	20

1. ABSTRACT

Alzheimer's is a neurodegenerative disease that affects millions of individuals. Despite involving a diversity of risk factors and being related to the lifestyle, the longevity seems to be the most relevant one.

Even though it is currently incurable, there exists a symptomatic treatment. Until the last decade, most studies has focused on anatomopathological markers: the plaques of beta-amyloid peptide and the tangles of the Tau protein.

Due to this lack of an effective treatment, the researchers have been attempting to characterize new Alzheimer's biomarkers. The Final Project has evaluated: 1)the modifications in the retina microvasculature, which offers a possibility to brain changes, and 2)the alterations of the light neurofilament protein levels. This protein is not only released when the neurodegenerative processes are present, but also 16 years before the symptoms of the disease appear.

In addition, we have also assessment the AMBAR study, as a new treatment against Alzheimer's. It consists of a plasma replacement for therapeutic albumin in order to facilitate the elimination of beta-amyloid peptide. Finally, it has been analysed a great novel scientific approach related to the hippocampal neurogenesis in adults, that is present up to 90 years and also seems to be reduced in Alzheimer's patients.

2. ABREVIATURAS

A β : Beta-amiloide.

LCR: Líquido ceforraquídeo.

DG: Giro dentado humano.

AHN: Neurogénesis del hipocampo adulto.

DCX: Doblecortina.

Nfl: Neurofilamento ligero.

EYO: Año estimado del inicio de los síntomas.

MMSE: Mini-Mental State Examination.

DCL: Deterioro cognitivo leve.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 El Alzheimer como enfermedad neurodegenerativa.

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa crónica y progresiva asociada a una pérdida de memoria y a un deterioro cognitivo que conduce finalmente a la muerte.

Hoy en día 50 millones de personas padecen algún tipo de demencia. La enfermedad de Alzheimer es la principal causa de demencia y representa entre el 60%-80%. Dado el envejecimiento masivo y progresivo de la población, se prevé que estas cifras se dupliquen cada 20 años⁽¹⁾.

En España, su prevalencia se sitúa entre 350.000–380.000 casos⁽²⁾, de este valor 16.000 casos se sitúan en las islas Canarias⁽³⁾. Este valor es tan elevado en las islas debido a que la prevalencia en los factores de riesgo son mayores que en otras regiones de España^(4,5).

La enfermedad de Alzheimer consta de tres etapas que difieren según el avance de los trastornos cognitivos⁽⁶⁾: 1) Preclínica, sin o con deterioro cognitivo sutil, 2) Deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria episódica, y 3) Demencia, deterioro cognitivo y funcional.

3.2 Factores de riesgo

Entre los factores de riesgo conocidos del Alzheimer se encuentran: edad^(1,7), inactividad física, obesidad, consumo del tabaco y alcohol, diabetes e hipertensión^(1,8).

La edad es el principal factor de riesgo^(1,7), siendo mayor si hay antecedentes en la familia⁽⁹⁾. Otro factor de riesgo es la presencia de un alelo en la apolipoproteína E(APOEε4), el cual reduce la edad de aparición del Alzheimer, amplifica los efectos negativos de los factores relacionados con el estilo de vida y modula la capacidad de respuesta a los posibles tratamientos⁽¹⁰⁻¹⁵⁾.

El Alzheimer no afecta exclusivamente a personas mayores. Existe una variante de Alzheimer de inicio temprano(9% de los casos) que es de tipo genético y se debe a mutaciones en la proteína precursora de amiloide, presenilina1 y presenilina2^(16,17), mientras que la variante tardía presenta una etiología multifactorial, incluyendo la edad, predisposición genética y factores relacionados con el modo de vida⁽⁶⁾.

3.3 Tratamiento.

Las terapias actuales son únicamente paliativas, ralentizando el deterioro cognitivo, pero no curándolo. Estas terapias se basan en: 1)inhibidores de la enzima colinesterasa como el donepezilo que actúan desacelerando el proceso de inactivación del neurotransmisor acetilcolina y 2)antagonistas del receptor N-metil-d-aspartato(NMDA) como la memantina. Estos antagonistas evitan el aumento del daño celular neuronal debido al exceso de glutamato, el cual a su vez permite el incremento de la entrada del calcio en las células, conduciendo a una sobreexposición cálcica crónica⁽¹⁸⁾. Entre sus efectos secundarios se encuentran vómitos, diarreas, fatiga, etc⁽¹⁹⁾.

3.4 Biomarcadores anatomopatológicos.

La mayoría de las investigaciones se basaban en dos marcadores anatomopatológicos⁽¹⁸⁾.

- Placas de beta-amiloide(péptido Aβ): se acumulan en los espacios entre las células nerviosas.
- Ovillos de proteína tau: se acumulan dentro de las células.

Las personas con Alzheimer tienden a presentar ambos marcadores en mayor cantidad y con un patrón predecible⁽¹⁸⁾.

Los tratamientos frente a las placas de beta-amiloide son(Fig.1):

- Interferir en factores que regulan la producción de la proteína precursora^(20,21).
- Inhibir los involucrados en la generación de A β neurotóxica, como β -secretasa y γ -secretasa^(22,23).
- Inhibir la agregación de A β o alterar la placa ya formada^(24,25).
- Inmunoterapia anti-A β , tanto pasiva como activa⁽²⁶⁾.

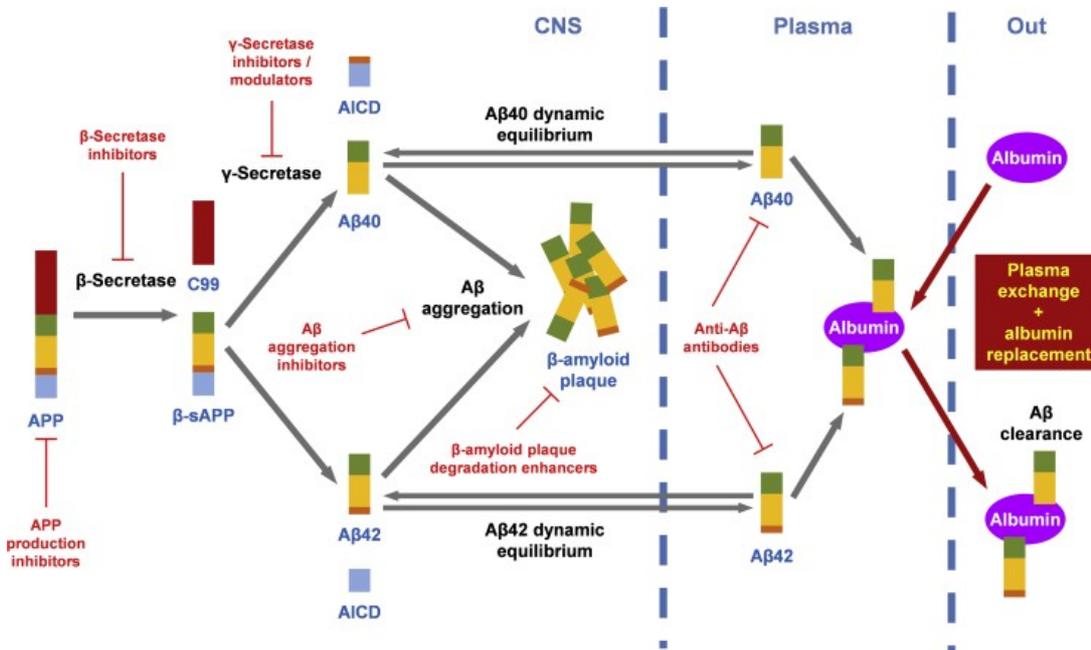


Fig.1. Generación, detección y tratamiento de péptido beta-amiloide | La proteína precursora de beta-amiloide (APP) a través de β -secretasa y γ -secretasa se genera la A β neurotóxica, que es la implicada en la formación de la placa beta-amiloide dentro del sistema nervioso central (CNS), el péptido beta-amiloide en el LCR se encuentra en equilibrio dinámico con su concentración en el plasma. La proteína beta-amiloide plasmática se une a la albúmina. En rojo se muestran los distintos tratamientos frente al péptido beta-amiloide. Figura extraída de la referencia 27.

Los tratamientos frente a los ovillos de Tau son⁽²⁸⁾(Fig.2):

- Inhibir la agregación de Tau.
- Inhibición de quinasas o activación de fosfatasa, así inhibiendo la fosforilación de Tau.
- Estabilización de los microtúbulos, así disminuyendo el deterioro axonal.
- Inmunoterapia anti-Tau, tanto activa como pasiva.

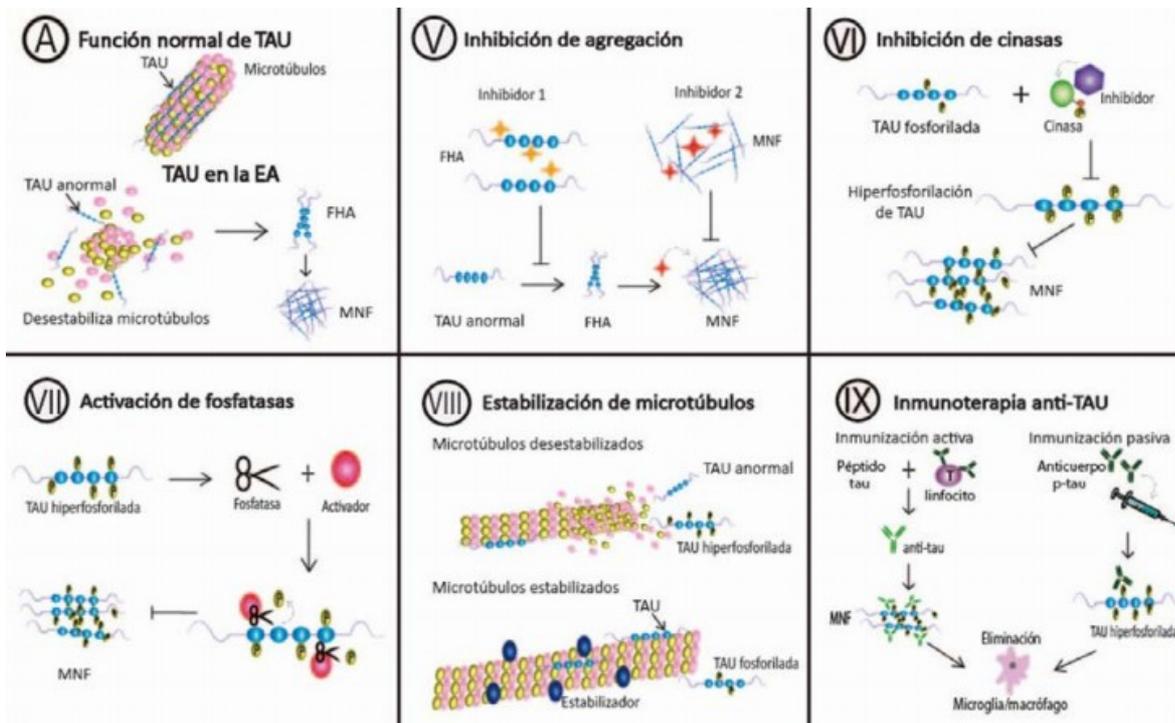


Fig. 2. Tratamiento de los ovillos de tau. | A) Función fisiológica y estado patológico de tau. V) Inhibición de la agregación de tau mediante compuestos que bloquean la capacidad de ensamble entre monómeros (inhibidor 1) o capaces de desensamblar los agregados formados (inhibidor 2). VI) Inhibición de quinasas. VII) Activación de fosfatasa. VIII) Estabilización de microtúbulos por medio de agentes que sean capaces de compensar la pérdida de función estabilizadora de tau y mantener el transporte axonal. IX) Inducción de células T, mediante un antígeno (péptido Tau) que se introduce en la inmunización activa para generar anticuerpos anti-Tau. En la inmunización pasiva se administran anticuerpos anti-Tau, para eliminar la tau hiperfosforilada y los agregados insolubles. Figura extraída de la referencia 28.

3.5 Búsqueda de biomarcadores.

En el pasado, un diagnóstico de Alzheimer sólo podía confirmarse postmortem⁽²⁹⁾. El progreso en las técnicas de neuroimagen y en los análisis de LCR, ha permitido la caracterización de biomarcadores *in vivo*, incluyendo la atrofia del hipocampo^(30,31), el hipometabolismo temporoparietal^(32,33) y la deposición cerebral de péptido beta-amiloide y Tau^(34,35), entre otros. La posibilidad de evaluar la fisiopatología del Alzheimer *in vivo* provocó un cambio en la investigación de la enfermedad.

Este conocimiento ha cambiado la conceptualización del Alzheimer desde una entidad clínico-patológica a clínica-biológica, al reconocerlo como una enfermedad que presenta continuo patológico con un cuadro clínico⁽⁶⁾.

Algunos biomarcadores son:

1. El grosor cortical y los índices de difusividad: los portadores presintomáticos muestran un grosor incrementado y una difusividad disminuida, al contrario que los portadores sintomáticos⁽³⁶⁾.
2. La glicoproteína YKL-40 y el receptor inmune innato expresado en la superficie de la microglía TREM2 pueden estar involucrados en los mecanismos neuroinflamatorios en respuesta a agregados de beta-amiloide y Tau. El primero mide la progresión, mientras que el segundo aumenta hasta el deterioro cognitivo leve, y disminuye en la demencia. El TREM2 se relacionó con tau a diferencia del YKL-40⁽³⁷⁻³⁹⁾.

Actualmente se continúa en la búsqueda de nuevos biomarcadores del Alzheimer. Los candidatos más recientes y que serán desarrollados en este trabajo son el Neurofilamento ligero que se libera cuando hay neurodegeneración, y los cambios en la microvasculatura retiniana que están relacionados con los patologías cerebrales.

4. OBJETIVO

Este trabajo tiene como finalidad la revisión bibliográfica de las nuevas vías existentes de tratamiento frente a la enfermedad de Alzheimer y la comparación entre ellas.

5. RESULTADOS

En este trabajo se comparan el estudio más reciente de tratamiento frente al Alzheimer, el AMBAR, el uso potencial de la neurogénesis en adultos y dos posibles biomarcadores de Alzheimer, el Neurofilamento ligero y la microvasculatura retiniana.

5.1 Estudio AMBAR.

La hipótesis de este estudio se basa en que la extracción de plasma con el péptido A β unido a la albúmina y su sustitución por albumina terapéutica al 5% o 20%, con o sin inmunoglobulina intravenosa, aumentaría el transporte del péptido A β del LCR al plasma, lo que disminuiría la carga A β cerebral⁽⁴⁰⁻⁴³⁾. Por otro lado, en el caso de que hubiera otras sustancias en el plasma involucradas, esta técnica podría también retirarlas del organismo⁽⁴⁴⁾. Esta hipótesis tiene como base que la albúmina es el principal transportador⁽⁴⁵⁾ del péptido A β ya que alrededor del 90% del mismo está unido a ella⁽⁴⁶⁾ y la albúmina terapéutica también tiene alta capacidad de unión al péptido A β ^(47,48).

Se trata de un estudio multicéntrico, con 496 pacientes de España y Estados Unidos, en estadio leve-moderado de Alzheimer que se han agrupado aleatoriamente en tres grupos de tratamiento, que difieren en la dosis de albumina, frente al control. Los tres grupos son sometidos a⁽²⁷⁾(Fig.3):

- Una fase inicial común, consistente en un recambio plasmático completo cada semana durante seis.
- Una segunda fase con diferentes dosis de albúmina para cada grupo que implica un recambio plasmático de bajo volumen al mes durante un año.

En el grupo control, los recambios plasmáticos son simulados en un dispositivo de intercambio plasmático cargado con solución salina coloreada y funcionando en un circuito cerrado sin ningún intercambio⁽²⁷⁾.

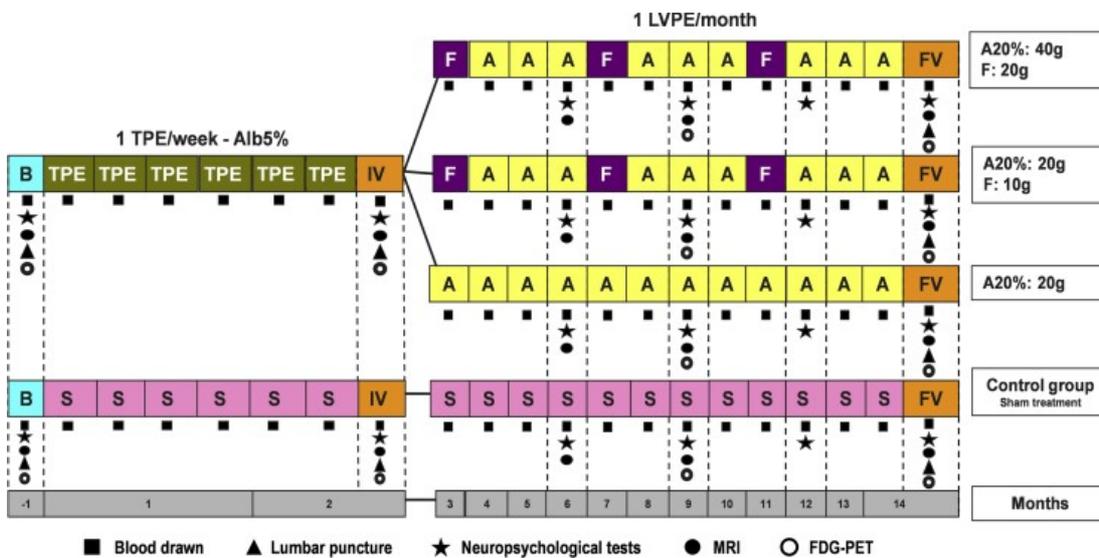
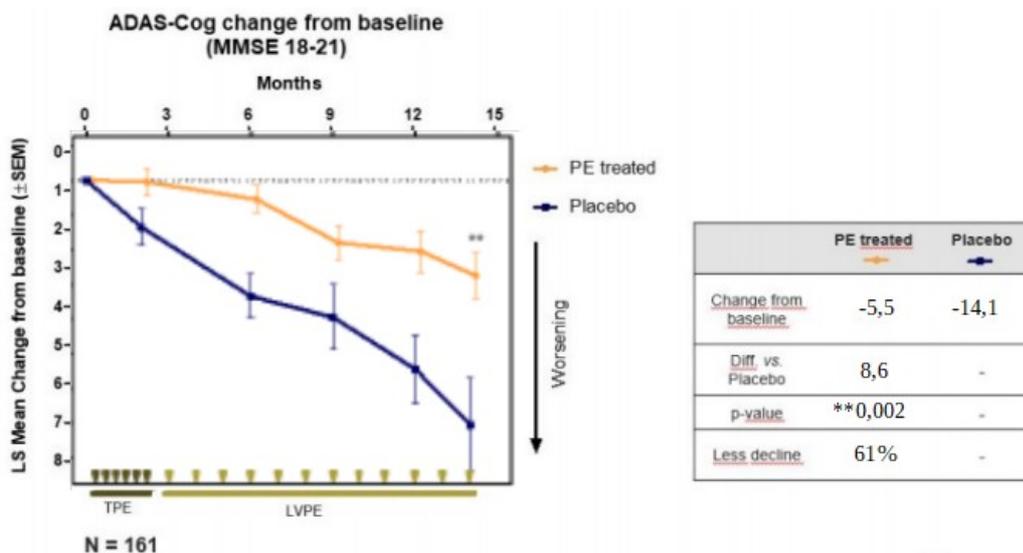


Fig.3. Protocolo del estudio AMBAR | TPE, intercambio terapéutico de plasma; LVPE, intercambio de plasma de bajo volumen; F, Flebogamma 5% DIF (inmunoglobulina intravenosa); A, Albutein® 5% -20% (albúmina); S, tratamiento simulado; B, visita de referencia; IV, visita intermedia; FV, visita final. Figura extraída de la referencia 27.

Tras el tratamiento se evalúan las diferencias en cognición y en el desarrollo de actividades de la vida diaria, conforme a las escalas ADAS-Cog⁽⁴⁹⁾ y ADCS-ADL⁽⁵⁰⁾, respectivamente.

Los resultados del estudio son relevantes en cuanto a que⁽⁵¹⁾(Fig.4):

- Los tres grupos de tratamiento muestran una progresión más lenta en la escala ADAS-Cog(50%-75%) y ADCS-ADL(42%-70%).
- Los pacientes tratados con recambio plasmático muestran una progresión un 66% más lenta en la escala ADAS-Cog y un 52% en ADCS-ADL.
- Los pacientes en estadio leve mostraron una disminución de la progresión de la enfermedad en cuanto al lenguaje y procesamiento de la información⁽⁵²⁾. Los pacientes en estadio moderado mostraron una progresión un 61% más lenta en las dos escalas.



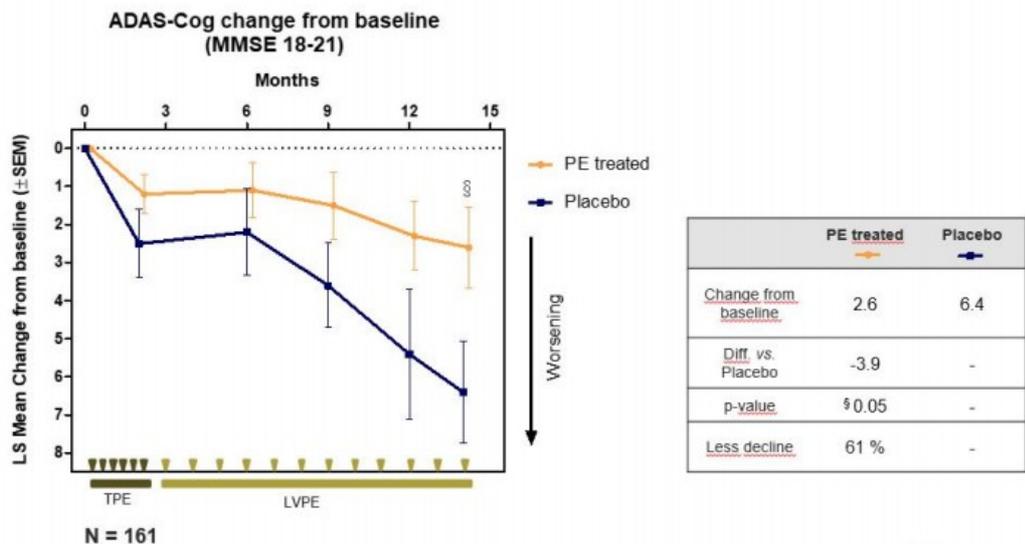


Fig. 4. Escalas cognitivas en el estudio AMBAR| Los gráficos muestran el cambio de las escalas ADCS-ADL y ADAS-COG de la base con respecto a los controles en el estudio AMBAR, observándose con el paso del tiempo un empeoramiento en ambas escalas en los participantes control y una disminución del empeoramiento de la enfermedad en los participantes con Alzheimer en estadio moderado tratados. Figuras extraídas de la referencia 51.

Estos datos sugieren fuertemente que el estudio AMBAR puede ser útil en el tratamiento frente al Alzheimer ya que ha demostrado una ralentización en el progreso de la enfermedad.

5.2 Neurogénesis.

Se ha documentado y caracterizado que la neurogénesis del hipocampo, y más concretamente, en el área hipocampal giro dentado(DG), en adultos es abundante en sujetos neurológicamente sanos y desciende bruscamente en pacientes con Alzheimer⁽⁵³⁾. Una avenida de investigación interesante sería determinar si las nuevas neuronas que se incorporan continuamente al DG durante el envejecimiento fisiológico e incluso el patológico podrían tener potencial terapéutico.

Mediante la combinación de muestras de cerebro se identificaron neuronas inmaduras en la DG de sujetos neurológicamente sanos hasta los 90 años. Estas neuronas exhibieron grados variables de maduración a lo largo de la neurogénesis del hipocampo adulto(AHN). En contraste, el número y la maduración de estas neuronas disminuyeron progresivamente a medida que el Alzheimer avanzaba, ya que el hipocampo es una de las áreas más afectadas en esta enfermedad neurodegenerativa⁽⁵⁴⁾.

Estas conclusiones se demostraron en un estudio⁽⁵³⁾ en el que se determinó la existencia de neuronas inmaduras hasta los 90 años(Fig.5). Así, utilizando anticuerpos, se identificaron neuronas que expresan doblecortina(DCX) en el giro dentado para 13 sujetos sanos(Fig.5d,j). Esa señal DCX estaba ausente en regiones cerebrales no neurogénicas como la corteza entorrinal(Fig.5b), y las regiones hipocampales CA1(Fig.5c) y CA3(Fig.5e).

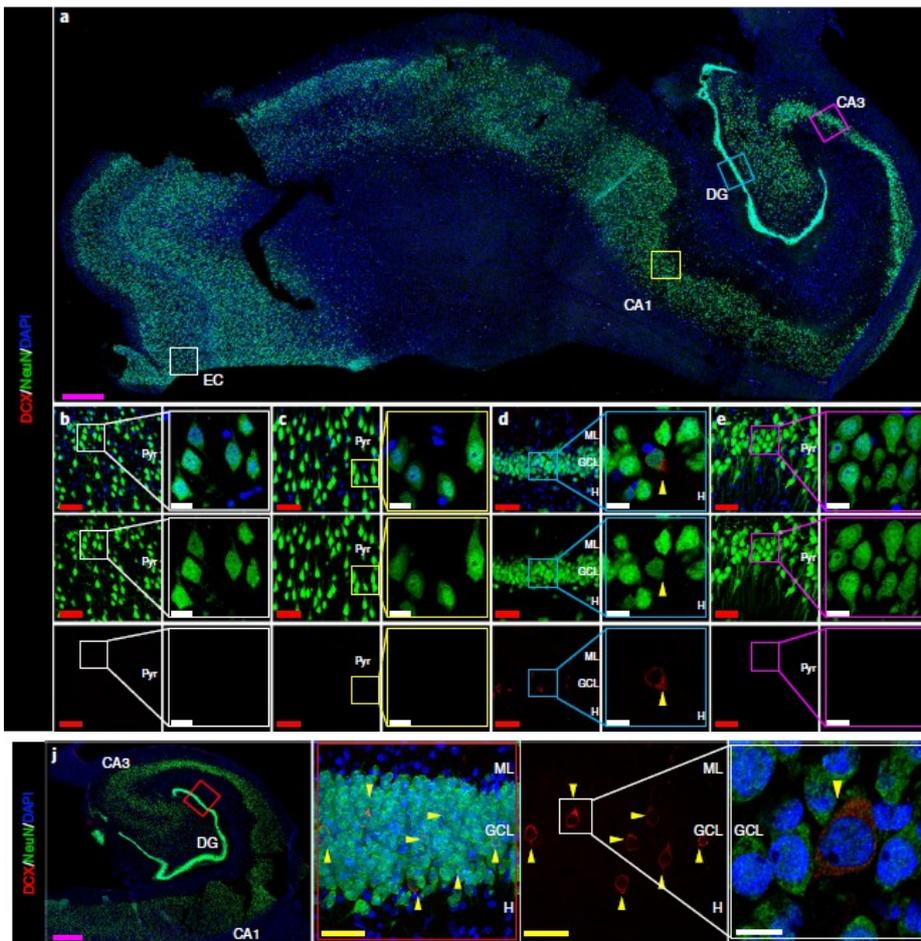


Fig. 5. Neurogénesis adulta | La neurogénesis del hipocampo de sujetos neurológicamente sanos. a-e, imagen representativa que comprende todo el hipocampo y la corteza entorrinal (CE) (a) y aumento de la CE (b), CA1 (c), DG (d) y CA3 (e). Estas imágenes muestran ausencia de tinción en regiones no neurogénicas (b, c, e) y presencia abundante de células DCX en la DG (d). j, imagen que comprende todo el hipocampo humano (izquierda), junto con imágenes representativas de la DG que muestran la abundante presencia de neuronas inmaduras DCX (centro) y una imagen de alta potencia que muestra la morfología de una de estas células (derecha). Pyr, capa piramidal; ML, capa molecular; GCL, capa de células granulares; H, hilus. Los triángulos amarillos indican células DCX. Figura extraída de la referencia 53.

Además, se describieron las etapas de diferenciación del hipocampo adulto prestando especial atención a las sustancias que se liberan durante las distintas etapas⁽⁵³⁾(Fig.6).

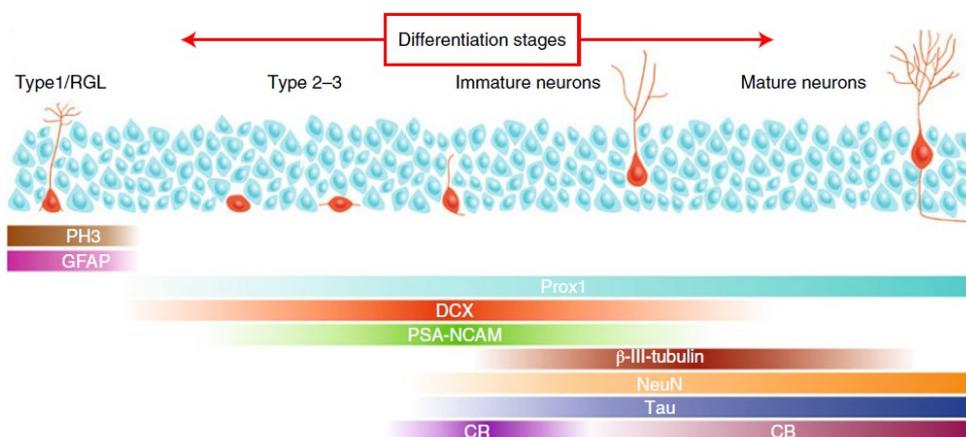


Fig. 6. Neurogénesis hipocampal | Etapas de diferenciación de la neurogénesis del hipocampo adulto en el giro dentado de sujetos neurológicamente sanos y sustancias que se liberan durante las distintas etapas. Las células similares a la glía radial tipo 1 del hipocampo dan lugar a las células progenitoras intermedias, las células tipo 2, que se encargan de la fase de proliferación. Posteriormente se diferencian a células tipo 3 y luego a neuronas inmaduras que finalmente se convierten en neuronas maduras. Figura extraída de la referencia 53.

Los datos apoyan la persistencia de AHN en individuos sanos hasta los 90 años. Sin embargo, en un estudio del proceso de neurogénesis hipocampal en 45 pacientes con Alzheimer se observó que el número de células DCX disminuyó de forma marcada y progresiva a medida que la enfermedad avanzaba(Fig.7). Remarcablemente, las alteraciones en la neurogénesis hipocampal se detectaron en las primeras etapas de la enfermedad, incluso antes de la presencia de los marcadores anatomopatológicos⁽⁵³⁾.

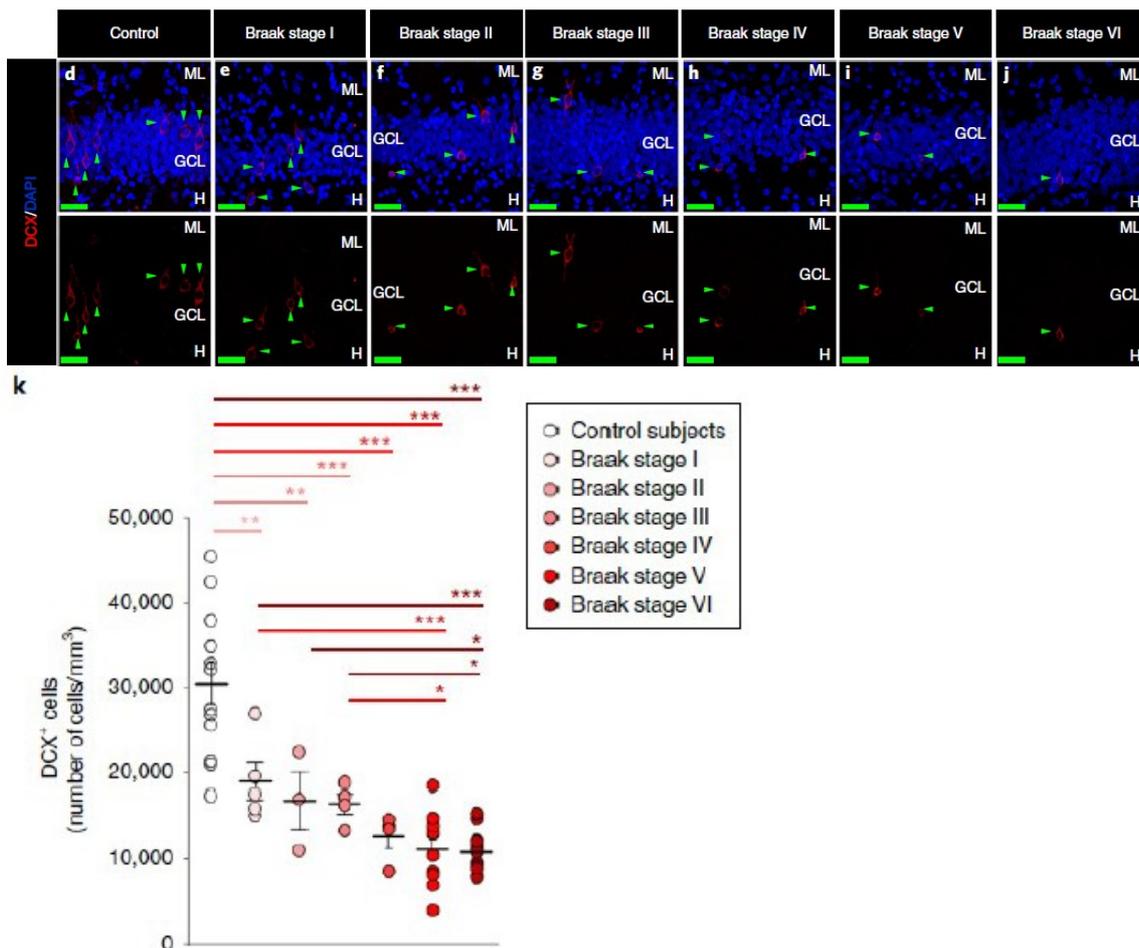


Fig. 7. Neurogénesis del hipocampo en adultos con Alzheimer | d – j, Imágenes representativas de la tinción con DCX en la DG de sujetos control y pacientes con Alzheimer a medida que avanza la enfermedad en cada estadio de braak. k, densidad de células DCX en cada estadio Braak. Los triángulos verdes indican células. Figura extraída de la referencia 53.

Se estudió también la expresión de marcadores celulares relacionados con las etapas de maduración⁽⁵⁵⁻⁵⁷⁾ en células DCX de estos pacientes(Fig.8), detectándose una reducción de células DCX que expresaban marcadores de etapas maduras como PSA-NCAM(Fig.8a,d), Prox1(Fig.8f), NeuN(Fig.8g), β III-tubulina(Fig.8h) y la calbindina(CB) (Fig.8b,i). Estos datos proporcionan evidencia de un deterioro de la maduración de las células DCX a medida que avanza la enfermedad⁽⁵³⁾.

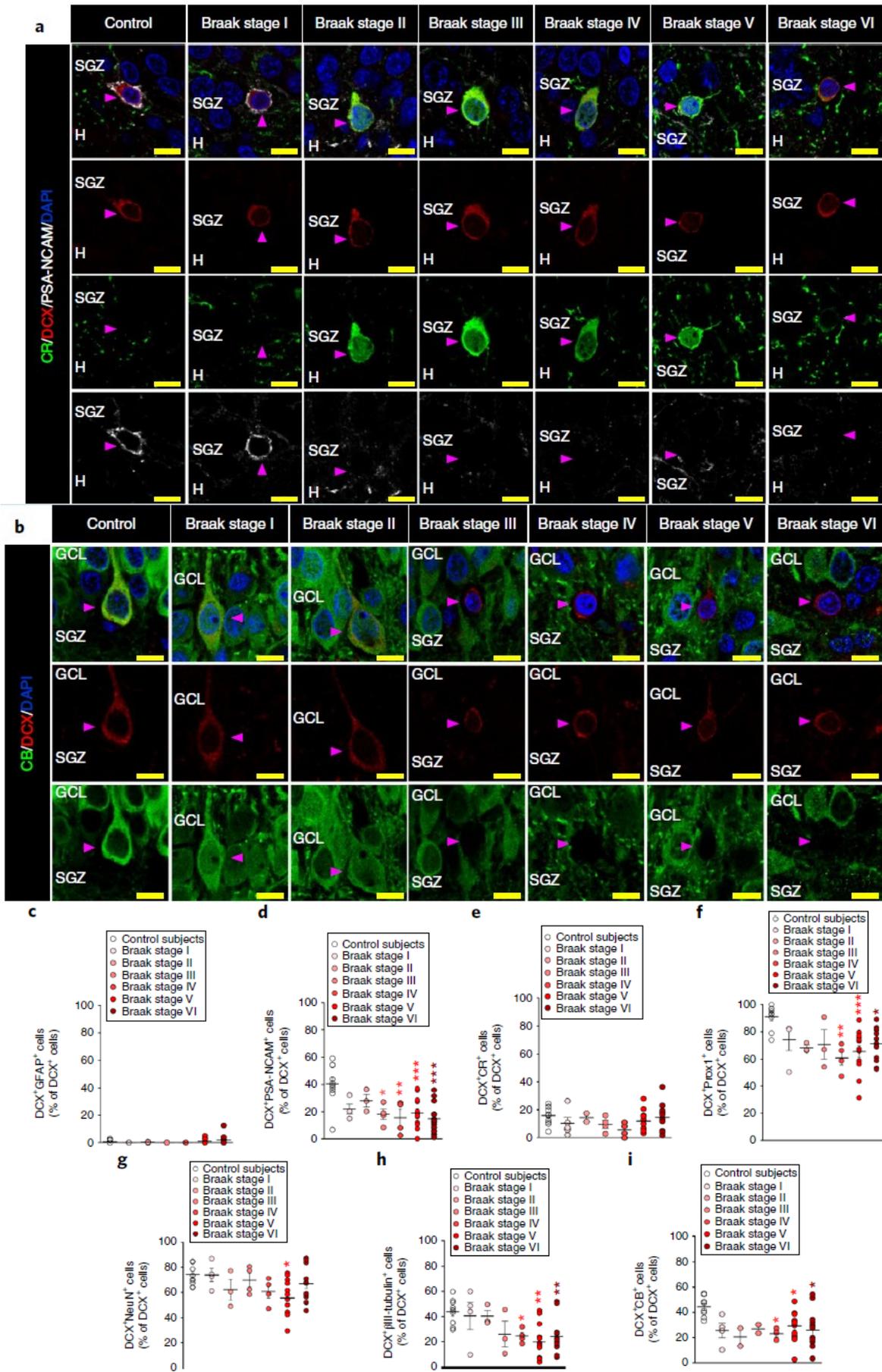


Fig. 8. Alteraciones de células DCX en Alzheimer | La maduración de las células DCX se altera en el DG de los pacientes con enfermedad de Alzheimer. a, b, Imágenes representativas que muestran la expresión de marcadores de neuronas inmaduras en los distintos estadios de Braak, como CR y a molécula de adhesión (PSA-NCAM) (a), y neuronas maduras, como CB (b), en células DCX de sujetos control y pacientes con Alzheimer. c – i, Porcentaje de células DCX en cada estadio Braak que expresan PSA-NCAM (d), CR (e), Prox1 (f), núcleos neurales (NeuN) (g), β III-tubulina (h) y CB (i). Los triángulos magenta indican células DCX. Figura extraída de la referencia 53.

En su conjunto, los datos demuestran la permanencia de la neurogénesis hipocámpal hasta los 90 años en individuos sanos y la disminución de ella en individuos con Alzheimer.

El avance en el estudio de los mecanismos responsables de la neurogénesis hipocámpal en individuos sanos y su afectación en la patología neurodegenerativa podría resultar muy prometedor en futuros tratamientos frente al Alzheimer.

5.3 Neurofilamento ligero.

El neurofilamento ligero (Nfl) es una proteína del citoesqueleto axonal que se ha postulado como un candidato a biomarcador para detectar la neurodegeneración y la proximidad al comienzo del deterioro cognitivo⁽⁵⁸⁾. Las concentraciones de Nfl aumentan en enfermedades neurodegenerativas asociadas con lesión axonal⁽⁵⁹⁾. En un ensayo que buscaba demostrar que los niveles de NfL se elevan en las etapas presintomáticas del Alzheimer en individuos portadores, se hicieron análisis con el Nfl sérico⁽⁵⁸⁾, dada la asociación entre el Nfl en suero y LCR, y la enorme ventaja de contar con un biomarcador sanguíneo no invasivo⁽⁶⁰⁾.

El análisis longitudinal de NfL sérico, con los valores de las tasas de cambio de Nfl en las distintas visitas, confirmó los hallazgos de la sección transversal, la cual se realizó con los valores absolutos de Nfl en la primera visita (Fig.9), al encontrarse significativamente elevados en portadores en relación con los no portadores. Sin embargo, el primer punto del año estimado del inicio de los síntomas (EYO) significativo es casi una década anterior a las estimaciones de la sección transversal⁽⁵⁸⁾ (16.2 versus 6.8) (Fig.9b).

También se compararon la tasa de cambio en cuatro grupos que difieren según el estado cognitivo⁽⁵⁸⁾ (Fig.9c): 1) no portadores, 2) portadores presintomáticos, 3) portadores sintomáticos y 4) convertidos, llamándose así los portadores presintomáticos que progresaron a Alzheimer en visitas posteriores.

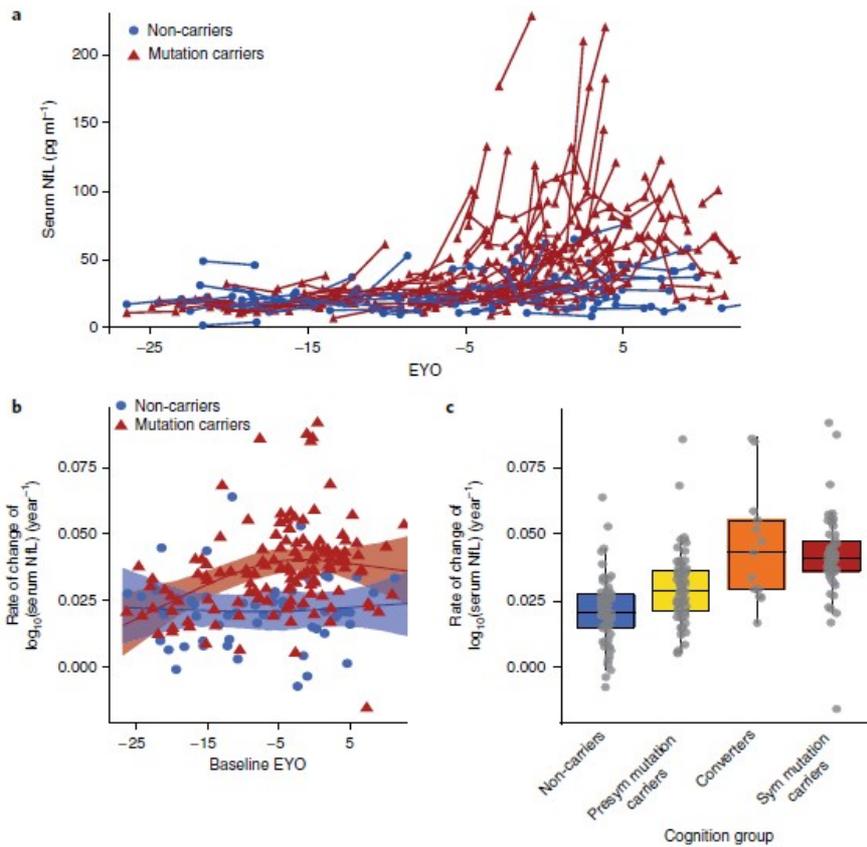


Fig. 9. Estudio de NfL sérica | La NfL sérica longitudinal distingue a los portadores de los no portadores en el proceso de la enfermedad presintomática, y la tasa de cambio de la NfL es máxima en los individuos que pasan de presintomática a la sintomática. a, Diagrama que muestra NfL sérica longitudinal para no portadores (azul) y portadores (rojo). b, Tasa estimada de cambio por año en NfL sérica representada en comparación con el EYO de referencia para portadores y no portadores. Las estimaciones de pendiente de efecto aleatorio individual se trazan como símbolos de colores. Las áreas sombreadas representan el 99% de los intervalos creíbles alrededor de las estimaciones del modelo. c, tasa de cambio por año en NfL sérica en cuatro grupos: no portadores (azul); portadores presintomáticos (amarillo); convertidos (naranja); portadores sintomáticos (rojo). Los portadores presintomáticos tuvieron una tasa de cambio más alta en comparación con no portadores. Los convertidos tuvieron una tasa de cambio mayor respecto a no portadores y portadores presintomáticos. Los portadores sintomáticos tuvieron tasas de cambio igual que los convertidos. El rango del eje x mostrado está limitado a - 27.5 hasta + 12.5 años antes o después del EYO en a y b. Figura extraída de la referencia 58.

Para estudiar si los cambios cerebrales se correlacionan con cambios en la NfL sérica, se realizaron análisis de regresión. Estos análisis se enfocaron en el área precuneus, una parte del lóbulo parietal superior en la fisura longitudinal medial entre los dos hemisferios cerebrales, ya que es más sensible a la progresión del Alzheimer^(61,62).

Las tasas de cambio de NfL y las tasas de adelgazamiento cortical se asociaron en portadores sintomáticos(Fig.10a), igual que la tasa de cambio de NfL y la tasa de cambio de metabolismo de la glucosa en el área precuneus(Fig.10b), en cambio no hubo asociación significativa con la tasa de cambio en la deposición de amiloide-β-PET⁽⁵⁸⁾ (Fig.10c).

Estos resultados demuestran que los cambios en NfL reflejan el adelgazamiento cortical y la disminución del metabolismo de la glucosa en el área precuneus.

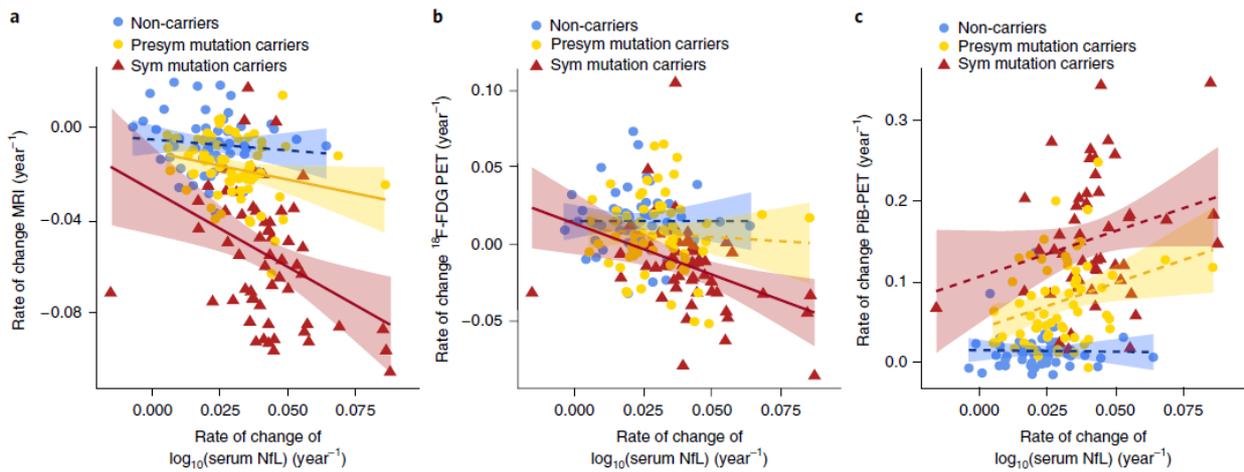


Fig. 10. Tasas de cambio de Nfl | La tasa de cambio anual de Nfl en suero en portadores refleja la tasa de cambio en adelgazamiento cortical. a, Relación entre la tasa de cambio anual estimada en NfL sérica y la tasa de cambio anual estimada en el grosor cortical precuneus para no portadores, portadores presintomáticos y portadores sintomáticos, incluidos los convertidos. b, Relación entre la tasa de cambio en la NfL sérica y la tasa de cambio en la PET 18F-FDG precuneus (Glucosa).c, Relación entre la tasa de cambio en el NfL sérico y la tasa de cambio en el amiloide- β -PET precuneus. Figura extraída de la referencia 58.

Para examinar la utilidad de la NfL sérica para predecir la neurodegeneración, se realizó un análisis retrospectivo. Se evaluó la previsibilidad en adelgazamiento cortical(Fig.11a), la previsibilidad en la detección de cambios en el MMSE, una prueba escrita para detectar el deterioro cognitivo, y en la prueba de memoria lógica(Fig.11b,c). La NfL sérica fue predictiva para las tres medidas⁽⁵⁸⁾.

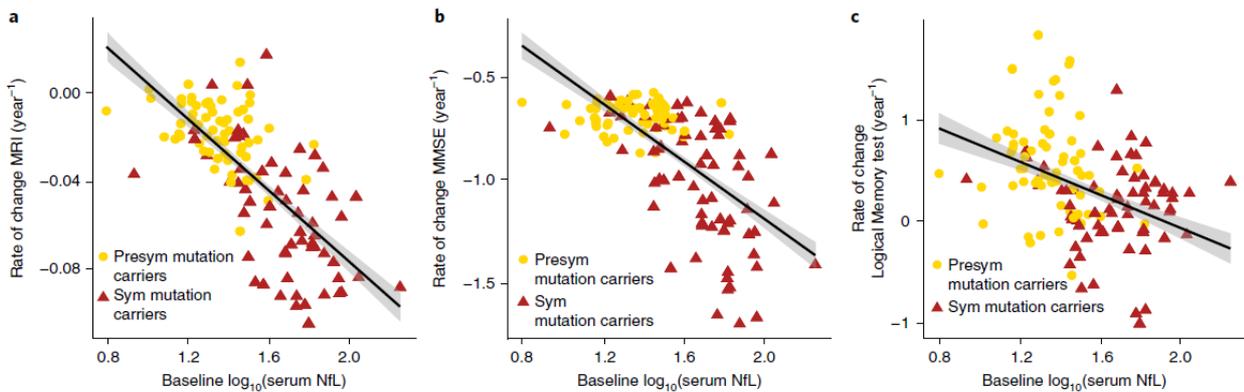


Fig. 11. Pruebas cognitivas y Nfl | Predicción de cambios en adelgazamiento cortical y cognición por NFL sérica basal (predicción retrospectiva). Los portadores presintomáticos y sintomáticos se representan en amarillo y rojo, respectivamente. a – c, los niveles séricos iniciales de NfL en comparación con la tasa de cambio en el grosor cortical, MMSE y prueba de memoria lógica, respectivamente. Figura extraída de la referencia 58.

En conjunto, estos datos sugieren que la concentración de Nfl en sangre puede ser útil en los ensayos clínicos, ya que proporciona un medio para determinar cuándo iniciar un tratamiento y sirve también como un método no invasivo para evaluar sus efectos, ya que la tasa de cambio no aumentaría significativamente si el tratamiento es eficaz. Y además, puede ser un marcador de proximidad al deterioro cognitivo.

5.4 La retina como biomarcador de Alzheimer.

La red microvascular retiniana puede proporcionar una ventana para estudiar las patologías cerebrales⁽⁶³⁾. En un estudio transversal que ha evaluado y comparado la microvasculatura retiniana en el plexo capilar superficial en la enfermedad de Alzheimer, empleando pacientes con deterioro cognitivo leve(DCL) y controles mediante angiografía OCT, la cual es capaz de detectar problemas en la retina sin necesidad de inyección de contraste, se intentaron identificar biomarcadores que pudieran ayudar en el diagnóstico temprano del Alzheimer⁽⁶³⁾.

Se analizaron los ojos de 39 pacientes de Alzheimer, 72 con DCL y 254 individuos control, midiendo los siguientes valores en las medidas del círculo de 6 mm, círculo y anillo de 3 mm⁽⁶³⁾:

1. Densidad de los vasos(Fig.12-13):

Los participantes con Alzheimer mostraron una disminución significativa en el anillo y círculo de 3mm y en el círculo de 6mm en comparación con los participantes con DCL. En comparación con el control hubo una disminución en las medidas de 3mm, mientras que en los grupos con DCL y controles no hubo diferencia. Se desconoce el mecanismo de reducción de la densidad de los vasos retinianos en el Alzheimer, pero se han observado placas de beta-amiloide en la retina de Alzheimer postmortem, pacientes en estadio temprano y en ratones⁽⁶⁴⁾.

2. Densidad de perfusión(Fig.12-13):

Los participantes con Alzheimer mostraron una disminución significativa en comparación con el grupo de DCL en las medidas de 3mm, y en comparación con el control en las tres medidas, mientras que, de nuevo, entre los grupos con DCL y controles no hubo diferencia.

3. Área de la zona avascular foveal y grosor del subcampo central:

No hubo diferencia entre los grupos.

4. Capa plexiforme interna de la mácula(Fig.14):

Los participantes con Alzheimer mostraron una disminución significativa en los sectores inferiores e infranasales en comparación con el grupo de DCL y además de la disminución de los sectores anteriores, la totalidad y supranasal con respecto a los controles. No hubo diferencias entre los participantes con DCL y control. Este hallazgo está respaldado por una revisión sistemática, un informe de metaanálisis⁽⁶⁵⁾, en pacientes postmortem⁽⁶⁶⁾ y en un ratón, en que la disminución precedió a la pérdida de células nerviosas⁽⁶⁷⁾.

Estos datos sugieren que los cambios en la capa plexiforme interna de la mácula puede ser un biomarcador útil para la detección temprana de Alzheimer.

5. Grosor de la capa de fibra nerviosa retiniana peripapilar:

Los participantes con DCL mostraron una disminución significativa en comparación con los controles. Entre los demás grupos no hubo diferencia.

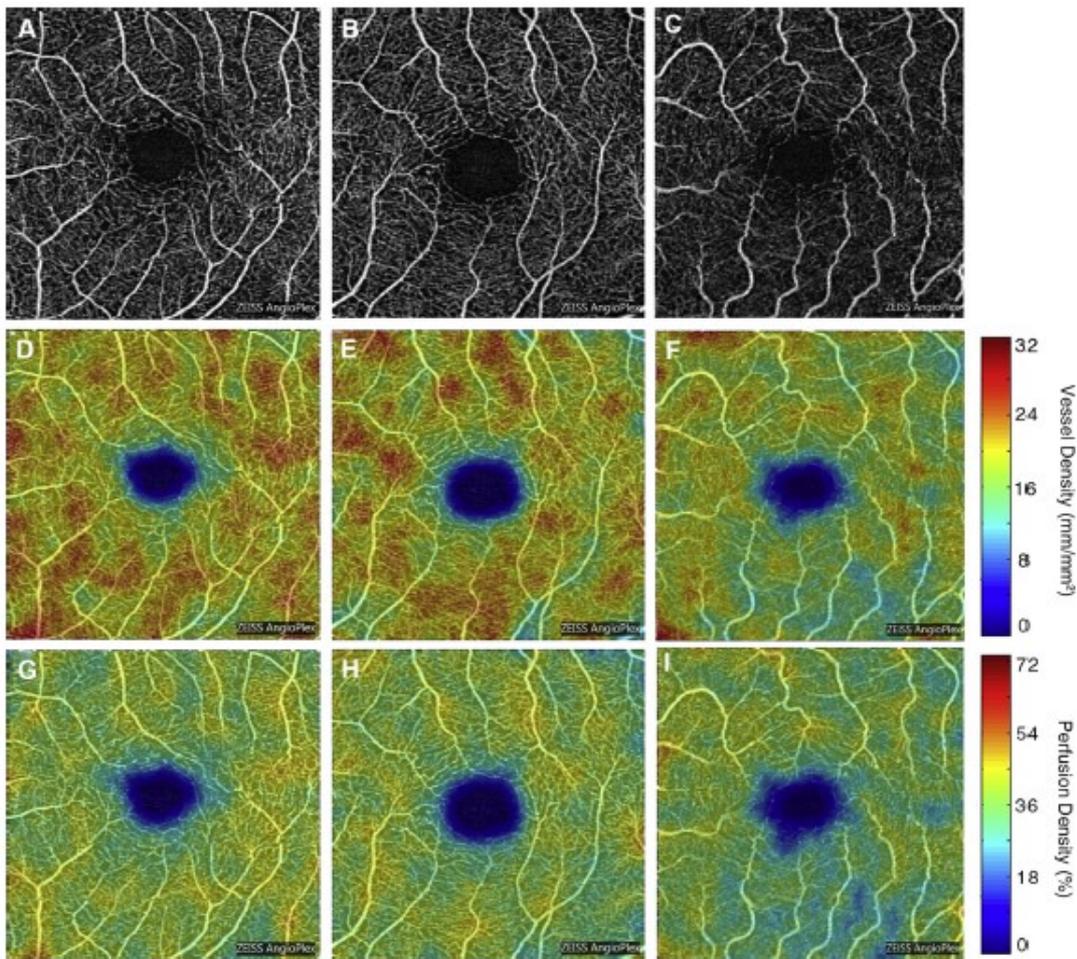


Fig. 12. Densidad de vasos y perfusión | Angiografía OCT de 3 mm del plexo capilar superficial de (A) un participante del control, (B) un participante con deterioro cognitivo leve y (C) un participante con Alzheimer. Corresponden a mapas de color cuantitativos de la densidad de vasos y densidad de perfusión, con la escala a la derecha, que muestra una disminución de la densidad del vaso y la densidad de perfusión en (F, I) el participante con Alzheimer en comparación con (D, G) el participante de control y (E, H) el participante con deterioro cognitivo leve. Figura extraída de la referencia 63.

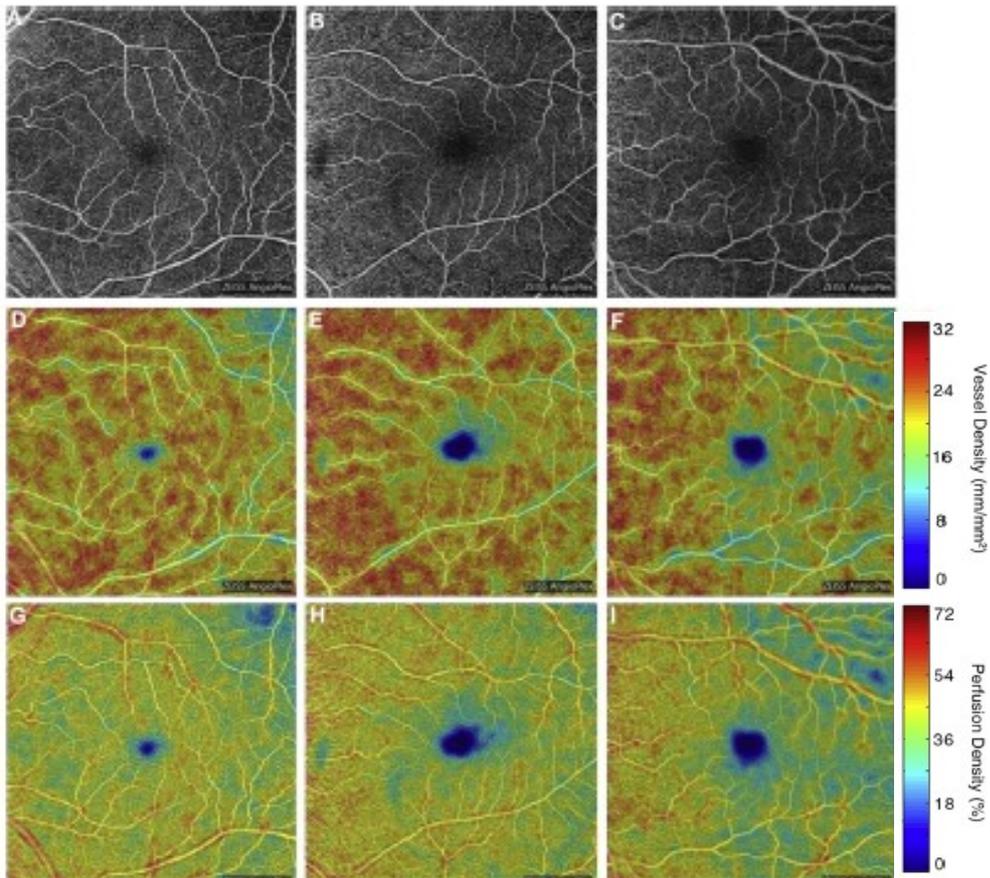


Fig. 13. Densidad de vasos y perfusión | Angiografía OCT de 6 mm del plexo capilar superficial de (A) un participante del control, (B) un participante con deterioro cognitivo leve y (C) un participante con Alzheimer. Con la escala a la derecha, que muestra una disminución de la densidad del vaso y la densidad de perfusión en (F, I) participante con Alzheimer en comparación con (D, G) el participante de control y (E, H) participante de DCL. Figura extraída de la referencia 63.

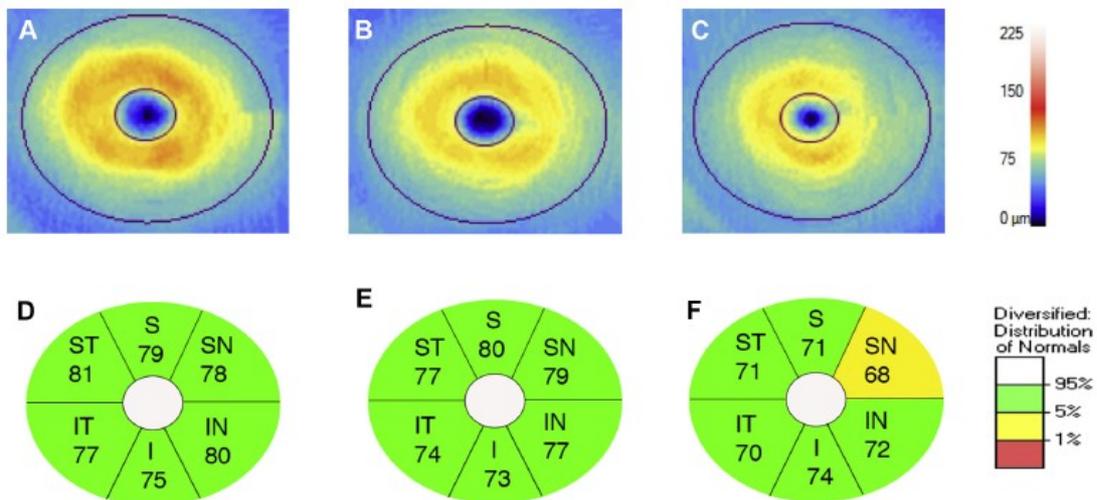


Fig. 14. Cambios en la Capa plexiforme interna de la mácula | Análisis de células ganglionares de la mácula en (A) un participante del control, (B) un participante con deterioro cognitivo leve y (C) un participante con Alzheimer. El grosor correspondiente de la capa plexiforme interna muestra (F) adelgazamiento difuso en el participante con Alzheimer en comparación con (D) el participante de control y (E) el participante con deterioro cognitivo leve. I: inferior; IN: infranasal; IT: infratemporal; S: superior; SN:supranasal; ST: supratemporal. Figura extraída de la referencia 63.

Por lo tanto se han observado cambios microvasculares y neurodegenerativos de la retina en pacientes con Alzheimer y con DCL cuando son comparados con individuos sanos. Estas diferencias sugieren que la densidad de los vasos y de perfusión pueden ser biomarcadores útiles en la detección de Alzheimer en individuos sintomáticos y pueden servir para distinguir entre pacientes con Alzheimer y con deterioro cognitivo leve.

6. DISCUSIÓN

En esta discusión se va a proceder a analizar el potencial, las ventajas y las limitaciones de nuevos tratamientos frente a la enfermedad de Alzheimer, enfocándose en el estudio AMBAR, en el avance en el conocimiento de los procesos de neurogénesis adulta y en el uso de nuevos biomarcadores, según han sido descritos en este Trabajo Fin de Grado.

El estudio AMBAR representa un importante avance en las vías de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer ya que se observó una disminución significativa en su progreso temporal, mediante el aclaramiento del péptido beta-amiloide y de cualquier sustancia aún no conocida que podría unirse a la albumina y tener un papel en su desarrollo y etiología.

Como desventaja, la plasmogénesis o reemplazamiento plasmático es un procedimiento largo y laborioso ya que el participante pasa por 6 y 12 hemoféresis o recambios plasmáticos de bajo volumen, un proceso difícil y tedioso lo que complica notablemente el tratamiento.

Por otra parte, se ha caracterizado un proceso de neurogénesis hipocampal, presente hasta los 90 años en adultos sanos, que se encuentra afectado en pacientes con Alzheimer disminuyendo a medida que avanza la enfermedad. Destacar que los resultados demuestran un deterioro en las primeras etapas de la enfermedad. Por lo tanto, la restauración de los niveles normales de la neurogénesis en estos pacientes es un posible enfoque terapéutico para contrarrestar la, hasta ahora inevitable, progresión temporal del Alzheimer. No obstante, es necesario destacar que mientras que el uso de la neurogénesis adulta como un posible tratamiento precisa de una numerosa investigación básica y de estudios más detallados que permitan conocer los mecanismos subyacentes a dicha neurogénesis, su posterior desarrollo y su aplicabilidad, el estudio AMBAR ya tiene resultados que avalan su eficacia.

En cuanto a la búsqueda de nuevos biomarcadores, en este trabajo se ha destacado un estudio reciente empleando la proteína del neurofilamento ligero. La proteína Nfl supone un gran avance en la detección temprana del Alzheimer, ya que está elevada en pacientes con antecedentes de dicha enfermedad hasta 16 años antes de su inicio, lo que puede facilitar un tratamiento precoz. Además, también sería útil para evaluar los efectos de un tratamiento sobre la neurodegeneración. Como ventajas, destacar que es un biomarcador sanguíneo lo que facilita su utilización. Sin embargo, aún es pronto y faltan más estudios para conocer bien y caracterizar en detalle este biomarcador.

Un segundo aspecto prometedor en la búsqueda de biomarcadores tempranos para detectar el Alzheimer son los resultados experimentales encontrados en retina. Los datos muestran una disminución de la densidad de los vasos y la densidad de la perfusión en pacientes de Alzheimer, los cuales pueden reflejar cambios cerebrovasculares. Así, la retina podría ser muy útil para detectar de forma no invasiva el deterioro cognitivo y así

poder implantar un tratamiento lo más temprano posible aunque, de nuevo, aún se necesitan más estudios para saber si estos cambios en la retina podrían ser capaces de predecir la progresión de deterioro cognitivo leve a Alzheimer.

Comparando los dos, mientras que el posible biomarcador de retina serviría para detectar el deterioro cognitivo leve cuando ya está presente, el Nfl podría detectar la enfermedad en esa fase precoz varios años antes de la aparición de los síntomas clínicos, lo que le hace un candidato a biomarcador mucho más interesante.

7. CONCLUSIÓN

En esta conclusión se van a destacar los puntos más interesantes de esta revisión bibliográfica.

En primer lugar destacar como un prometedor candidato a biomarcador los niveles de expresión de la proteína del neurofilamento ligero. Su detección se realiza en sangre, una técnica mínimamente invasiva, y sería capaz de detectar el daño neurodegenerativo varios años antes del inicio de los síntomas del Alzheimer.

En segundo lugar, incidir en la existencia de un novedoso tratamiento frente al Alzheimer consistente en un recambio plasmático de albúmina para disminuir la carga del péptido beta-amiloide cerebral y la eliminación de cualquier otra sustancia desconocida que se una a la albúmina en el contexto de la enfermedad. El estudio AMBAR presenta resultados que avalan su eficacia ralentizando la progresión del Alzheimer en pruebas conductuales.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization (WHO): Dementia, [Internet], [Consultado el 25 de Febrero de 2019] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
2. Laboratorios grifols. Grifols inicia el estudio AMBAR basado en el uso combinado de hemoderivados y plasmaféresis para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. 2012. [Internet] Disponible en: https://www.grifols.com/es/view-news/-/news/grifols_inicia_el_estudio_ambar_basado_en_el_uso_combinado_de_hemoderivados_y_pla
3. Asociación de Enfermos de Alzheimer de Tenerife (Afate).
4. Cabrera de León A. et al. *Estimación del riesgo coronario en la población de Canarias, aplicando la ecuación de Framingham*. Med Clin (Barc), 2006;126:14, 521-526
5. Alvarez-León E. et al. *Prevalencia del Síndrome Metabólico en la Población de la Comunidad Cana-ria*. Med Clin (Barc) 2003;120:5, 172-174.
6. José Luis Molinuevo et al. The Rationale Behind the New Alzheimer's Disease Conceptualization: Lessons Learned During the Last Decades. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2018;62:1067–1077.
7. Solomon A, Mangialasche F, Richard E, Andrieu S, Bennett DA, Breteler M, Fratiglioni L, Hooshmand B, Khachaturian AS, Schneider LS, Skoog I, Kivipelto M. Advances in the prevention of Alzheimer's disease and dementia. *Journal of*

- internal medicine*. 2014;275:229–50.
8. Mangialasche F, Weili X, Kivipelto M. *Prevention of Alzheimer's Disease: Intervention Studies. Understanding Alzheimer's Disease*. 2013; 17: 451-484
 9. Ballard C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones E. Enfermedad de Alzheimer. *The Lancet*. 2011;377:1019–1031.
 10. Seripa D, Panza F, Franceschi M, D'Onofrio G, Solfrizzi V, Dallapiccola B, Pilotto A. Genética no apolipoproteína E y apolipoproteína E de la enfermedad de Alzheimer esporádica. *Revisiones de investigación del envejecimiento*. 2009;8:214–236.
 11. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, Hyman B, Kukull WA, Mayeux R, Myers RH, Pericak-Vance MA, Risch N, van Duijn CM. Efectos de la edad, el sexo y la etnicidad en la asociación entre el genotipo de la apolipoproteína E y el Alzheimer enfermedad. Un metaanálisis. Consorcio de metanálisis de APOE y la enfermedad de Alzheimer. *JAMA*. 1997;278:1349-1356.
 12. Reiman EM, Chen K, Liu X, Bandy D, Yu M, Lee W, Ayutyanont N, Keppler J, Reeder SA, Langbaum JBS, Alexander GE, Klunk WE, Mathis CA, Precio JC, Aizenstein HJ, DeKosky ST, Caselli RJ. Carga fibrilar de amiloide-beta en personas cognitivamente normales en 3 niveles de riesgo genético para la enfermedad de Alzheimer. *Actas de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América*. 2009;106:6820-6825.
 13. Nagy Z, Esiri MM, Jobst KA, Johnston C, Litchfield S, Sim E, Smith AD. Influencia del genotipo de la apolipoproteína E en la deposición de amiloide y la formación de enredos neurofibrilares en la enfermedad de Alzheimer. *Neurociencia*. 1995;69:757-761.
 14. Kivipelto M, Rovio S, Ngandu T, Kåreholt I, Eskelinen M, Winblad B, Hachinski V, Cedazo-Minguez A, Soininen H, Tuomilehto J, Nissinen A. Apolipoprotein E epsilon 4 magnifica los riesgos de estilo de vida para la demencia: un estudio basado en la población. *Revista de medicina celular y molecular*. 2008;12:2762-2771.
 15. Salloway S, Sperling R, Gilman S, Fox NC, Blennow K, Raskind M, Sabbagh M, Honig LS, Doody R, van Dyck CH, Mulnard R, Barakos J, Gregg KM, Liu E, Lieberburg I, Schenk D, Negro R, Grundman M: un ensayo de dosis ascendente múltiple de fase 2 de bapineuzumab en la enfermedad de Alzheimer de leve a moderada. *Neurología*. 2009;73:2061-2070.
 16. Finckh U, Muller-Thomsen T, Mann U, Eggers C, Marksteiner J, Meins W, Binetti G, Alberici A, Hock C, Nitsch RM, GalAHigh. Prevalence of pathogenic mutations in patients with early-onset dementia detected by sequence analyses of four different genes. *Am J Hum Genet*. 2000;66:110-117.
 17. Campion D, Dumanchin C, Hannequin D, Dubois B, Belliard S, Puel M, Thomas-Anterion C, Michon A, Martin C, Charbonnier F, Raux G, Camuzat A, Penet C, Mesnage V, Martinez M, Clerget-Darpoux F, Brice A, Frebourg T. Early-onset autosomal dominant Alzheimer disease: Prevalence, genetic heterogeneity, and mutation spectrum. *Am J Hum Genet*. 1999;65:664-670.
 18. Alzheimer's association. [Internet], [Consultado el 20 de marzo de 2019] Disponible en: <https://www.alz.org/>
 19. Kim et al. *Naturally occurring phytochemicals for the prevention of Alzheimer's disease*. *J. Neurochem*. 2010;112:1415–1430
 20. Winblad B., Giacobini E., Fratlich L., Friedhoff L.T., Bruinsma G., Becker R.E. Phenserine efficacy in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2010; 22:1201–1208.
 21. Su Y., Ryder J., Ni B. Inhibition of Aβ production and APP maturation by a specific PKA inhibitor. *FEBS Lett*. 2003;546:407–410.
 22. Islam M.A., Pillay T.S. Beta-secretase inhibitors for Alzheimer's disease:

- identification using pharmacoinformatics. *J Biomol Struct Dyn*. 2018;1–20.
23. Kumar D., Ganeshpurkar A., Kumar D., Modi G., Gupta S.K., Singh S.K. Secretase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease: Long road ahead. *Eur J Med Chem*. 2018;148:436–452.
 24. Wang Q., Yu X., Li L., Zheng J. Inhibition of amyloid-beta aggregation in Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des*. 2014;20:1223–1243.
 25. Yamin G., Ono K., Inayathullah M., Teplow D.B. Amyloid beta-protein assembly as a therapeutic target of Alzheimer's disease. *Curr Pharm Des*. 2008;14:3231–3246.
 26. Mo J.J., Li J.Y., Yang Z., Liu Z., Feng J.S. Efficacy and safety of anti-amyloid-beta immunotherapy for Alzheimer's disease: a systematic review and network meta-analysis. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;4:931–942.
 27. Mercé Boada et.al. Plasma exchange for Alzheimer's disease Management by Albumin Replacement (AMBAR) trial: Study design and progress. *Alzheimer dement (NY)*. 2019;5:61–69.
 28. Perla Y. López-Camacho et. al. Investigación y terapias en la enfermedad de Alzheimer basadas en beta amiloide y tau. *Arch Neurocién Mex INNN*. 2017;22:72-88.
 29. 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;34:939-944.
 30. Bernard C, Helmer C, Dilharreguy B, Amieva H, Auriacombe S, Dartigues JF, Allard M, Catheline G. Time course of brain volume changes in the preclinical phase of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2014;10:143-151.
 31. Ikeda M, Tanabe H, Nakagawa Y, Kazui H, Oi H, Yamazaki H, Harada K, Nishimura T. MRI-based quantitative assessment of the hippocampal region in very mild to moderate Alzheimer's disease. *Neuroradiology*. 1994;36:7-10.
 32. Landau SM, Mintun MA, Joshi AD, Koeppe RA, Petersen RC, Aisen PS, Weiner MW, Jagust WJ. Amyloid deposition, hypometabolism, and longitudinal cognitive decline. *Ann Neurol*. 2012;72:578-586.
 33. Ewers M, Insel PS, Stern Y, Weiner MW. Cognitive reserve associated with FDG-PET in preclinical Alzheimer disease. *Neurology*. 2013; 80:1194-1201.
 34. Johnson KA, Sperling RA, Gidicsin CM, Carmasin JS, Maye JE, Coleman RE, Reiman EM, Sabbagh MN, Sadowsky CH, Fleisher AS, Murali Doraiswamy P, Carpenter AP, Clark CM, Joshi AD, Lu M, Grundman M, Mintun MA, Pontecorvo MJ, Skovronsky DM. Florbetapir (F18-AV-45) PET to assess amyloid burden in Alzheimer's disease dementia, mild cognitive impairment, and normal aging. *Alzheimers Dement*. 2013;9:72-83.
 35. Doraiswamy PM, Sperling RA, Coleman RE, Johnson KA, Reiman EM, Davis MD, Grundman M, Sabbagh MN, Sadowsky CH, Fleisher AS, Carpenter A, Clark CM, Joshi AD, Mintun MA, Skovronsky DM, Pontecorvo MJ. Amyloid-beta assessed by florbetapir F 18 PET and 18- month cognitive decline: A multicenter study. *Neurology*, 2012;79:1636-1644.
 36. Fortea J, Sala-Llonch R, Bartres-Faz D, Bosch B, Llado A, Bargallo N, Molinuevo JL, Sanchez-Valle R. Increased cortical thickness and caudate volume precede atrophy in PSEN1 mutation carriers. *J Alzheimers Dis*. 2010;22:909-922.
 37. Antonell A, Mansilla A, Rami L, Llado A, Iranzo A, Olives J, Balasa M, Sanchez-Valle R, Molinuevo JL. Cerebrospinal fluid level of YKL-40 protein in preclinical and prodromal Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis*. 2014;42:901-908.
 38. Gispert JD, Monte GC, Falcon C, Tucholka A, Rojas S, Sanchez-Valle R, Antonell A,

- Llado A, Rami L, Molinuevo JL. CSF YKL-40 and pTau181 are related to different cerebral morphometric patterns in early AD. *Neurobiol Aging*. 2016;38:47-55.
39. Suarez-Calvet M, Kleinberger G, Araque Caballero MA, Brendel M, Rominger A, Alcolea D, Fortea J, Lleo A, Blesa R, Gispert JD, Sanchez-Valle R, Antonell A, Rami L, Molinuevo JL, Brosseron F, Traschutz A, Heneka MT, Struyfs H, Engelborghs S, Slegers K, Van Broeckhoven C, Zetterberg H, Nelligard B, Blennow K, Crispin A, Ewers M, Haass C. sTREM2 cerebrospinal fluid levels are a potential biomarker for microglia activity in early-stage Alzheimer's disease and associate with neuronal injury markers. *EMBO Mol Med*. 2016;8:466-476.
 40. Deane R., Wu Z., Zlokovic B.V. RAGE (yin) versus LRP (yang) balance regulates alzheimer amyloid beta-peptide clearance through transport across the blood-brain barrier. *Stroke*. 2004;35:2628–2631.
 41. DeMattos R.B., Bales K.R., Parsadanian M., O'Dell M.A., Foss E.M., Paul S.M. Plaque-associated disruption of CSF and plasma amyloid-beta (Aβ) equilibrium in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2002;81:229–236.
 42. Roberts K.F., Elbert D.L., Kasten T.P., Patterson B.W., Sigurdson W.C., Connors R.E. Amyloid-beta efflux from the central nervous system into the plasma. *Ann Neurol*. 2014;76:837–844.
 43. Marques M.A., Kulstad J.J., Savard C.E., Green P.S., Lee S.P., Craft S. Peripheral amyloid-beta levels regulate amyloid-beta clearance from the central nervous system. *J Alzheimers Dis*. 2009;16:325–329.
 44. Russi G., Marson P. Urgent plasma exchange: how, where and when. *Blood Transfus*. 2011;9:356–361.
 45. Colombo G., Clerici M., Giustarini D., Rossi R., Milzani A., Dalle-Donne I. Redox albuminomics: oxidized albumin in human diseases. *Antioxid Redox Signal*. 2012;17:1515–1527
 46. Biere A.L., Ostaszewski B., Stimson E.R., Hyman B.T., Maggio J.E., Selkoe D.J. Amyloid β-Peptide Is Transported on Lipoproteins and Albumin in Human Plasma. *J Biol Chem*. 1996;271:32916–32922.
 47. Costa M., Ortiz A.M., Jorquera J.I. Therapeutic albumin binding to remove amyloid-beta. *J Alzheimers Dis*. 2012;29:159–170.
 48. Milojevic J., Costa M., Ortiz A.M., Jorquera J.I., Melacini G. In Vitro Amyloid-beta Binding and Inhibition of Amyloid-beta Self-Association by Therapeutic Albumin. *J Alzheimers Dis*. 2014;38:753–765.
 49. Rosen W.G., Mohs R.C., Davis K.L. A new rating scale for Alzheimer's disease. *Am J Psychiatry*. 1984;141:1356–1364.
 50. Galasko D., Bennett D., Sano M., Ernesto C., Thomas R., Grundman M. An Inventory to Assess Activities of Daily Living for Clinical Trials in Alzheimer's Disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord*. 1997;11:33–39.
 51. Laboratorios Grifols. El ensayo clínico AMBAR de Grifols demuestra una significativa ralentización del alzhéimer (61%) en pacientes en estadio moderado. 2018. [Internet] Disponible en: <https://www.grifols.com/documents/51507592/89724443/np-20181027-es.pdf/9751af88-e126-40c2-ae81-a69f6dfcddd5>
 52. Laboratorios Grifols. Grifols presenta nuevos datos que avalan la eficacia de su ensayo clínico para tratar el alzhéimer. 2019. [Internet] Disponible en: <https://www.grifols.com/documents/51507592/89724443/np-20190329-es.pdf/d0be7e53-1485-44e4-951e-bc6d955f6b03>
 53. Elena P. Moreno-Jiménez et. al. Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's

- disease. *Nature medicine*. 2019; 25: 554–560.
54. Braak, H. & Braak, E. Morphology of Alzheimer disease. *Fortschr. Med.* 1990;108:621–624.
 55. Kempermann, G. et al. Human adult neurogenesis: evidence and remaining questions. *Cell Stem Cell*. 2018;23:25–30.
 56. Kempermann, G., Jessberger, S., Steiner, B. & Kronenberg, G. Milestones of neuronal development in the adult hippocampus. *Trends Neurosci.* 2004;27:447–452.
 57. Knoth, R. et al. Murine features of neurogenesis in the human hippocampus across the lifespan from 0 to 100 years. *PLoS ONE*. 2010;5:8809.
 58. Oliver Preische et al. Serum neurofilament dynamics predicts neurodegeneration and clinical progression in presymptomatic Alzheimer’s disease. *Nature Medicine*. 2019;25:277–283
 59. Khalil, M. et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 2018;14: 577–589.
 60. Henriksen, K. et al. The future of blood-based biomarkers for Alzheimer’s disease. *Alzheimers Dement.* 2014;10:115–131.
 61. Benzinger, T. L. S. et al. Regional variability of imaging biomarkers in autosomal dominant Alzheimer’s disease. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013;110:4502–4509.
 62. Gordon, B. A. et al. Spatial patterns of neuroimaging biomarker change in individuals from families with autosomal dominant Alzheimer’s disease: a longitudinal study. *Lancet Neurol.* 2018;17:241–250.
 63. Stephen P. Yoon et al. Retinal Microvascular and Neurodegenerative Changes in Alzheimer’s Disease and Mild Cognitive Impairment Compared with Control Participants. *The American Academy of Ophthalmology*. 2019;3:489–499
 64. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov AV, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer’s patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. *Neuroimage*. 2011;54:204-217.
 65. Chan VTT, Sun Z, Tang S, et al. Spectral domain-optical coherence tomography measurements in Alzheimer’s disease: a systematic review and meta-analysis. *The American Academy of Ophthalmology*. 2018;126:497–510
 66. 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;17:377-384.
 67. Williams PA, Thirgood RA, Oliphant H, et al. Retinal ganglion cell dendritic degeneration in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Neurobiol Aging*. 2013;34:1799-1806.