



Biomarqueurs rétiens de la maladie d'Alzheimer et du vieillissement cérébral

Juan Luis Mendez Gomez

► To cite this version:

Juan Luis Mendez Gomez. Biomarqueurs rétiens de la maladie d'Alzheimer et du vieillissement cérébral. Santé publique et épidémiologie. Université de Bordeaux, 2016. Français. NNT : 2016BORD0370 . tel-01491020

HAL Id: tel-01491020

<https://theses.hal.science/tel-01491020>

Submitted on 16 Mar 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE PRESENTÉE
POUR OBTENIR LE GRADE DE
DOCTEUR DE
L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

Ecole doctorale Sociétés, Politique, Santé Publique
Spécialité Santé publique, option Epidémiologie

Par Juan Luis MÉNDEZ GÓMEZ

**Biomarqueurs rétinien de la maladie d'Alzheimer et du
vieillessement cérébral**

Sous la direction de : Catherine Helmer

Soutenue le 15 décembre 2016

Membres du jury :

Mme. BERR, Claudine. DR INSERM U1061, Montpellier
Mme. BINQUET, Christine. PU-PH, CHU Dijon
Mme. ROUGIER, Marie-Bénédicte. PH, Service d'ophtalmologie, CHU Bordeaux
Mme. HELMER, Catherine. CR1 INSERM U1219, Bordeaux

Rapporteur
Rapporteur
Présidente
Directrice

Titre : Biomarqueurs rétinien de la maladie d'Alzheimer et du vieillissement cérébral

Résumé :

L'œil et le système nerveux central (SNC) ont une origine embryologique commune et les structures rétinien, facilement observables, pourraient refléter les atteintes cérébrales. L'objectif général de cette thèse était d'analyser les relations entre atteintes rétinien et manifestations cliniques (déclin cognitif, démence) et paracliniques (imagerie cérébrale) du vieillissement cérébral. Deux "biomarqueurs" rétinien ont été analysés : les fibres nerveuses de la rétine (RNFL) et les structures vasculaires. Les données utilisées proviennent de la cohorte populationnelle 3 Cités-Alienor. Nous avons montré que les sujets ayant une épaisseur réduite de la RNFL (mesurée par tomographie par cohérence optique *spectral-domain*, SD-OCT) présentaient des performances diminuées en mémoire épisodique (principale fonction cognitive affectée dans la maladie d'Alzheimer, MA) après 2 ans de suivi ; sur une période aussi courte, aucune association n'a été trouvée avec le risque de démence. Une épaisseur réduite de la RNFL était aussi associée à des paramètres altérés en IRM au niveau des voies visuelles et des régions du système limbique, régions particulièrement vulnérables dans la MA. Enfin nous avons montré qu'une épaisseur réduite de la couche vasculaire choroïde était associée à un volume d'hypersignaux de la substance blanche plus important. Des processus pathologiques vasculaires et neurodégénératifs sont associés dans le vieillissement cérébral. Ainsi, la rétine pourrait refléter les altérations du SNC dans la MA et le vieillissement cérébral. D'autres recherches doivent encore être menées avant de considérer la rétine comme un biomarqueur potentiel du vieillissement cérébral.

Mots clés : [Epidémiologie, Biomarqueurs, Rétine, Alzheimer, Vieillissement]

Title: Retinal biomarkers of Alzheimer's disease and the cerebral aging

Abstract:

The eye and central nervous system (CNS) have a common embryological origin, and easily observable retinal structures may reflect brain damage. The primary objective of this thesis was to analyze the relationship between retinal disorders and clinical (cognitive decline, dementia) and para-clinical (brain imaging) brain aging manifestations. Two types of retinal "biomarkers" were analyzed: the retinal nerve fiber layer (RNFL) and vascular structures. The data used come from the population-based cohort 3-Cities Alienor. We have shown that subjects with reduced RNFL thickness (measured by spectral-domain optical coherence tomography, SD-OCT) showed a reduced episodic memory score (cognitive function that is principally affected in Alzheimer's disease, AD) after 2 years of follow-up; over this short period of time no association with dementia risk was found. A reduced RNFL thickness was also associated with altered MRI parameters in visual pathways and in limbic system regions, which are particularly vulnerable in AD. Finally we have shown that reduced vascular choroid layer thickness was associated with larger white matter hyperintensities volumes. Vascular and neurodegenerative disease processes are associated with brain aging. Thus, alterations in the CNS by AD and brain aging could be reflected in the retina. Other research is still needed before considering the retina as a potential biomarker of brain aging.

Keywords: [Epidemiology, Biomarkers, Retina, Alzheimer, Aging]

Unité de recherche

[INSERM, U 1219, 146 rue Léo Saignat 33076 Bordeaux cedex]

Ce travail de thèse a donné lieu aux publications suivantes :

Articles soumis :

Juan Luis Méndez-Gómez, Marie-Bénédicte Rougier, Laury Tellouck, Jean-François Korobelnik, Cédric Schweitzer, Marie-Noëlle Delyfer, Hélène Amieva, Jean-François Dartigues, Cécile Delcourt, Catherine Helmer. **Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and the evolution of cognitive performance.** Soumis.

JL Méndez-Gómez, A Pelletier, MB Rougier, JF Korobelnik, C Schweitzer, MN Delyfer, JF Dartigues, G Catheline, S Monfermé, C Delcourt, C Helmer. **Retinal Nerve Fiber Layer thickness and brain imaging in non-demented French elderly adults.** Soumis.

Juan-Luis Méndez-Gómez, Audrey Cougnard, Sarra Gattoussi, Marie-Noëlle Delyfer, Marie-Bénédicte Rougier, Cédric Schweitzer, Jean-François Korobelnik, Jean-François Dartigues, Cécile Delcourt, Catherine Helmer. **Choroidal thickness and small vessel disease: results from population-base study.** En cours de soumission.

Ce travail de thèse a donné lieu aux communications orales ou affichées suivantes :

J.-L. Méndez-Gomez, M.-B. Rougier, J.-F. Korobelnika, C. Schweitzer, M.-N. Delyfer J.-F. Dartigues, C. Delcourt, C. Helmer. Épaisseur des fibres nerveuses rétinienne et évolution cognitive chez des sujets âgés non déments. *VIIème Congrès International d'Epidémiologie ADELFP-EPITER*, Epidémiologie & Santé Publique ; Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, Rennes. 7, 8 et 9 Septembre 2016.

Épaisseur des fibres nerveuses rétinienne et évolution cognitive chez des sujets âgés non déments **Méndez-Gómez, J.L.**, Rougier, M.-B., Tellouck, L., Korobelnik, J.F., Schweitzer, C., Delyfer, M.N., Amieva, H., Dartigues, J. F., Delcourt, C. & Helmer, C. Journées d'Etude Du Vieillissement cognitif ; Bordeaux - 19 & 20 Septembre 2016

Remerciements

Je souhaite remercier en premier lieu Catherine Helmer pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce projet doctoral sous sa direction. Merci Catherine pour avoir partagé avec moi ta vision de l'épidémiologie et tes conseils tout au long de ces trois années. Merci pour ta disponibilité et pour m'avoir guidé tout au long de ma thèse.

Je tiens à remercier la région d'Aquitaine (aujourd'hui Région Nouvelle-Aquitaine (*Aquitaine, Limousin, Poitou-Charentes*)) qui a entièrement financé cette thèse.

Je remercie l'ensemble des membres du jury : Claudine Berr, Christine Binquet et Marie-Bénédicte Rougier. Je tiens à exprimer ma reconnaissance particulièrement à Marie-Bénédicte Rougier pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse mais aussi pour votre disponibilité quant aux collaborations réalisées au cours des travaux de thèse et à votre expertise.

Je remercie chaleureusement tous les membres de l'équipe LEHA pour leur accueil et mon intégration au sein de l'équipe. Merci, en particulier, à Cécile Delcourt pour ton avis précieux sur les thématiques ophtalmologiques. Merci également Mélanie Le Goff pour ta disponibilité et ton apport lors de la normalisation de mes données d'évaluation cognitive.

Je remercie également Louise Baschet, Hélène Jacqmin-Gadda, Cécile Proust-Lima et Viviane Philipps pour le temps que vous m'avez dédié en m'apportant des conseils avisés sur des problématiques statistiques.

Je tiens à remercier l'accueil au sein du Centre de Recherche Inserm-Université de Bordeaux U1219 « Bordeaux population health » et notamment l'équipe administrative et technique.

Je remercie les différents professionnels du service d'ophtalmologie du CHU de Bordeaux dirigé par Jean-François Korobelnik. Merci pour m'avoir facilité l'accès aux équipements pour le recueil de données d'ophtalmologie. Merci particulièrement à Brigitte Gontier et à Solène Monfermé.

Je tiens à remercier les membres de l'équipe de Neuroimagerie et cognition humaine de l'Institut de Neurosciences cognitives et intégratives d'Aquitaine (INCIA) qui ont permis l'obtention des données d'imagerie cérébrale IRM utilisées dans ma thèse. Je vous remercie pour m'avoir facilité l'accès aux données. Un grand merci à Gwenaëlle Catheline.

Amandine Pelletier, merci pour ton aide précieuse. La collaboration avec toi a été très enrichissante. Merci de t'être toujours rendue disponible. Bonne chance dans ton nouveau projet !

Merci aux participants de l'étude des 3 Cités-Alienor et à toutes les personnes qui ont collaboré et contribué à sa réalisation.

A mes collègues doctorants (et autres !) ainsi qu'à l'ensemble de l'ISPED. Je vous remercie pour tous ces bons moments pendant ces trois années !

Merci Camille et Anaïs pour votre sympathie, votre bonne humeur et votre gentillesse qui ont été une constante. Merci également à Agnieszka, Suzanne, Ana, Soufiane, Florie, Henry, Hind, Boris et à tous ceux qui ont fait de mon séjour à l'ISPED une très bonne expérience. Ça a été un plaisir de vous rencontrer !

Finalement, je voudrais exprimer ici ma profonde gratitude à ma famille, à mes amis et à Caroline qui m'ont, par-dessus tout, soutenu et encouragé inconditionnellement. Merci également à la famille Giulioli-Galabert. Merci Valérie Maugard ainsi qu'à l'ensemble des familles Lotte, Rubio et Maugard pour votre bienveillance qui a été un vrai pilier pour moi depuis le début de ma vie dans ce magnifique pays !

Liste de figures

- Figure 1. Espérance de vie à la naissance dans le monde et selon le niveau de développement des pays, projections de 1950 à 2050. Figure issue du rapport de l'ONU World Population Ageing 2013. (United Nations, 2013). _____ 11
- Figure 2. Projection mondiale du nombre de personnes âgées de 60 ans et plus, 1950-2050. Figure issue du rapport Dementia: a public health priority, WHO and AD International (World Health Organization and Alzheimer's Disease International, 2012). _____ 12
- Figure 3. Évolution du nombre de personnes atteintes de démence dans les pays à revenus élevés par rapport aux pays à revenus intermédiaires ou faibles. Figure issue du rapport 2012 de l'OMS et l'Alzheimer's Disease International. 'Dementia: a public health priority' (World Health Organization and Alzheimer's Disease International, 2012) _____ 13
- Figure 4. Principales lésions neuropathologiques de la MA. Figure Issue de Richard A. Armstrong 2009 (Armstrong, 2009) : A. plaques séniles formées par les dépôts de la β -amyloïde ($A\beta$) (détection par immunohistochimie). B. enchevêtrements neurofibrillaires dans une coupe du cortex cérébral (détection par immunohistochimie TAU). _____ 15
- Figure 5. Modèle hypothétique de la dynamique des biomarqueurs dans les phases précliniques de la MA. $A\beta$ = protéine β -amyloïde ; MCI=Mild Cognitive Impairment. Figure issue de Jack et al. 2010 (Jack et al., 2010) _____ 18
- Figure 6. Les couches des cellules ganglionnaires, de la RNFL et la choroïde observées en (A) OCT et (B) à l'histologie. RNFL=couche des fibres nerveuses rétiniennes ; CG= couche des cellules ganglionnaires. La figure histologique est issue de Zhang et al. 2011 (Zhang et al., 2011) _____ 21
- Figure 7. Réseau choroïdien de la rétine. Figure issue du programme The Science of AMD (www.scienceofamd.org/fr) de l'Angiogenesis Foundation's _____ 22
- Figure 8. Mesures du calibre vasculaire rétinien (a), de la fractal dimension (b) et de la tortuosité vasculaire (c) avec le logiciel SIVA (Singapore I Vessel Assessment de l'Université Nationale de Singapour) à partir d'une photographie rétinienne. Les artérioles sont signalées en rouge et les veinules en bleu. Figure adaptée de Cheung et al., 2014 (Cheung et al., 2014a) _____ 24
- Figure 9. Images de la zone maculaire de la rétine humaine obtenues sur une SD-OCT (A), une TD-OCT moderne (B) et sur la première publication de 1993 pour une OCT utilisée in vivo (C). (Image créée à partir des images publiées (Swanson et al., 1993), (Yaqoob et al., 2005) et (Oberwahrenbrock et al., 2015). RNFL=couche de fibres nerveuses rétiniennes ; GCL=couche de cellules ganglionnaires de la rétine ; IPL=couche plexiforme intérieure ; INL=couche nucléaire interne ; OPL=couche plexiforme externe ; ONL=couche nucléaire externe. _____ 26
- Figure 10. Configuration schématique de l'OCT de spectral-domain (SD-OCT) et de l'OCT time-domain (TD-OCT). _____ 26
- Figure 11. Profil des épaisseurs de la RNFL sur les sujets normaux _____ 28
- Figure 12. Relation entre l'épaisseur de la RNFL (en μm) et l'âge (en années). Figure issue de Patel et al. 2014 (Patel et al., 2014) _____ 29
- Figure 13. Schéma illustrant la cohorte populationnelle 3C et l'étude Alienor _____ 35

Liste de tableaux

<i>Tableau 1. Résultats d'études utilisant la détection de la protéine β-amyloïde 42 pour la détection de la MA dans le liquide cérébro-spinal. Tableau issu de Ritchie et al. 2014. (Ritchie et al., 2014)</i>	19
<i>Tableau 2. Perte d'épaisseur de la RNFL dépendant de l'âge selon différentes études sur des sujets normaux.</i>	28
<i>Tableau 3. Description des caractéristiques de la cohorte populationnelle 3C selon la participation au suivi Alienor 2009-2010 à Bordeaux.</i>	36
<i>Tableau 4. Etude comparative de l'épaisseur moyenne de la RNFL entre patients déments et non-déments. Etude 3C-Alienor, n=578.</i>	101
<i>Tableau 5. Etude de la relation entre l'épaisseur de la RNFL et la démence incidente 2 ans après. Etude 3C-Alienor, n=552. Régression logistique multivariée.</i>	102
<i>Tableau 6. Etude de la relation entre l'épaisseur de la RNFL et le volume d'hypersignaux de la substance blanche. Etude 3C-Alienor, n=90. Modèles multivariés de régression linéaire.</i>	105

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	11
Allongement de espérance de vie et son influence sur la prévalence des démences.....	11
Prévalence et incidence des démences	12
Démences, conséquences et coût économique et social.....	13
Cause majeure des pathologies démentielles	14
Facteurs de risque des démences et de la MA.....	15
Manifestations cliniques de la MA et le diagnostic d'une démence	16
Imagerie cérébrale dans le diagnostic de la MA	17
Importance des biomarqueurs dans le diagnostic précoce de la MA	17
Biomarqueurs des altérations anatomopathologiques	18
Biomarqueurs des autres processus physiopathologiques.....	19
Lien entre l'œil et le cerveau.....	20
Atteinte des structures nerveuses et vasculaires rétinienne comme possibles biomarqueurs d'altérations neurodégénératives du SNC, telle que la MA	23
Technique d'imagerie OCT pour la détection de processus neurodégénératifs	24
Imagerie issue de l'OCT et exploration de biomarqueurs rétiens en lien avec les processus neurodégénératifs	27
Rétine, OCT et sclérose en plaques (SEP)	29
Rétine et OCT dans le contexte d'une déficience cognitive légère (MCI) et/ou une MA.....	30
Rétine et OCT dans un contexte de changements dégénératifs liés au glaucome	30
Importance potentielle des structures nerveuses de la rétine dans le diagnostic des processus liés au vieillissement et aux maladies neurodégénératives	31
OBJECTIF DE CE TRAVAIL DE THESE	32
Objectif général	32
Objectifs spécifiques	32
METHODOLOGIE GENERALE UTILISEE	34
Les cohortes 3 Cités et Alienor	34
Descriptif de la population d'étude.....	35
Méthodologie statistique utilisée.....	37
ARTICLES.....	39
Article 1. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and the evolution of cognitive performance.....	39

Article 2. Retinal Nerve Fiber Layer thickness and brain imaging in non-demented elderly adults.....	62
Article 3. Choroidal thickness and white matter lesions: results from a population-based study	82
DISCUSSION GENERALE	99
I. Comment le processus dégénératif d'une MA affecte le cerveau	99
Structures cérébrales touchées lors du processus neurodégénératif de la MA	99
II. Structures oculaires et structures cérébrales : similitudes, liens et manifestations cliniques lors d'une altération.....	99
Altérations des fonctions physiologiques des structures cérébrales lors d'une MA et ses manifestations cliniques	100
Mesures des fibres nerveuses rétinienne et absence de relation avec la cognition globale et la démence au sein d'une population âgée initialement non démentie	101
Mesures des fibres nerveuses rétinienne et relation avec des structures cérébrales	102
Altérations des structures vasculaires et nerveuses de la rétine et leur relation avec les lésions vasculaires cérébrales.....	103
Lien entre les différentes études sur la relation entre les structures rétinienne et cérébrales	105
III. Utilité des structures rétinienne associées précocement au processus neurodégénératif du cerveau dans la démence	106
Avantages ou inconvénients de communiquer précocement un diagnostic de démence à l'aide de biomarqueurs.....	106
Usage de biomarqueurs de la rétine dans le cadre de la disponibilité d'un médicament contre la MA	107
CONCLUSION	108
IMPLICATIONS ET PERSPECTIVES.....	110
Travaux nécessaires pour confirmer et étendre les résultats de cette thèse.....	110
Comparaison et complémentarité des performances des structures oculaires avec d'autres types de procédures de diagnostic complémentaires.....	111
REFERENCES.....	112

LISTE DES ABRÉVIATIONS

3C : 3 Cités

ADL : Activités de base de la vie quotidienne (*Activities of Daily Living*)

ApoE4 : Apoprotéine E ϵ 4

Alienor : Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies Oculaires

AVC : Accident Vasculaire Cérébral

CG : Cellules ganglionnaires

CHU: Centre Hospitalier Universitaire

DNF : Dégénérescence neuro-fibrillaire

DMLA : Dégénérescence maculaire liée à l'âge

DSM IV: Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IV*)

DTI : Imagerie du tenseur de diffusion (*Diffusion Tensor Imaging*)

EDI : *Enhanced Depth Imaging*

ET : Ecart-type

HSB : Hypersignaux de la substance blanche

IADL : Activités instrumentales de la vie quotidienne (*Instrumental Activities of Daily Living*)

IC : Intervalle de Confiance

IC à 95% : Intervalle de Confiance à 95%

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

LCS : Liquide Cérébro-Spinal

MA : Maladie d'Alzheimer

MCI : Déficience cognitive légère (*Mild Cognitive Impairment*)

MMSE : *Mini Mental State Examination*

NINCDS-ADRDA : *National Institute of Neurological and Communicative Diseases and Stroke - Alzheimer's Disease and Related Disorders Association*

OCT: Tomographie par Cohérence Optique (*Optical Coherence Tomography*)

PA : Personnes-Année

PiB : *Pittsburgh Compound-B*

R² ajusté : Coefficient de détermination ajusté

RD : Diffusivité radiale (*Radial diffusivity*)

RNFL : Couche de fibres nerveuses rétiniennes (*Retinal Nerve Fiber Layer*)

SNC : Système Nerveux Central

SD-OCT: Tomographie par Cohérence Optique de *spectral-domain* (*Spectral-domain Optical Coherence Tomography*)

SEP : Scléroses en plaques

SIVA : *Singapore I Vessel Assessment*

TD-OCT : Tomographie par Cohérence Optique du domaine temporel (*Time-domain Optical Coherence Tomography*)

TEMP : Tomographie par émission monophotonique

^{99m}Tc-HMPAO: Technetium (99mTc) hexamethylpropyleneamineoxime

^{99m}Tc-ECD: Technetium (99mTc) ethyl cysteinate dimer

TEP : Tomographie par émission de positon

TEP-FDG : Tomographie par émission de positon ¹⁸F-fluorodéoxyglucose

WHO : *World Health Organization*

INTRODUCTION

Allongement de l'espérance de vie et son influence sur la prévalence des démences

En raison de l'allongement de l'espérance de vie au niveau mondial (Figure 1), les pathologies liées au vieillissement, comme les pathologies démentielles et notamment la maladie d'Alzheimer (MA) et maladies apparentées, sont devenues l'un des grands défis actuels de santé publique. Ces maladies représentent un défi social et médico-économique croissant, notamment pour les régions du monde avec un nombre et un pourcentage élevés de personnes âgées. L'augmentation de la population âgée mondiale est notamment liée à divers facteurs tels que les progrès de la médecine et l'arrivée aux âges avancés des générations de « baby-boomers » (Alzheimer's Association, 2016).

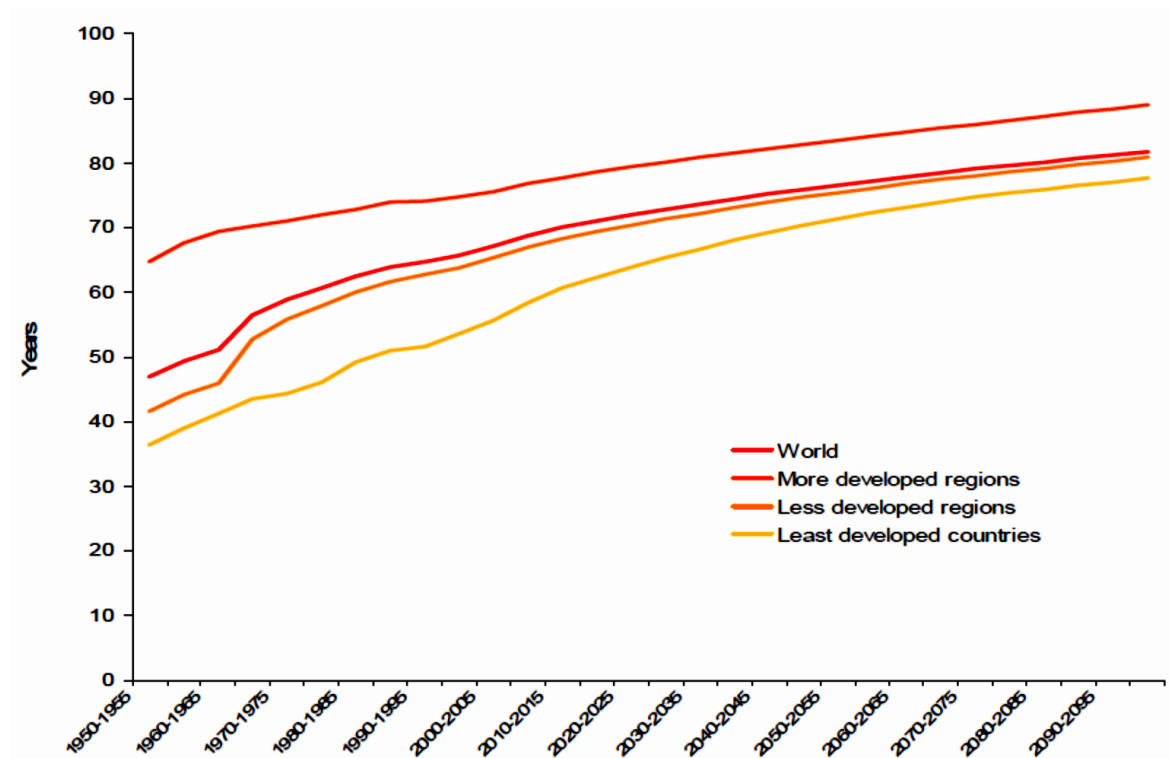


Figure 1. Espérance de vie à la naissance dans le monde et selon le niveau de développement des pays, projections de 1950 à 2050. Figure issue du rapport de l'ONU World Population Ageing 2013. (United Nations, 2013).

Il est estimé qu'au niveau mondial le nombre de personnes âgées de 60 ans et plus augmentera progressivement jusqu'à environ 2 milliards en 2050 (Figure 2). Aux États-Unis, les projections montrent que le nombre de sujets ayant 65 et plus atteindra 74 millions en 2030, ce qui correspondra à plus de 20% de la population totale (contre 14% en 2012)

(Ortman et al., 2014). En France, selon un scénario central de projection, le nombre de personnes ayant 65 et plus devrait être d'environ 16 millions en 2030, ce qui correspondra à plus de 23% de la population totale (contre 18,6 % en 2015) (Blanpain and Chardon, 2010). Une conséquence directe de cette augmentation du nombre de personnes âgées est l'augmentation concomitante du nombre de personnes atteintes de pathologies liées au vieillissement, et notamment les pathologies démentielles.

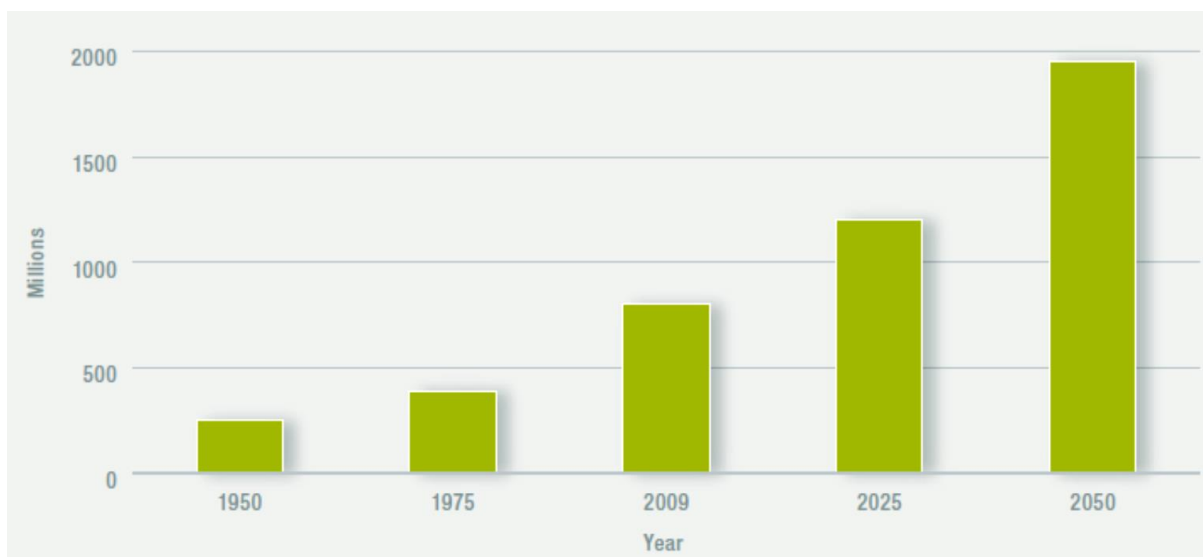


Figure 2. Projection mondiale du nombre de personnes âgées de 60 ans et plus, 1950-2050. Figure issue du rapport *Dementia: a public health priority*, WHO and AD International (World Health Organization and Alzheimer's Disease International, 2012).

Prévalence et incidence des démences

Les démences sont largement sous-diagnostiquées en population générale (Helmer et al., 2008). Ce sous-diagnostic peut obéir à divers facteurs comme un contexte multi-pathologique, l'inexistence d'un traitement curatif (Helmer et al., 2008) ou un accès médical limité en raison de facteurs géographiques et/ou culturels divers (Cornutiu, 2015). Les études épidémiologiques en population générale, avec recherche et diagnostic actif des démences, permettent d'estimer la prévalence et l'incidence de ces pathologies. Ainsi, dans les années 2000 leur prévalence était estimée à 6-8% après 65 ans (Lobo et al., 2000) ; l'incidence s'accroît exponentiellement avec l'âge, variant approximativement de 2,4 pour 1000 personnes-année (PA) entre 65-69 ans à plus de 50 pour 1000 PA après 85 ans (Fratiglioni et al., 2000). Du fait du vieillissement de la population, le nombre de personnes démentes, estimé à environ 35 millions au niveau mondial en 2010 devrait ainsi atteindre plus de 100 millions en 2050 (Figure 3) si l'incidence à un âge donné reste inchangée (World Health Organization and Alzheimer's Disease International, 2012). Les dernières estimations du

World Alzheimer Report annoncent environ 131,5 millions en 2050 (Prince et al., 2015). En Europe, plus de 6 millions de personnes présentaient une démence en 2010 et ce nombre devrait atteindre 14 millions en 2050. Sur cette même période, la France devrait passer de 754 000 cas estimés en 2010 à plus de 1,8 millions en 2050 (Mura et al., 2010).

Cependant, plusieurs publications ont récemment analysé les tendances évolutives des démences, mettant en évidence une tendance à la baisse actuellement par rapport aux décennies antérieures (Grasset et al., 2016; Matthews et al., 2016; Prince et al., 2016; Rocca et al., 2011; Satizabal et al., 2016; Schrijvers et al., 2012). Cette diminution de l'incidence et de la prévalence des démences pourrait notamment être attribuée à l'amélioration du niveau d'éducation, au meilleur contrôle médical des maladies cardiovasculaires et à l'amélioration de l'hygiène de vie (Winblad et al., 2016). Si cette baisse est réelle, les estimations antérieures du nombre de cas attendus devront être revues à la baisse.

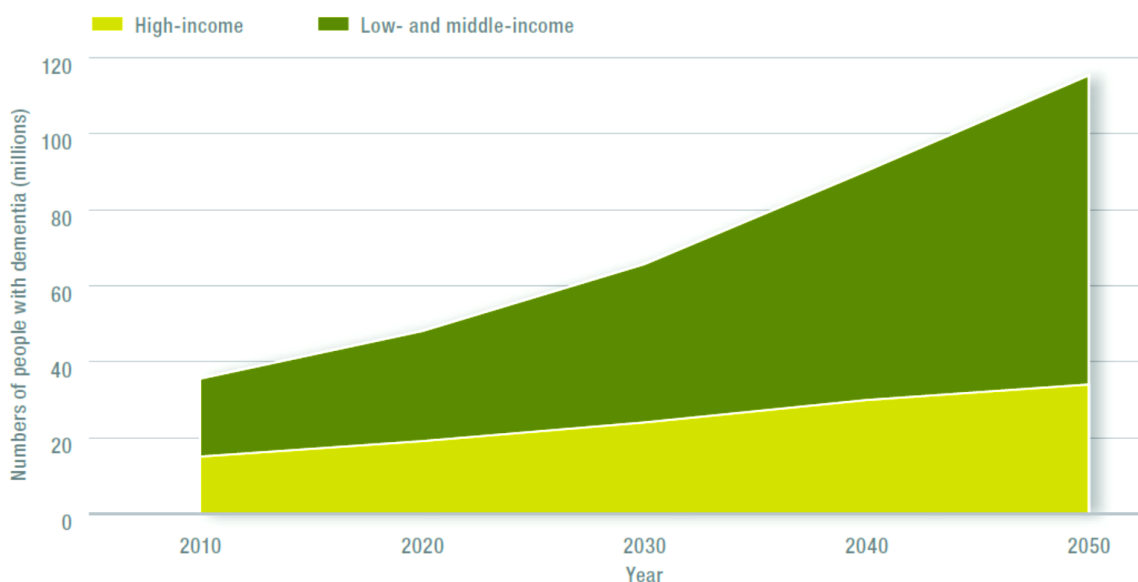


Figure 3. Évolution du nombre de personnes atteintes de démence dans les pays à revenus élevés par rapport aux pays à revenus intermédiaires ou faibles. Figure issue du rapport 2012 de l'OMS et l'*Alzheimer's Disease International*. 'Dementia: a public health priority' (World Health Organization and Alzheimer's Disease International, 2012)

Démences, conséquences et coût économique et social

Le coût des démences dépasse largement les coûts liés aux dépenses de soins. Ces pathologies ont en effet un impact important sur l'entourage du malade et sur la société en général, avec un coût social élevé. Des estimations annuelles de l'ensemble des ressources employées pour prendre en charge la MA en France s'élevaient à 9,9 milliards d'euros en 2005, dont près de 55% restaient à la charge des familles (Gallez, 2005). Une part importante du coût lié aux démences est due à leur impact majeur en termes de dépendance. Cette dernière dure dans le temps, avec le plus souvent plusieurs années passées à un stade de dépendance sévère

(Alzheimer's Association, 2016). La démence représente ainsi une part très importante de la dépendance chez les sujets âgés. Aux Etats-Unis, par exemple, plus de 80% des utilisateurs de services de soins spécialisés ont une MA (Alzheimer's Association, 2016). En France, la cohorte Paquid a montré que les trois-quarts des personnes présentant une dépendance pour les activités de base de la vie quotidienne (ADL) étaient démentes (Helmer et al., 2006). La prise en charge de cette dépendance est assurée soit par les aidants informels (famille, entourage de la personne démente), soit par des aidants professionnels à domicile avec des services personnalisés ou en institution. La prise en charge nécessite d'être adaptée à la pathologie et elle est souvent plus complexe que la prise en charge pour d'autres maladies chroniques (Alzheimer's Association, 2015a). Ainsi, le coût global de la prise en charge est plus élevé lors d'une démence (Nordberg et al., 2007). Les coûts associés à l'implémentation, à l'accès et au financement de services de soins spécialisés sont considérables et ont été estimés à 226 milliards de dollars pour les Etats-Unis en 2015 (Alzheimer's Association, 2015b).

Au-delà du coût de la dépendance, la prise en charge, étant souvent assurée en grande partie par l'entourage du malade, peut avoir des conséquences sur les aidants, avec notamment un stress émotionnel et/ou des symptômes dépressifs, une fragilité et la détérioration de l'état de santé des aidants. Cela peut également entraîner des conséquences sur l'activité professionnelle, pouvant conduire à la réduction du revenu (Kasper et al., 2014). L'état de santé général de l'aidant est d'autant plus impacté lorsque celui-ci fait partie de la famille de la personne démente (MetLife Mature Market Institute and LifePlans, Inc., 2006).

Cause majeure des pathologies démentielles

Les pathologies démentielles peuvent avoir diverses origines mais l'étiologie principale est la MA (Wilson et al., 2012; Winblad et al., 2016). La MA se classe parmi les 8 problèmes majeurs de santé publique au niveau mondial (Cornutiu, 2015). La MA a été décrite pour la première fois par Alois Alzheimer en 1906 chez une patiente souffrant d'hallucinations (Alzheimer et al., 1995). La MA est une pathologie neurodégénérative qui entraîne une détérioration des capacités et compétences cognitives (mémoire, langage, fonctions exécutives, orientation spatio-temporelle, perception visuo-spatiale...) (McKhann et al., 1984, 2011).

Au niveau physiopathologique, la MA se caractérise par la présence de lésions cérébrales qui associent des dépôts de protéine β -amyloïde et des dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (Dubois et al., 2010) (Figure 4). L'accumulation de ces deux types de lésions endommage les circuits d'interconnexion et d'intégrité neuronale (Alzheimer's Association, 2016).

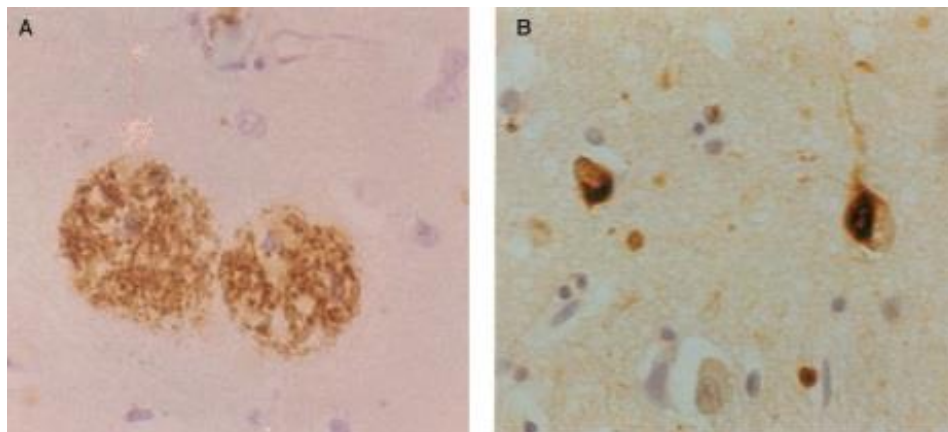


Figure 4. Principales lésions neuropathologiques de la MA. Figure Issue de Richard A. Armstrong 2009 (Armstrong, 2009) : A. plaques séniles formées par les dépôts de la β -amyloïde ($A\beta$) (détection par immunohistochimie). B. enchevêtrements neurofibrillaires dans une coupe du cortex cérébral (détection par immunohistochimie TAU).

En 1984, les premiers critères diagnostiques de la MA ont été publiés (McKhann et al., 1984) s'appuyant exclusivement sur les manifestations (symptômes) de la maladie. En 2011, ces critères ont été revus et actualisés par un groupe de travail du *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA) (McKhann et al., 2011). L'actualisation des critères considère les avancées scientifiques qui permettent de déceler des changements neurodégénératifs et intègre aussi un concept de continuum pour un possible diagnostic dès les phases précoces ou précliniques de la maladie (Sperling et al., 2011). Ainsi, ces nouveaux critères prennent en considération l'utilisation de « biomarqueurs » de la MA qui peuvent s'associer aux changements bien avant l'apparition des signes cliniques (Alzheimer's Association, 2016).

Facteurs de risque des démences et de la MA

Plusieurs facteurs individuels, éventuellement modifiables, ont été décrits comme majorant le risque de démence ou de MA et regroupent des caractéristiques médico-sociales et génétiques (Ballard et al., 2011). Parmi les plus établis on peut citer le niveau d'éducation (Letenneur et al., 2000; Sharp and Gatz, 2011), la dépression (Ownby RL et al., 2006) et les facteurs de risque cardiovasculaires avec notamment l'hypertension artérielle (Nelson et al., 2014), le diabète de type II (Pasquier et al., 2006), l'indice de masse corporelle (IMC) (Chuang et al., 2015), l'inactivité physique (Hamer and Chida, 2009; Wang et al., 2012) et la consommation de tabac (Zhong et al., 2015). Ainsi, avec l'avancée en âge, la MA est rarement « pure » et l'apparition d'une démence est souvent la résultante d'un ensemble de lésions de type

neurodégénératif mais aussi de type vasculaire (Schneider et al., 2009), aboutissant à une démence de type mixte. Outre les données neuropathologiques *post-mortem* permettant d'objectiver ces différents types de lésions, les données d'imagerie cérébrale sont également en faveur de l'implication de processus vasculaires, notamment microvasculaires dans le déclin cognitif et la maladie d'Alzheimer (Knopman, 2007).

Au-delà de ces facteurs, certains facteurs génétiques prédisposent aussi à l'apparition d'une MA. Dans moins de 1% des cas, la MA est d'origine génétique, avec des formes familiales et un début précoce de la maladie avant 60 ans voire avant 50 ans. Trois gènes sont notamment associés à ces formes précoces (APP, PSEN1 et PSEN2) (Bekris et al., 2010; Tanzi, 2012). Aux âges plus avancés, la part génétique est plus faible, même si la présence de l'apolipoprotéine E ϵ 4 (ApoE) multiplie de façon importante le risque de développer une démence, notamment avant 70 ans (Corder et al., 1993; Liu et al., 2013). Plus récemment, la recherche en génétique sur la MA s'est largement développée et de nombreux autres gènes ont été décrits comme étant impliqués dans la survenue d'une MA (Ballard et al., 2011; Lambert et al., 2013). Mais le sur-risque associé à ces gènes reste très faible (Hardy et al., 2004), et cette recherche génétique a surtout pour objectif d'identifier des *pathways* métaboliques de cette maladie, avec comme but final une meilleure compréhension de la physiopathologie et le développement de nouveaux traitements.

Manifestations cliniques de la MA et le diagnostic d'une démence

Des éléments cliniques et des manifestations neuropsychologiques sont à la base du diagnostic d'une démence, ils peuvent commencer plusieurs années avant le stade clinique de la maladie (Amieva et al., 2005) et leur progression varie à différents rythmes selon les individus. La démarche diagnostique est basée sur les critères diagnostiques de démence du manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux IV (DSM-IV), et de façon plus récente du DSM-V, dans lequel il n'est plus fait mention de démence mais de trouble cognitif majeur (American Psychiatric Association, 2013; Sachdev et al., 2014). La progression des altérations neurodégénératives influence une série de capacités essentielles et nécessaires à l'être humain pour mener une existence indépendante d'un tiers. Ainsi, les premières étapes d'une MA auront une influence sur plusieurs fonctions cognitives, avec au premier plan la mémoire épisodique, et une influence associée sur les activités instrumentales de la vie quotidienne ou IADL (*Instrumental Activities of Daily Living*) (Lawton and Brody, 1969) qui correspondent aux activités telles que téléphoner, utiliser des moyens de transports, gérer ses finances, faire les courses... A un stade plus avancé de la maladie, les patients nécessiteront l'aide d'un tiers pour gérer une ou plusieurs activités de base de la vie quotidienne

(Alzheimer's Association, 2016), appelées aussi *Activities of Daily Living* ou ADL (Katz et al., 1963). Ces activités correspondent aux tâches telles que faire sa toilette, se nourrir, s'habiller, s'orienter dans le temps et dans l'espace, gérer le budget, les déplacements (mobilité), la communication et le contact avec leur environnement.

Le diagnostic étiologique de la MA s'appuie sur les critères diagnostiques de NINCDS-ADRDA. Il est basé sur l'évaluation neuropsychologique à l'aide de tests cognitifs, la présentation clinique de la maladie, les facteurs associés particulièrement la co-morbidité vasculaire, et sur les examens complémentaires, notamment l'imagerie médicale. L'utilisation de biomarqueurs, notamment biomarqueurs du liquide cérébro-spinal (LCS), peut parfois aider au diagnostic mais n'est pas systématique. Le diagnostic nécessitera si possible la collaboration de l'entourage du patient, à partir duquel le médecin pourra obtenir l'histoire médicale et familiale complète. L'interrogatoire de l'entourage aide à évaluer les changements de comportement et l'évolution des capacités du patient, la notion de déclin cognitif étant primordiale. Outre les examens permettant d'apporter des arguments en faveur du diagnostic et de son étiologie, les examens complémentaires peuvent également permettre de réaliser un diagnostic différentiel, afin d'exclure d'autres causes potentielles pouvant expliquer les manifestations cliniques (présence de tumeur, traumatismes crâniens,...). Tout ce processus diagnostique est coûteux en termes de professionnels impliqués, de temps mais également en termes de tests et d'examens complémentaires (Alzheimer's Association, 2016).

Imagerie cérébrale dans le diagnostic de la MA

La démarche diagnostique combine des signes cliniques et certains examens complémentaires (Dubois et al., 2010). Le scanner ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale morphologique est un examen systématiquement recommandé pour l'exploration de tout trouble cognitif, permettant de détecter une éventuelle autre cause des troubles, et d'objectiver la présence d'une atrophie (notamment d'une atrophie hippocampique) ou de lésions vasculaires (Haute Autorité de Santé, 2011). Au-delà de l'imagerie morphologique, l'utilisation de traceurs spécifiques des lésions de la MA est possible ; ces techniques sont cependant complexes et coûteuses et restent actuellement essentiellement du domaine de la recherche.

Importance des biomarqueurs dans le diagnostic précoce de la MA

L'avancée scientifique des dernières décennies a permis d'identifier des biomarqueurs fortement associés aux lésions neurodégénératives de la MA (Clark et al., 2003) permettant

ainsi sa détection (Dubois et al., 2010). L'usage *in vivo* des biomarqueurs a permis d'intégrer de façon plus précoce l'identification des lésions dans le diagnostic de la MA ce qui peut impacter la prise en charge de cette dernière (Mandel et al., 2010). L'idée sous-jacente est qu'un diagnostic précoce pourrait permettre la mise en place d'interventions préventives afin d'en limiter sa progression et d'éviter la survenue de complications. Les biomarqueurs se modifiant avant les premières manifestations cliniques, cela permet de se situer en amont de ces manifestations (Figure 5). Ainsi, la détection de ces anomalies physiopathologiques pourrait aider, en amont des signes cliniques, à tester l'efficacité de nouvelles stratégies thérapeutiques de neuroprotection et/ou curatives (Mandel et al., 2010).

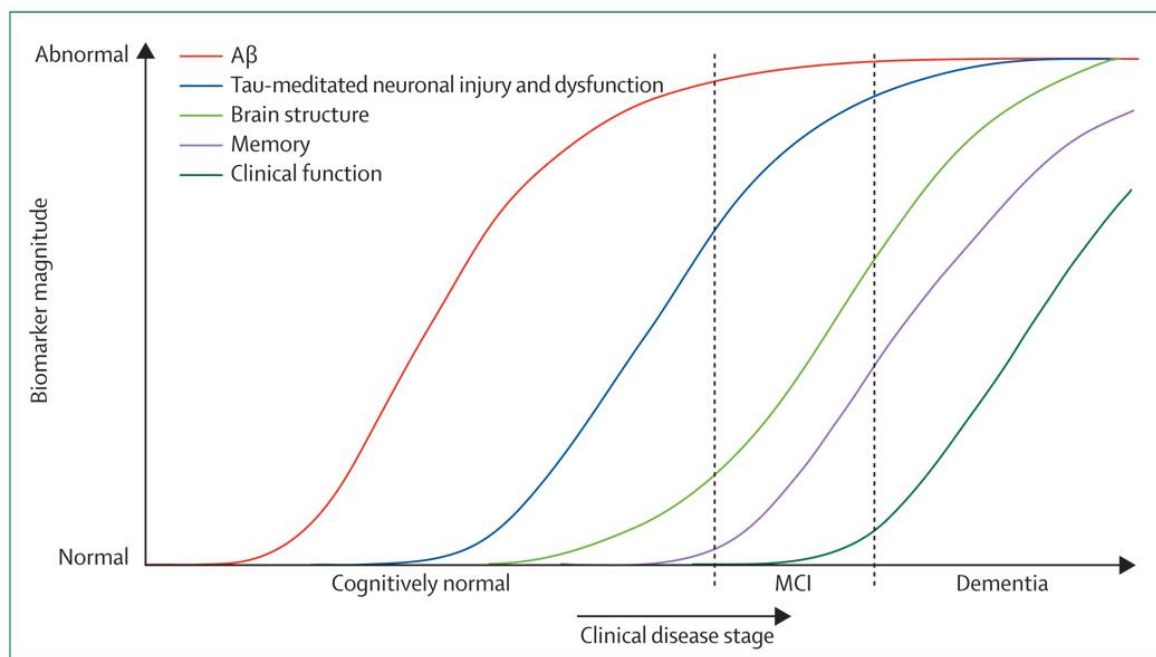


Figure 5. Modèle hypothétique de la dynamique des biomarqueurs dans les phases précliniques de la MA. Aβ= protéine β-amyloïde ; MCI=Mild Cognitive Impairment. Figure issue de Jack et al. 2010 (Jack et al., 2010)

Dans un souci de simplicité de présentation, les différents biomarqueurs seront groupés dans deux catégories distinctes : les biomarqueurs liés aux modifications anatomopathologiques et les biomarqueurs liés aux autres processus physiopathologiques.

Biomarqueurs des altérations anatomopathologiques

Ces biomarqueurs reflètent des changements *in vivo* issus des pertes neuronales et synaptiques. L'IRM permet ainsi de mettre en évidence des atrophies plus prononcées dans certaines régions. La région hippocampique est l'une des premières à être atrophiée ; l'atrophie touche également la partie latérale du lobe temporal et le néocortex latéral. Avec l'avancée de la maladie, d'autres structures seront également touchées, comme le cortex

frontal et cingulaire postérieur. L'atrophie hippocampique est corrélée aux manifestations cliniques de la MA et peut être aussi présente dans d'autres types de démences ; son identification isolée ne permet donc pas de faire un diagnostic de MA (Dubois et al., 2010).

Biomarqueurs des autres processus physiopathologiques

Ils font appel soit aux techniques d'imagerie cérébrale soit aux dosages dans le LCS des molécules associées aux lésions caractéristiques de la MA (DNF et plaques β -amyloïdes). Au niveau du LCS une diminution de la protéine β -amyloïde (stockée au niveau cérébral et donc diminuée dans le LCS) et une augmentation de la protéine tau totale et tau hyperphosphorylée, ainsi qu'une altération du rapport protéine β -amyloïde/protéine tau, font évoquer le diagnostic de MA (Clark et al., 2003). Les estimations de sensibilité du dosage de la protéine β -amyloïde dans le LCS se situent entre 36% et 100% alors que la spécificité se situe entre 29% et 91% de la détection de la protéine (Tableau 1). Néanmoins, l'usage en routine des biomarqueurs du LCS est très loin d'être systématique, car il nécessite une ponction lombaire pas toujours bien acceptée et avec de potentiels effets secondaires.

Tableau 1. Résultats d'études utilisant la détection de la protéine β -amyloïde 42 pour la détection de la MA dans le liquide cérébro-spinal. Tableau issu de Ritchie *et al.* 2014. (Ritchie et al., 2014)

Study	TP	FP	FN	TN	Abeta 42 Threshold	Threshold Unit of measurement	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)	Sensitivity (95% CI)	Specificity (95% CI)
Galluzzi 2010	18	17	4	25	500.0	ng/l	0.82 [0.60, 0.95]	0.60 [0.43, 0.74]		
Bjerke 2009	18	43	2	99	512.0	ng/l	0.90 [0.68, 0.99]	0.70 [0.61, 0.77]		
Zetterberg 2003	15	12	7	19	532.0	ng/l	0.68 [0.45, 0.86]	0.61 [0.42, 0.78]		
Hampel 2004	24	10	5	13	679.0	ng/l	0.83 [0.64, 0.94]	0.57 [0.34, 0.77]		
Chiasserini 2010	17	2	6	16	741.0	ng/l	0.74 [0.52, 0.90]	0.89 [0.65, 0.99]		
Hansson 2007	53	36	4	41	0.64	ng/ml	0.93 [0.83, 0.98]	0.53 [0.42, 0.65]		
Blom 2009	9	9	5	5	82.0	pM	0.64 [0.35, 0.87]	0.36 [0.13, 0.65]		
Parnetti 2006	4	4	7	40	500.0	pg/l	0.36 [0.11, 0.69]	0.91 [0.78, 0.97]		
Shaw 2009	32	113	5	46	192.0	pg/ml	0.86 [0.71, 0.95]	0.29 [0.22, 0.37]		
Hertze 2010	47	33	5	75	209.0	pg/ml	0.90 [0.79, 0.97]	0.69 [0.60, 0.78]		
Monge-Arghes 2011	9	10	2	16	320.0	pg/ml	0.82 [0.48, 0.98]	0.62 [0.41, 0.80]		
Papaliagkas 2009	5	11	0	37	472.0	pg/ml	1.00 [0.48, 1.00]	0.77 [0.63, 0.88]		
Kester 2011	32	16	10	42	495.0	pg/ml	0.76 [0.61, 0.88]	0.72 [0.59, 0.83]		
Vos 2013	62	41	29	82	500.0	pg/ml	0.68 [0.58, 0.78]	0.67 [0.58, 0.75]		

Outre l'imagerie morphologique, une technique d'imagerie pouvant être utilisée dans le diagnostic de MA est la tomographie par émission de positon (TEP). La TEP-FDG (^{18}F -fluorodésoxyglucose) utilise le glucose radiomarqué comme traceur, et permet de mesurer le métabolisme des structures cérébrales, pouvant ainsi révéler un hypométabolisme dans certaines régions, notamment le cortex cingulo-postérieur et temporo-pariétal. Cet examen peut être utilisé en clinique, notamment en cas de présentation atypique de la maladie. D'autres types d'imagerie TEP permettent de visualiser les lésions de la MA. La TEP-amyloïde permet ainsi de visualiser les plaques amyloïdes avec des produits de contraste

(radio-ligands) comme le *Pittsburgh Compound-B* (PiB) (Klunk et al., 2004), le florbetaben (Rowe et al., 2008) et le florbetapir (F-AV-45) (Choi et al., 2009). De façon très récente la TEP-tau permet maintenant de visualiser la protéine tau. Ces techniques d'imagerie amyloïde et tau sont pour l'instant réservées à la recherche.

D'autres biomarqueurs d'imagerie fonctionnelle existent, comme la tomographie par émission monophotonique (TEMP) qui évalue le débit sanguin cérébral à l'aide de traceurs (^{99m}Tc -HMPAO et ^{99m}Tc -ECD) et qui pourrait être utile pour différencier la MA d'une démence vasculaire, fronto-temporale ou d'une démence à corps de Lewy (Yeo et al., 2013). Des imageries TEMP permettent aussi de visualiser des systèmes de neurotransmission spécifiques grâce aux ligands et de différencier ainsi la MA de la démence à corps de Lewy ou de la démence de la maladie de Parkinson grâce à un transporteur de la dopamine (123-I-fluoropropylcarboxy-metoxynortropane) (McKeith et al., 2007).

Dans la pratique, tous les biomarqueurs ci-dessus nécessitent des ressources humaines, matérielles, logistiques et économiques très importantes, ce qui limite leur usage en pratique clinique. La généralisation de l'utilisation de ces biomarqueurs ne peut pas être étendue à toutes les personnes âgées qui pourraient en bénéficier ni à tous les systèmes sanitaires des différents pays.

Lien entre l'œil et le cerveau

L'œil et le cerveau ont une origine embryologique commune ; la rétine, le nerf optique et le système nerveux central (SNC) se développent à partir du diencephale (London et al., 2013). Quant aux structures vasculaires rétinienne, elles partagent aussi des similarités embryologiques, physiologiques et des caractéristiques anatomophysiologiques similaires avec le cerveau (Patton et al., 2005). Ainsi, l'œil peut être considéré comme une partie du SNC.

Les structures nerveuses de la rétine sont composées principalement de neurones spécialisés appelés cellules ganglionnaires (CG) et de leurs axones. Les axons forment la couche de fibres nerveuses rétinienne ou RNFL (*Retinal Nerve Fiber Layer*) (Figure 6) et convergent vers la papille pour constituer le nerf optique. Anatomiquement, bien que les corps des CG se situent dans la rétine, une grande partie des axones, après la convergence vers la papille, se situent en dehors de l'œil ; les fibres nerveuses, non myélinisées au niveau de la rétine, deviennent myélinisées à la sortie de l'œil. Les axones sortant du globe oculaire formeront le nerf optique et le chiasma optique qui acheminent le signal vers le corps géniculé latéral du thalamus et le colliculus supérieur du mésencéphale ; les signaux sont ensuite transmis via les

radiations optiques au cortex visuel primaire (London et al., 2013). Les fibres nerveuses intraoculaires qui composent la RNFL étant non myélinisées, leur épaisseur correspond ainsi à l'épaisseur axonale. La Tomographie par Cohérence Optique ou OCT (*Optical Coherence Tomography*) est une technique d'imagerie ophtalmologique qui permet d'évaluer les structures nerveuses rétiniennes de façon très rapide, non invasive, sans contact et avec une haute précision (Figure 6). Cette technique a aussi un très faible coût, par rapport aux examens d'imagerie cérébrale ou des dosages au niveau du LCS.

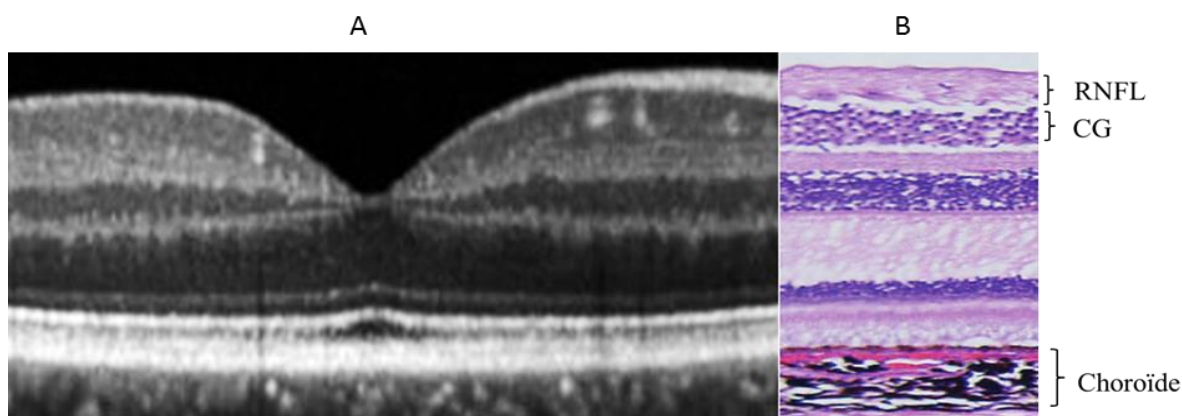


Figure 6. Les couches des cellules ganglionnaires, de la RNFL et la choroïde observées en (A) OCT et (B) à l'histologie. RNFL=couche des fibres nerveuses rétiniennes ; CG=couche des cellules ganglionnaires. La figure histologique est issue de Zhang et al. 2011 (Zhang et al., 2011)

La forte similarité fonctionnelle qui unit les structures nerveuses de l'œil à celles du SNC a permis l'amélioration des connaissances sur la réponse axonale face à une lésion du SNC (Benowitz and Yin, 2008). Par exemple, nous savons aujourd'hui que la régénération axonale suite à une lésion est limitée dans le nerf optique et dans le cerveau de façon similaire (London et al., 2013). Ainsi, dans les deux cas il existe un environnement restrictif pour le processus de régénération avec l'absence de facteurs favorisant la croissance neurale (Filbin, 2003; Fischer et al., 2004; Lingor et al., 2007; Rolls et al., 2008) et la présence de facteurs inhibiteurs de celle-ci (débris de myéline et facteurs associés, astrocytes réactifs, certaines protéoglycanes, stress oxydatif...) (London et al., 2013). L'installation de cet environnement restrictif et neurotoxique finira par étendre la lésion au voisinage neuronal, provoquant un phénomène de dégénération secondaire (Levkovitch-Verbin et al., 2001; Yoles and Schwartz, 1998).

Sur le plan immunitaire, l'œil présente des caractéristiques immunitaires spécialisées particulièrement similaires à celles du SNC, ce qui produit des interactions contrôlées avec le système immunitaire (Streilein, 2003). L'œil présente aussi des mécanismes micro-anatomiques de barrière pour la circulation sanguine (Kaur et al., 2008) qui peuvent aider à la

conception des composés thérapeutiques ciblant le cerveau et la rétine (Watanabe et al., 2012).

Concernant les structures vasculaires de la rétine, il existe deux réseaux vasculaires séparés : la vascularisation rétinienne et la vascularisation choroïdienne. Ces deux réseaux proviennent de l'artère ophtalmique, elle-même issue de l'artère carotide interne, qui se divise ainsi :

- les artères ciliaires postérieures, qui donnent la vascularisation choroïdienne, ou choroïde, vascularisant le tiers externe de la rétine et notamment les photorécepteurs pour lesquels elle est la principale source d'oxygène et de nutriments (Figure 7). Cette vascularisation se fait à partir de la choriocapillaire par diffusion à travers la membrane de Bruch. La choriocapillaire forme une couche unique de capillaires. Depuis peu, une nouvelle fonction de l'OCT, le module *Enhanced Depth Imaging* (EDI) permet la visualisation de cette couche et la mesure de son épaisseur.

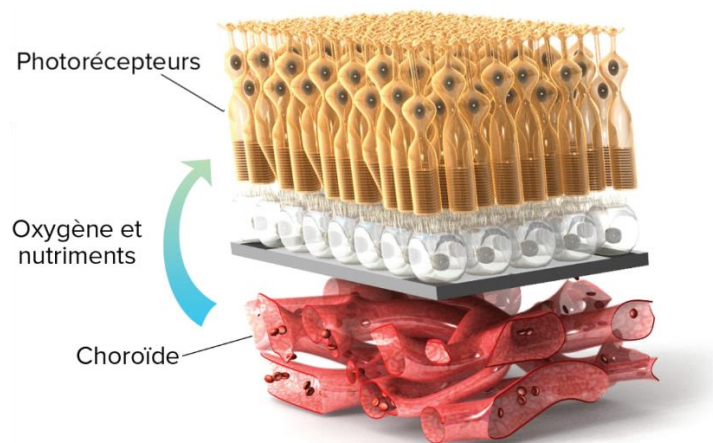


Figure 7. Réseau choroïdien de la rétine. Figure issue du programme *The Science of AMD* (www.scienceofamd.org/fr) de l'*Angiogenesis Foundation's*

- l'artère centrale de la rétine, qui donne la vascularisation rétinienne, vascularisant les 2/3 internes de la rétine. Au niveau de la papille, l'artère centrale de la rétine se divise en deux branches supérieures et inférieures qui elles-mêmes vont à nouveau se diviser pour donner les artères temporales, supérieures et inférieures et les artères nasales supérieures et inférieures. Artères et artérioles rétinienne donnent naissance aux capillaires rétinien. Ce réseau vasculaire rétinien peut être visualisé directement sur les photos rétinienne (Figure 8).

Le cumul des similitudes entre l'œil et le reste du SNC fait qu'une grande partie des connaissances sur l'œil peuvent être applicables au cerveau (London et al., 2013), ce qui représente un grand avantage pour la recherche sur le SNC. Dans ce cadre, l'œil -et

notamment la partie nerveuse de la rétine- pourrait être un outil de diagnostic précieux pour les maladies neurodégénératives ainsi que pour le développement de thérapeutiques.

Atteinte des structures nerveuses et vasculaires rétinienne comme possibles biomarqueurs d'altérations neurodégénératives du SNC, telle que la MA

Dans les années 1980 et 1990, avant l'irruption de moyens techniques plus avancés pour l'évaluation rétinienne, des études histologiques *post-mortem* ont montré la dégénérescence des fibres ganglionnaires du nerf optique et de la rétine chez les patients atteints de la MA (Blanks et al., 1989; Hinton et al., 1986; Sadun and Bassi, 1990). Ces études ont également montré qu'en dehors des fibres nerveuses, les autres couches cellulaires étaient relativement conservées. Plus tard, l'observation clinique ou par photographie du fond d'œil de sujets MA, a rapporté une altération des fibres nerveuses (Hedges et al., 1996) et une plus grande excavation du nerf optique, considérée comme un signe indirect de perte des fibres ganglionnaires (Danesh-Meyer et al., 2006; Tsai et al., 1991). Ainsi, l'altération de la partie nerveuse de la rétine pourrait présenter une utilité pour refléter l'altération neurodégénérative du SNC.

D'autre part, avec l'avancée en âge, les processus neurodégénératifs du SNC peuvent s'associer aux lésions vasculaires (Knopman, 2007; Schneider et al., 2009). Ainsi, des études ont suggéré que la progression de la démence était un processus synergique entre les processus neurodégénératifs et les altérations vasculaires (Cheung et al., 2014a; Provenzano et al., 2013; Takano et al., 2007; de la Torre, 2004). Cependant, l'évaluation *in vivo* des altérations affectant la microcirculation cérébrale nécessite la réalisation d'une imagerie cérébrale, examen relativement long et coûteux. L'étude des structures vasculaires rétinienne pourrait permettre d'évaluer *in vivo* la présence d'altérations vasculaires de façon beaucoup plus rapide (Cheung et al., 2014). En effet, les structures vasculaires rétinienne peuvent être facilement visualisées et quantifiées de façon non-invasive, grâce à une photographie rétinienne. Ainsi, différentes études ont démontré un lien entre les altérations vasculaires rétinienne et les atteintes à l'imagerie cérébrale. Les lésions de la substance blanche, plus importantes lors d'une MA (Bilello et al., 2015; Gordon et al., 2015), sont plus fréquentes chez les sujets présentant des altérations microvasculaires rétinienne (microanévrismes, hémorragie rétinienne,...) sur les photographies rétinienne (Wong et al., 2002a). Une réduction du calibre vasculaire, du réseau vasculaire rétinien (par *fractal dimension*) et l'augmentation de la tortuosité des artérioles et veinules (Figure 8) ont aussi été observées chez les sujets ayant une MA, par rapport aux sujets contrôles sans altération cognitive (Cheung et al., 2014b; Williams et al., 2015).

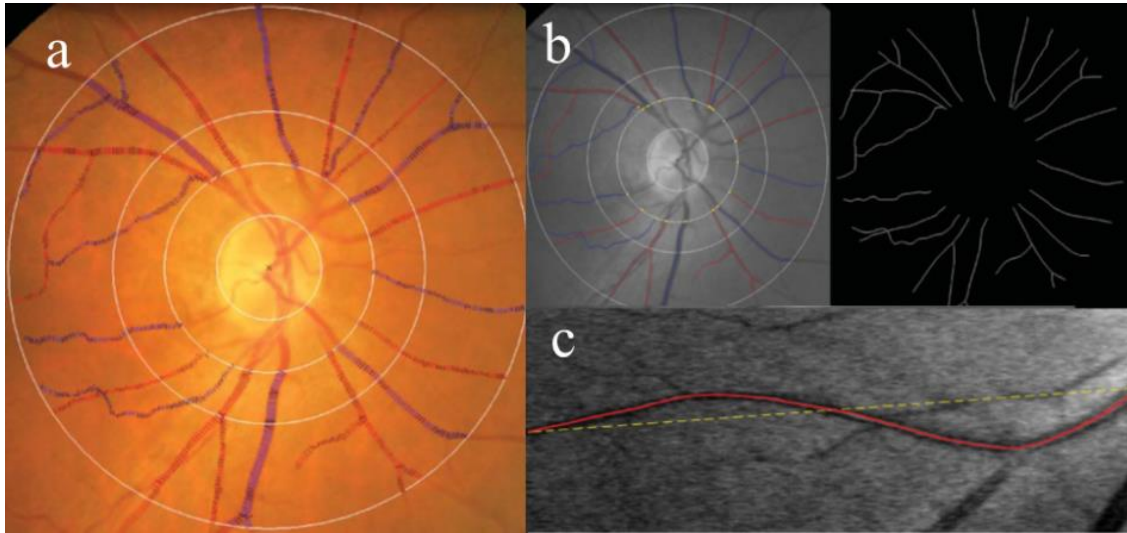


Figure 8. Mesures du calibre vasculaire rétinien (a), de la *fractal dimension* (b) et de la tortuosité vasculaire (c) avec le logiciel SIVA (*Singapore I Vessel Assessment* de l'Université Nationale de Singapour) à partir d'une photographie rétinienne. Les artérioles sont signalées en rouge et les veinules en bleu. Figure adaptée de Cheung *et al.*, 2014 (Cheung et al., 2014a)

Ainsi, l'examen des structures nerveuses (CG et RNFL) et vasculaires de la rétine pourrait constituer une possible « fenêtre » pour l'évaluation des structures cérébrales. Depuis les années 90', l'examen des structures rétinienne a fait un véritable saut-en-avant avec l'apparition de l'OCT permettant de mesurer les épaisseurs de différentes couches rétinienne, et notamment celle de la RNFL. De façon plus récente, le mode EDI de l'OCT permet maintenant de mesurer une couche qui n'était pas accessible avec les logiciels antérieurs, la couche des vaisseaux choroïdiens. Enfin, sur le plan de la vascularisation rétinienne, au-delà de l'analyse visuelle du réseau vasculaire rétinien, de nouvelles techniques d'évaluation semi-automatique de ce réseau sont maintenant disponibles. Cela a permis d'approfondir l'exploration des possibles liens entre rétine et atteintes au niveau cérébral.

Technique d'imagerie OCT pour la détection de processus neurodégénératifs

L'OCT permet l'obtention d'une image bidimensionnelle de diffusion optique de différents tissus internes, notamment la région péripapillaire de la rétine (Huang et al., 1991). L'OCT produit une image obtenue en coupe transversale avec une résolution de quelques micromètres. En 1993, l'OCT a été utilisée pour la première fois *in vivo* sur la rétine (Swanson et al., 1993) (Figure 9) et l'image obtenue correspondait analogiquement à ce qui est perceptible dans une échographie à ultrasons. Depuis, quatre générations améliorées d'OCT ont vu le jour jusqu'à se transformer en un outil d'imagerie ophtalmologique très performant et très répandu. La 3^{ème} génération de l'OCT, déjà très répandue en pratique ophtalmologique, était l'OCT du domaine temporel ou TD-OCT (*time-domain OCT*) (Figure

10). La TD-OCT envoie un faisceau lumineux infrarouge (longueur d'onde de 800-840 nm) vers un réfractomètre qui le sépare en deux ; l'une des parties du faisceau se dirige vers un miroir de référence mobile et l'autre touche le tissu oculaire cible (Bajwa et al., 2015; Yaqoob et al., 2005). Le temps différentiel du trajet de réflexion des faisceaux est mesuré et transformé pour chaque point de tissu scanné sur un patron en forme d'étoile ce qui nécessite un temps de scan relativement long (avec 400 balayages axiaux, ou A-scans, par seconde) et limite la qualité de l'image (zones non couvertes par le scan en étoile) (García Martín et al., 2011). L'examen dure entre 5 et 10 minutes, temps durant lequel la personne doit fixer un objectif sans bouger la tête (Lamirel et al., 2010). Aujourd'hui, la 4^{ème} génération de l'OCT, appelée *spectral-domain* OCT (SD-OCT) permet la quantification de toutes les couches rétinienne avec une qualité d'image optimisée à haute résolution (Rebolleda et al., 2015) et une excellente reproductibilité, notamment sur l'épaisseur de la RNFL (Blumenthal et al., 2000; Serbecic et al., 2011).

La SD-OCT a changé l'étude du temps de trajet de réflexion par l'étude des patrons du spectre d'interférence des rayons réfractés (Yaqoob et al., 2005) (Figure 9). Ainsi, la SD-OCT envoie un faisceau lumineux vers le tissu cible et le miroir de référence (qui reste fixe). Une fois le signal reflété, une grille le décompose en différents spectres lumineux qui sont envoyés à un spectromètre qui enregistre leur puissance à l'aide d'une caméra. Ce signal est ensuite transformé par un algorithme mathématique (formule d'inversion de Fourier) qui traduit l'information reflétée par le tissu sur une distribution axiale (A-scan). Deux autres miroirs galvanométriques interviennent pour compléter cette information latéralement. Plusieurs A-scan sont répétés sur des positions adjacentes ce qui permet de générer une image continue (B-scan) et de même, plusieurs B-scan adjacents peuvent être utilisés ensembles pour obtenir des données volumétriques (Su et al., 2014).

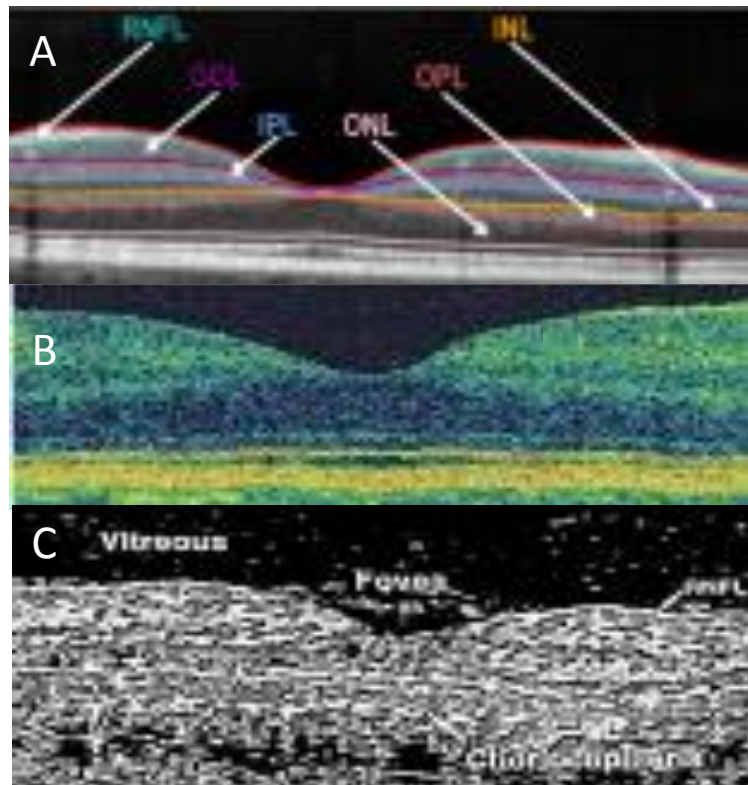


Figure 9. Images de la zone maculaire de la rétine humaine obtenues sur une SD-OCT (A), une TD-OCT moderne (B) et sur la première publication de 1993 pour une OCT utilisée in vivo (C). (Image créée à partir des images publiées (Swanson et al., 1993), (Yaqoob et al., 2005) et (Oberwahrenbrock et al., 2015). RNFL=couche de fibres nerveuses rétiniennes ; GCL=couche de cellules ganglionnaires de la rétine ; IPL=couche plexiforme intérieure ; INL=couche nucléaire interne ; OPL=couche plexiforme externe ; ONL=couche nucléaire externe.

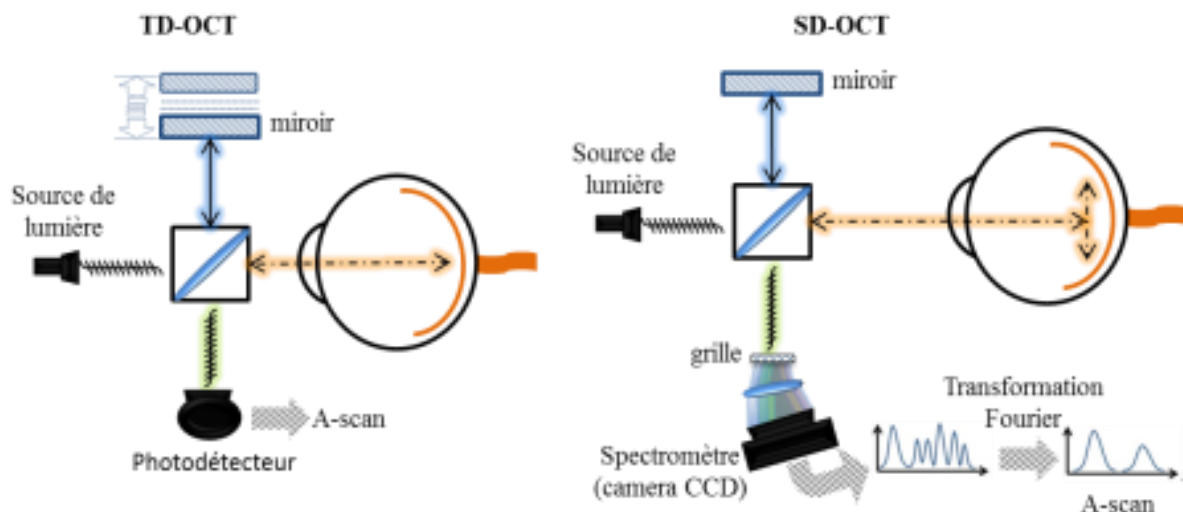


Figure 10. Configuration schématique de l'OCT de spectral-domain (SD-OCT) et de l'OCT time-domain (TD-OCT).

Le fonctionnement du SD-OCT permet de maximiser la qualité d'image grâce à un balayage de 40 000 à 70 000 A-scans/sec. (Bajwa et al., 2015), à une résolution longitudinale de 5 à 7µm et à la réduction d'artefacts (liés aux mouvements des yeux). Cette réduction d'artefacts s'obtient par le miroir de référence fixe (qui augmente la vitesse de l'obtention de l'image) et par un logiciel de suivi de mouvements oculaires (*Eye-Tracking technology*), présent sur certains appareils (García Martín et al., 2011). Tous ces avantages techniques génèrent une haute qualité d'image qui s'additionnent à l'excellente reproductibilité pour toutes les couches de la rétine (García Martín et al., 2011; Oberwahrenbrock et al., 2015). Ce type d'examen OCT pourrait être particulièrement intéressant pour le suivi afin de détecter des changements légers de l'épaisseur des fibres nerveuses péripapillaires (Bajwa et al., 2015; Rebolleda et al., 2015; Serbecic et al., 2011) et neuronales (Rebolleda et al., 2015) lors de processus neurodégénératifs. Cependant, si cet examen est maintenant utilisé en pratique clinique dans le diagnostic et le suivi de pathologies oculaires, son utilisation dans la pratique clinique en neurologie reste par contre très limitée (Lamirel et al., 2010).

Imagerie issue de l'OCT et exploration de biomarqueurs réiniens en lien avec les processus neurodégénératifs

Du point de vue de la neuro-ophtalmologie, l'OCT permet une réelle évaluation de l'intégrité quantitative et qualitative des voies visuelles afférentes lors des neuropathies ou processus dégénératifs pouvant toucher l'œil. Cette évaluation peut même être reproductible au fil du temps chez un même patient lorsque le protocole et la machine utilisés sont les mêmes (Lamirel et al., 2010). Ceci a permis, par exemple, d'améliorer les connaissances sur les neuropathies optiques héréditaires et a apporté des éléments sur les altérations réiniennes dans des pathologies neurodégénératives comme le glaucome ou la sclérose en plaques (SEP). La version TD-OCT a été principalement utilisée pour mesurer l'épaisseur de la RNFL péripapillaire (Lamirel et al., 2010). Pourtant, la TD-OCT présente des limites quant à sa capacité à isoler la couche des CG, contrairement à la SD-OCT qui permet d'isoler cette couche. L'OCT a rendu possible l'évaluation des caractéristiques de normalité des structures nerveuses de la rétine (en confirmant les découvertes antérieures) et aussi d'examiner les changements apparus lors du vieillissement ou lors de différentes maladies.

Avant l'apparition de l'OCT, on savait déjà que les sujets normaux présentaient une épaisseur péripapillaire de la RNFL avec un profil en « double bosse » (Dichtl et al., 1999) ; l'OCT a confirmé cette caractéristique (Budenz et al., 2007; Kanamori et al., 2003; Kanno et al., 2010; Kiliç et al., 2010; Lu et al., 2010; Savini, 2005) en mettant en évidence une épaisseur plus

importante dans les secteurs supérieur et inférieur et plus spécifiquement les inféro- et supéro-temporaux, par rapport aux secteurs nasal et temporal respectivement (Figure 11).

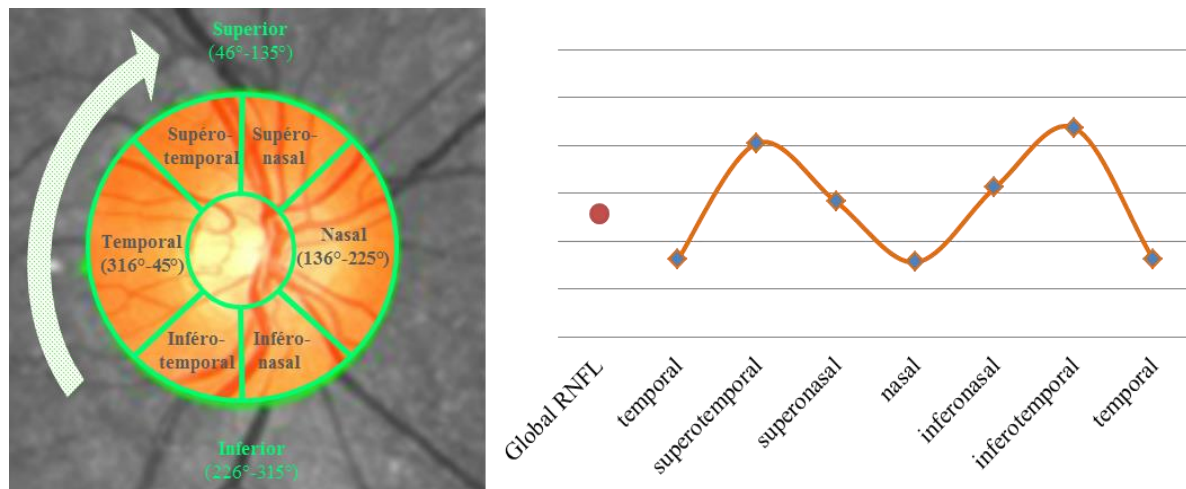


Figure 11. Profil des épaisseurs de la RNFL sur les sujets normaux

Différents facteurs influencent la diminution des axones des cellules ganglionnaires, au nombre de 1 à 1,2 milliards chez les adultes sains (Balazsi et al., 1984). En dehors d'un contexte pathologique, le principal facteur influençant cette variation est l'âge (Lamirel et al., 2010). Le vieillissement normal entraîne une réduction de l'épaisseur de la RNFL tout au long de la vie d'environ 5 000 axones/an (~2500 axones/an avant la cinquantaine et ~7500 axones/an après 50 ans) (Balazsi et al., 1984). Ainsi, l'épaisseur de la RNFL sera corrélée au vieillissement avec, selon différentes études, une perte annuelle de 0,19 à 0,56 μm (Tableau 2) (Figure 12).

Tableau 2. Perte d'épaisseur de la RNFL dépendant de l'âge selon différentes études sur des sujets normaux.

Année	Auteurs	Diminution d'épaisseur		p
		($\mu\text{m}/\text{an}$)	($\mu\text{m}/10 \text{ ans}$)	
2015	Rougier <i>et al.</i> (Rougier et al., 2015)	-0.56	-5.58	0.003
2014	Patel <i>et al.</i> (Patel et al., 2014)	-0.23	-2.30	<0.01
2013	Celebi & Mirza (Celebi and Mirza, 2013)	-0.37	-3.65	<0.001
2013	Kampougeris <i>et al.</i> (Kampougeris et al., 2013)	-0.19	-1.92	0.001
2011	Feuer <i>et al.</i> (Feuer et al., 2011)	-0.24	-2.40	<0.001
2010	Kanno <i>et al.</i> (Kanno et al., 2010)	-0.22	-2.20	<0.001
2009	Kiliç <i>et al.</i> (Kiliç et al., 2010)	-0.22	-2.23	0.002
2009	Sung <i>et al.</i> (Sung et al., 2009)	-0.42	-4.20	<0.001
2008	Harwerth <i>et al.</i> (Harwerth et al., 2008)	-0.30	-3.00	<0.0001
2003	Alamouti & Funk (Alamouti and Funk, 2003)	-0.44	-4.40	0.002

Le facteur « réduction due à l'âge » a été intégré dans les valeurs normatives de certains logiciels OCT évitant ainsi de confondre le vieillissement normal avec une perte d'épaisseur pathologique (Budenz et al., 2007).

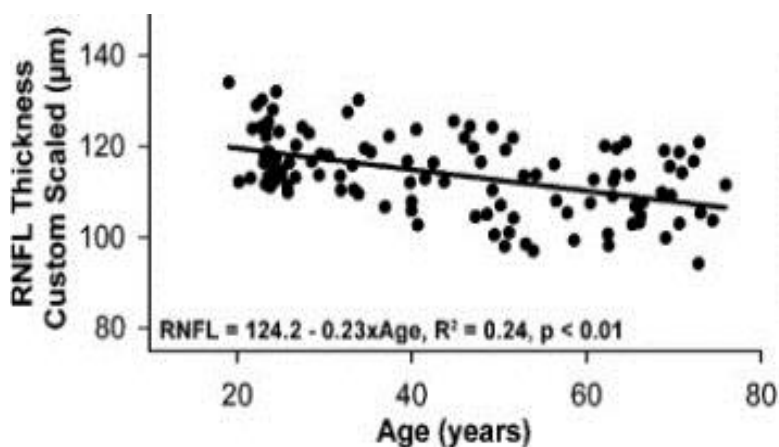


Figure 12. Relation entre l'épaisseur de la RNFL (en μm) et l'âge (en années). Figure issue de Patel *et al.* 2014 (Patel et al., 2014)

Au-delà de la diminution d'épaisseur liée à l'âge mesurée par l'OCT, une variation peut être observée dans différentes pathologies. Ainsi, la RNFL peut être augmentée lors d'un œdème en zone papillaire (Lamirel et al., 2010) mais elle est plus régulièrement diminuée chez les sujets présentant une atrophie optique (toutes causes confondues). Plusieurs études ont ainsi exploré la RNFL comme un possible biomarqueur oculaire de diverses pathologies neurodégénératives du SNC comme la SEP, la MA et le glaucome.

Rétine, OCT et sclérose en plaques (SEP)

Dans la SEP, de nombreuses études cas-témoins ont montré que les sujets atteints d'une SEP avaient une réduction systématique de l'épaisseur de la RNFL (Klistorner et al., 2014; Narayanan et al., 2014; Sabry and Ibrahim, 2010). La fiabilité de l'OCT dans la mesure de la RNFL a permis d'établir la corrélation entre cette dernière et d'importantes altérations volumétriques au niveau de l'IRM des cerveaux de patients atteints de SEP (Gordon-Lipkin et al., 2007; Siger et al., 2008). L'OCT a également permis la mise en évidence d'une corrélation entre une RNFL diminuée et un volume plus important de lésions de substance blanche chez des parents non-malades de sujets atteints de SEP (Gabelic et al., 2013). D'autres études ont montré que la RNFL était associée aux lésions de la microstructure globale du cerveau (Scheel et al., 2014) ainsi qu'à des régions spécifiques du système visuel (Gabilondo et al., 2014; Klistorner et al., 2014; Scheel et al., 2014). L'importance grandissante de l'utilisation de l'OCT dans les études sur la SEP permet de la considérer

comme un biomarqueur important pour la neurodégénérescence liée à cette maladie et pourrait être utile dans de futurs essais de neuroprotection (Rebolleda et al., 2015).

Rétine et OCT dans le contexte d'une déficience cognitive légère (MCI) et/ou une MA

Dans le contexte du MCI et/ou de la MA, l'OCT n'est actuellement utilisée que dans le cadre de la recherche pour l'étude des structures nerveuses de la rétine en lien avec les processus neurodégénératifs, avec de nombreuses publications (Ascaso et al., 2014; Cheung et al., 2015; Coppola et al., 2015; Gao et al., 2015; García-Martí et al., 2013; He et al., 2012; Iseri et al., 2006; Kesler et al., 2011; Kromer et al., 2014; Liu et al., 2015; Lu et al., 2010; Marziani et al., 2013; Moreno-Ramos et al., 2013; Paquet et al., 2007; Thomson et al., 2015; Wang et al., 2015). Ces publications sont basées sur des études cas-témoins : de façon assez consistante les cas (avec une atteinte cognitive, soit MCI soit MA avérée) présentent une RNFL réduite, globale et/ou dans certains quadrants. Néanmoins, le design transversal et le nombre relativement faible de participants dans les études peuvent être considérés comme des aspects limitants de leurs résultats. Cependant, une méta-analyse récente observait que la RNFL pouvait être réduite de -13,4 μm et de -15,9 μm dans le cadre d'un MCI et d'une MA respectivement (Coppola et al., 2015). Globalement, l'épaisseur de la RNFL lors de ces pathologies neurodégénératives peut présenter une diminution bien plus importante que celle attendue lors d'un vieillissement normal. Ainsi, l'évaluation des fibres nerveuses de la rétine par l'OCT pourrait être un biomarqueur potentiel de la neurodégénération du cerveau.

Rétine et OCT dans un contexte de changements dégénératifs liés au glaucome

L'utilisation de l'OCT dans le cadre de l'étude des structures nerveuses lors d'un glaucome a montré une perte en CG rétinienne entraînant une diminution de l'épaisseur de la RNFL (Bussel et al., 2014; Chen, 2009; Gracitelli et al., 2015). D'autres types d'études ont aussi montré l'atteinte du nerf optique et une dégradation du champ visuel (Kwon et al., 2009) chez les sujets glaucomateux. La présence d'un glaucome, plus ou moins avancé, provoque une atteinte généralisée sur l'ensemble des voies visuelles ce qui génère une association entre la diminution de l'épaisseur de la RNFL et la diminution de l'activité cérébrale dans le cortex visuel primaire et secondaire (Murphy et al., 2016). Les altérations retrouvées dans l'œil et le cerveau lors d'un glaucome font que cette maladie peut être considérée comme une véritable pathologie neurodégénérative. Son facteur causal principal est l'élévation de la pression intraoculaire, mais sa physiopathologie est complexe et mal connue. Dans ce cadre, des mécanismes communs entre glaucome et MA pourraient exister et plusieurs hypothèses

physiopathologiques ont été avancées. Parmi l'ensemble des hypothèses, on retrouve notamment l'anomalie de pression du LSC (Wostyn et al., 2009), les dépôts de β -amyloïde (Guo et al., 2007), des phénomènes d'ischémie-hypoxie rétinienne ainsi qu'une altération des cellules gliales cérébrales (Bates et al., 2002; Heneka et al., 2010).

Bien que le lien entre glaucome et MA ne soit pas démontré, certaines études basées sur des données hospitalières (Bach-Holm et al., 2012; Kessing et al., 2007) ou des études cas-témoins (Bayer et al., 2002; Tamura et al., 2006) montrent que le glaucome est plus important chez les sujets avec une MA. Sur ce point, une étude issue de la cohorte 3C-Alienor met en évidence un risque accru de démence (3 années plus tard) chez les participants présentant un glaucome (odds ratio=3,9 [1,5-10,4], $p=0,0054$) (Helmer et al., 2013). Ce sur-risque serait spécifique à l'atteinte neurodégénérative et non liée à la pression intraoculaire. Par la suite, une autre étude en population a montré que les sujets avec un glaucome avaient un risque accru de développer une MA (Lin et al., 2014).

Importance potentielle des structures nerveuses de la rétine dans le diagnostic des processus liés au vieillissement et aux maladies neurodégénératives

De nos jours, parmi les différentes techniques d'imagerie oculaire, l'OCT pourrait présenter une utilité dans le suivi de processus neurodégénératifs. Cependant, la réalisation d'examens neuro-ophtalmologiques complémentaires ne fait pas partie de la pratique clinique pour le diagnostic et le suivi des maladies neurodégénératives comme la MA (García Martín et al., 2011). Il semble donc nécessaire de réaliser des recherches complémentaires pour bien comprendre l'intérêt potentiel des examens rétiens (et notamment la mesure de la RNFL) comme outil diagnostique ou de suivi des pathologies neurodégénératives.

OBJECTIF DE CE TRAVAIL DE THESE

Objectif général

Les potentiels mécanismes communs entre atteintes oculaires et cognition/démence/imagerie cérébrale, nécessitent d'être explorés et confirmés. L'objectif de cette thèse était d'analyser les relations entre différents biomarqueurs rétiens et manifestations cliniques (déclin cognitif, survenue d'une MA ou d'une démence) et d'imagerie cérébrale du vieillissement cérébral. L'objectif initial de cette thèse était de s'intéresser notamment à deux "types" de biomarqueurs au niveau rétinien : les fibres nerveuses d'une part et les structures vasculaires d'autre part.

Nos hypothèses de travail sont que :

- la diminution de l'épaisseur des fibres nerveuses est liée à, ou reflète, la dégénérescence structurale du cerveau en imagerie cérébrale et/ou est associée à un déclin cognitif ou un risque accru de démence ;
- les anomalies microvasculaires de la rétine, les modifications du réseau vasculaire rétinien ou l'épaisseur du réseau vasculaire choroïdien sont associées aux atteintes vasculaires cérébrales détectées en IRM.

Concernant les anomalies microvasculaires de la rétine, les travaux reposant sur l'étude de l'architecture des vaisseaux rétiens n'ont pu être menés à bien au cours de cette thèse en raison des délais pour l'obtention de ces données. En effet, ces données reposent sur l'utilisation d'un logiciel semi-automatique mis au point par une équipe de Singapour (logiciel SIVA, *Singapore I Vessel Assessment*). Ce logiciel permet l'obtention non seulement des calibres des vaisseaux rétiens (artères et veines) mais aussi de paramètres permettant de caractériser toute l'architecture rétinienne (tortuosité des vaisseaux, ramifications, angles). Notre équipe collabore avec l'équipe de Singapour mais les aspects réglementaires et administratifs pour la mise en place de la convention ont pris beaucoup plus de temps que prévu. Les données fournies par ce logiciel ne seront disponibles que d'ici 1 à 2 mois.

Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de cette thèse étaient :

- d'analyser la relation entre l'épaisseur de la RNFL et les performances cognitives et l'évolution des performances cognitives au cours du temps ;
- d'analyser la relation entre l'épaisseur de la RNFL et le risque de démence future ;

- d'évaluer si l'épaisseur de la RNFL est associée aux altérations morphologiques (volumes cérébraux) et de microstructure cérébrale au niveau des zones limbiques et des voies visuelles postérieures ;
- d'évaluer si l'épaisseur de la couche choroïde est associée au volume d'hypersignaux de la substance blanche.

METHODOLOGIE GENERALE UTILISEE

Les cohortes 3 Cités et Alienor

Cette thèse s'est inscrite dans l'étude de cohorte populationnelle 3 Cités Bordeaux-Alienor (Figure 13) qui suit depuis plusieurs années un échantillon de personnes âgées.

L'étude des 3 Cités (3C) est une cohorte qui a débuté dans les années 1999-2000 incluant 9294 personnes de 65 ans et plus, tirées au sort depuis les listes électorales. L'étude a été réalisée dans les villes de Bordeaux (n= 2104), Dijon (n= 4931) et Montpellier (n= 2259). L'objectif principal était d'étudier l'impact des facteurs vasculaires sur le risque de démence. Initialement, les participants ont été contactés par courrier et par téléphone et ont eu à l'inclusion un entretien face-à-face réalisé par des psychologues spécifiquement formés. Les participants ont ensuite été suivis 2, 4, 7, 10 et 12 ans plus tard ; un suivi à 14 ans (pour le centre de Bordeaux) et à 15 ans (pour le centre de Montpellier) a également été réalisé. Initialement et lors des suivis, l'entretien fournit des informations sur les données sociodémographiques, socioéconomiques, les consommations (tabac, alcool, alimentation, médicaments), le mode de vie ainsi que les principaux problèmes de santé et d'incapacité. Une prise de sang a été réalisée lors de l'inclusion et au suivi à 10 ans. Une évaluation cognitive est systématiquement réalisée avec une batterie de tests neuropsychologiques évaluant différents domaines cognitifs. Un diagnostic de démence est systématiquement recherché, avec une procédure en trois étapes : d'abord repérage des participants ayant une suspicion de démence, puis examen clinique de ces participants par un neurologue ou un gériatre, et enfin validation du diagnostic par un comité d'experts indépendants.

Pour le centre de Bordeaux, une IRM cérébrale a été réalisée sur un sous-échantillon à l'inclusion (1.5 Tesla), à 4 ans (1.5 Tesla) et à 10 ans (3 Tesla). L'IRM cérébrale a permis d'évaluer les épaisseurs corticales, la microstructure cérébrale (grâce à la DTI), les lésions vasculaires (hypersignaux de la substance blanche notamment) et les volumes cérébraux (volumes globaux -gris, blanc, LCS- ou dans des régions d'intérêt, notamment les régions impliquées dans la MA).

Au suivi à 7 ans de la cohorte 3C (en 2007-2008), 1450 participants à Bordeaux ont été revus, parmi lesquels 963 (66,4%) ont accepté de participer à un suivi ophtalmologique nommé étude Alienor (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes). L'objectif principal d'Alienor était d'étudier les associations entre les maladies oculaires liées à l'âge (DMLA, glaucome, cataracte, sécheresse oculaire...) et les facteurs nutritionnels (acides gras, lutéine et zéaxanthine, antioxydants...) déterminés à partir de mesures dans le plasma sanguin et l'estimation des apports alimentaires. Les participants ont bénéficié tous les deux ans de

plusieurs examens ophtalmologiques, en parallèle des suivis 3C, au sein du service d'ophtalmologie du CHU de Bordeaux. Ces examens incluent un examen ophtalmologique standardisé avec des mesures d'acuité visuelle et de réfraction, des mesures de la pression intraoculaire et d'épaisseur cornéenne. Le dépistage et la classification du glaucome ont été réalisés par un ophtalmologiste spécialiste. Deux photographies couleur rétinienne ont été réalisées (de 45° ; une centrée sur la macula et l'autre centrée sur le disque optique) et ont permis de visualiser l'architecture des vaisseaux rétinien, de classer les différentes maculopathies liées à l'âge (MLA) selon le type, la taille et la zone d'emplacement ainsi que d'autres types de rétinopathies comme la présence de micro-anévrismes et/ou d'hémorragies. Lors du suivi en 2009-2010, un examen OCT a été ajouté au bilan ophtalmologique. Cela a permis de mesurer l'épaisseur de différentes couches rétinienne, dont la RNFL ; cet examen OCT a été ensuite répété lors des suivis (Figure 13). Ainsi, cette étude combine des données à la fois ophtalmologiques, neuropsychologiques et d'imagerie cérébrale avec un suivi longitudinal.

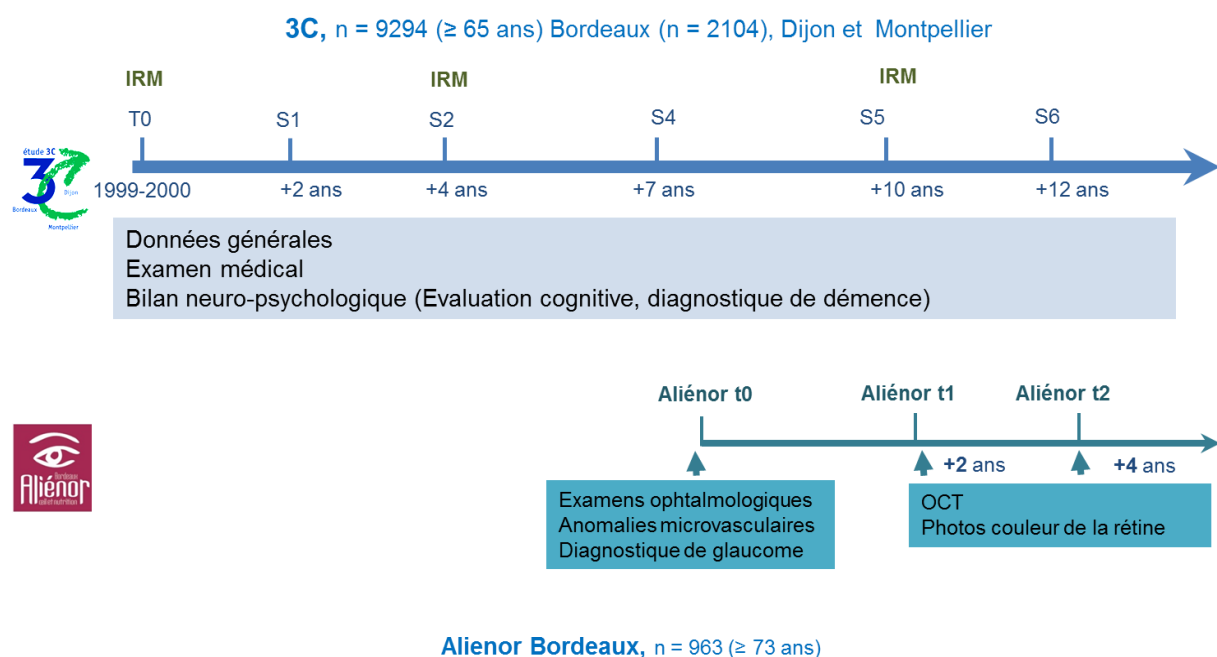


Figure 13. Schéma illustrant la cohorte populationnelle 3C et l'étude Aliénor

Descriptif de la population d'étude

La population d'étude analysée dans cette thèse est issue de celle des participants vus dans Aliénor au suivi en 2009-2010, concomitant au suivi à 10 ans de l'étude 3C. Parmi les 1214 participants Bordelais de ce suivi 3C à 10 ans, 613 (50,5%) ont aussi participé au volet Aliénor (11 sujets supplémentaires ont participé à Aliénor mais pas au suivi à 10 ans de 3C,

pour un total de 624 participants pour le suivi Alienor 2009-2010). La description des sujets au suivi en 2009-2010 est présentée dans la table ci-dessous selon leur participation au suivi ophtalmologique (Alienor).

Par rapport aux sujets 3C n'ayant pas participé à Alienor, les participants d'Alienor étaient plus jeunes, la participation de femmes était moins importante, avaient un niveau d'études plus élevé et avaient de meilleures performances cognitives.

Tableau 3. Description des caractéristiques de la cohorte populationnelle 3C selon la participation au suivi Alienor 2009-2010 à Bordeaux.

	3C Bordeaux ne participant pas à Alienor, n= 601		3C Bordeaux-Alienor n= 613		
	moyenne ou n°	ET ou %	moyenne ou n°	ET ou %	p
Caractéristiques sociodémographiques et médicales					
Age (années)	84.5	4.8	81.9	4.2	<.0001
Femmes	427	71.1	384	62.6	0.002
Niveau d'études					<.0001
- Aucune étude ou primaires sans diplôme	96	16.0	45	7.3	
- Etudes primaires avec diplôme (CAP ou BEP) ou secondaire court (BEPC)	312	52.0	278	45.4	
- Etudes secondaire long ou études supérieurs	192	32.0	290	47.3	
Apolipoprotéine E4	91	17.5	107	18.8	0.577
Hypertension	503	83.7	508	82.9	0.701
Diabète*	82	13.6	75	12.2	0.465
Fumeurs ou anciens-fumeurs	185	30.8	221	36.1	0.052
Antécédents des maladies cardiovasculaires	26	11.6	60	9.8	0.468
Démence (prévalence)	150	25.0	28	4.6	<.0001
Evaluation cognitive, moyenne (ET)					
MMSE	25.1	4.6	27.6	2.4	<.0001
Isaacs' set test (score à 30")	36.1	10.6	43.7	10.3	<.0001
Grober & Buschke					
3 Rappels libre	21.5	8.0	25.2	7.5	<.0001
3 Rappels libre + indicé	42.8	7.4	44.6	5.4	<.0001
Rappel différé libre	8.5	3.7	10.0	3.2	<.0001
Rappel différé libre + indicé	14.5	2.6	15.1	1.8	<.0001

ET : écart-type ; MMSE : Mini Mental State Examination

*Traitement pour le diabète ou glycémie ≥ 7 mmol/l à jeûn ou 11 mmol/l sinon

Valeurs manquantes: MMSE=63 ; Isaacs' set test=99 ; Grober & Buschke 3 Rappels libre et 3 Rappels libre + indicé =284 ; Grober & Buschke Rappel différé libre et Rappel différé libre + indicé =289 ; Niveau d'études=1 ; Apolipoprotéine E4= 125 ; Antécédents de maladies cardiovasculaires =379.

Méthodologie statistique utilisée

Afin d'explorer les liens entre structures oculaires et cérébrales nous avons essayé de prendre en compte les différents facteurs pouvant avoir une influence sur cette relation. Dans ce cadre, nous avons notamment inclus des facteurs socio-démographiques, des facteurs pouvant avoir une influence dès le stade précoce de la vie (niveau d'éducation), des facteurs pouvant avoir une influence plus tardive sur les altérations cérébrales et/ou oculaires (pathologies générales comme le diabète par exemple ou pathologies oculaires comme le glaucome), des facteurs génétiques (ApoE4) et des facteurs pouvant avoir une influence sur la mesure rétinienne elle-même (comme la longueur axiale).

Selon le type de données analysées, trois types de modèles statistiques ont été utilisés afin de répondre au mieux à nos objectifs. Ces différents modèles sont présentés brièvement ci-dessous, par ordre d'utilisation dans le manuscrit.

1) Pour l'analyse de la relation entre RNFL et performances cognitives des modèles linéaires mixtes à effets aléatoires ont été utilisés. Ces modèles sont une extension des modèles linéaires et permettent notamment de prendre en compte le fait que les données analysées sont des données répétées non indépendantes. En effet les tests cognitifs sont réalisés à plusieurs temps (2 temps successifs dans notre cas) chez un même sujet. L'estimation des paramètres des modèles a été réalisée avec la procédure MIXED du logiciel SAS®.

De plus en raison de la non-normalité, et de l'effet plafond/plancher et de curvilinéaire de certains tests, ces derniers ont été normalisés en utilisant une transformation beta (Philipps et al., 2014; Proust-Lima et al., 2011). Ainsi le MMSE et les différents scores du Grober ont été transformés ; les scores à l'Isaacs ne nécessitaient pas de transformation. Cette transformation permet d'analyser correctement les données et de les interpréter en termes statistiques ; néanmoins elle empêche d'interpréter directement les résultats des modèles de manière quantitative, la valeur du paramètre estimé n'étant pas en rapport direct avec l'échelle initiale.

2) Pour l'analyse de la relation entre RNFL et paramètres d'imagerie cérébrale, cette analyse étant transversale, des modèles linéaires classiques ont été utilisés. L'hypothèse de normalité a été vérifiée a posteriori sur la distribution des résidus.

3) Pour l'analyse de la relation entre épaisseur choroïdienne et volume d'hypersignaux de la substance blanche, là aussi cette analyse étant transversale, des modèles linéaires classiques ont été utilisés. Une simple transformation logarithmique du volume d'hypersignaux a été

réalisée, et le volume a été analysé de façon brute et rapporté au volume total intracrânien. L'hypothèse de normalité a été vérifiée a posteriori sur la distribution des résidus.

4) Enfin, l'analyse complémentaire présentée en discussion et portant sur la relation entre RNFL et démence, évaluant une variable binaire (le diagnostic de démence), mais avec un seul temps de mesure (diagnostic d'une démence à la visite à 2 ans) a été réalisée par une régression logistique.

ARTICLES

Article 1. Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and the evolution of cognitive performance (Soumis pour publication)

La couche rétinienne des fibres nerveuses (RNFL) partage des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles avec le système nerveux central (SNC) du fait de leur origine embryonnaire commune. La tomographie par cohérence optique *spectral-domain* (SD-OCT) permet une évaluation précise et non invasive de la RNFL ce qui pourrait permettre l'évaluation des processus dégénératifs du SNC des sujets âgés.

Différentes études se sont intéressées à l'association entre RNFL et fonctions cognitives en comparant l'épaisseur de la RNFL entre des sujets présentant un déficit cognitif léger (MCI) et/ou une MA et des témoins « sains » ; ces études ont montré une épaisseur réduite de la RNFL chez les sujets MCI et MA. Par contre, l'association entre la RNFL et l'évolution des fonctions cognitives au cours du temps chez les personnes âgées non démentes n'a jusque-là pas été étudiée. Ainsi, notre travail avait pour objectif d'explorer si l'épaisseur de la RNFL mesurée par SD-OCT était associée aux performances cognitives initiales de personnes âgées initialement non démentes, ainsi qu'à l'évolution à 2 ans de ces performances.

Ainsi, 427 participants Bordelais de la cohorte 3 Cités-Alienor, initialement non déments, ayant une mesure valide de leur RNFL et ayant eu une évaluation cognitive concomitante à la RNFL et 2 ans plus tard ont été inclus dans cette étude. Les tests neuropsychologiques suivants ont été analysés dans cette étude :

- Mini Mental State Examination, MMSE, évaluant les performances cognitives globales ;
- Set test d'Isaacs à 30'', évaluant la fluence verbale catégorielle ;
- Grober et Buschke, évaluant la mémoire épisodique. Les scores considérés étaient : *score total aux trois rappels libres*, *score total aux trois rappels libres + indicés*, *score au rappel différé libre* et *score au rappel différé libre + indicé*.

Les scores au set test d'Isaacs ainsi que la β -transformation des scores des autres tests (en raison d'une distribution ne suivant pas une loi normale) ont été analysés.

Pour la RNFL, la mesure minimale de l'épaisseur péripapillaire mesurée par SD-OCT entre les deux yeux a été retenue, après exclusion des yeux avec des pathologies oculaires pouvant affecter la mesure de la RNFL. Des modèles linéaires mixtes ont été construits afin de modéliser la relation entre la RNFL (globale et sur chacun des six quadrants) avec le score initial aux tests neuropsychologiques ainsi que l'évolution au cours du temps de ce score (grâce à l'inclusion d'un terme d'interaction *RNFL*temps*). Tous les modèles ont été ajustés sur le temps, l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, l'Apolipoprotéine $\epsilon 4$ (l'Apo $\epsilon 4$), l'opération

de cataracte, la présence de diabète, la présence de glaucome, la mesure du disque optique ainsi que sur leurs interactions avec le temps. Un deuxième modèle, réalisé sur un sous-échantillon ayant une mesure de la longueur axiale de l'œil, était ajusté sur cette longueur axiale.

Les sujets étaient âgés de 81,6 ans (ET=4,2) ; 62% étaient des femmes et 7,7% avaient un bas niveau d'études (sans étude ou sans certificat d'études primaires). L'épaisseur globale de la RNFL était de 86,8 μm (ET=13,7). Cette épaisseur n'était pas associée aux performances cognitives initiales, pour aucun des tests neuropsychologiques analysés. Par contre, une RNFL plus épaisse (+1 μm) était significativement associée à une meilleure évolution cognitive sur les scores au *rappel différé libre* ($p=0,004$) et *rappel différé libre + indicé* ($p=0,004$) du test de Grober et Buschke. L'analyse par quadrants montrait que les quadrants les plus associés à ces rappels différés étaient le temporal, le temporal-supérieur et le temporal-inferieur, et de façon moindre le nasal. Aucune association n'était retrouvée avec les autres tests cognitifs.

Dans cette étude, nous avons pu observer que l'épaisseur de la RNFL était associée spécifiquement avec l'évolution des scores évaluant la mémoire épisodique, une fonction cognitive particulièrement affectée dans la MA. Cependant, seuls les tests en mémoire différée étaient associés. De plus, la RNFL n'était pas associée au déclin sur les autres tests. Cependant, nos analyses sur le déclin cognitif portent sur un suivi de 2 ans ce qui est relativement court pour observer un déclin cognitif dans une population non démente et relativement de haut niveau d'éducation. Un suivi à plus long terme de cette cohorte permettra de confirmer cette association avec les tests de mémoire épisodique et de vérifier si d'autres tests sont associés au cours du temps. Néanmoins, l'altération spécifique des capacités mnésiques de la mémoire épisodique pourraient constituer le reflet précoce d'un processus neurodégénératif qui pourrait être lié à un risque de développer un trouble cognitif ou une MA dans le futur. Si ces résultats sont confirmés, l'épaisseur de la RNFL mesurée par OCT pourrait constituer une mesure particulièrement intéressante pour refléter des changements neurodégénératifs à venir du SNC.

Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness and the evolution of cognitive performance

Juan Luis Méndez-Gómez^{1,2}, Marie-Bénédicte Rougier^{1,4}, Laury Tellouck^{1,2,4}, Jean-François Korobelnik^{1,2,4}, Cédric Schweitzer^{1,4}, Marie-Noëlle Delyfer^{1,2,4}, Hélène Amieva^{1,2}, Jean-François Dartigues^{1,2,5}, Cécile Delcourt^{1,2}, Catherine Helmer^{*1,2,3}

***Corresponding author:**

Catherine Helmer, Université de Bordeaux, ISPED, 146 rue Léo Saignat, CS61292, F-33076 BORDEAUX Cedex – France. Phone: (33) 5 57 57 45 15; Fax: (33) 5 57 57 14 86. E-mail address: catherine.helmer@isped.u-bordeaux2.fr

Key words: Retinal nerve fiber layer; episodic memory; cognition; elderly; Optical coherence tomography

¹ INSERM, Unit 1219 - Bordeaux Population Health Research Center, F-33000 Bordeaux, France.

² University of Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France.

³ INSERM, Clinical Investigation Center – Clinical Epidemiology 1401, F-33000 Bordeaux, France

⁴ University Hospital, ophthalmology, Bordeaux, F-33076 France

⁵ University Hospital, memory consultation, CMRR, Bordeaux, F-33076 France.

Abstract

Retinal Nerve Fiber Layer thickness (RNFL) is reduced in Alzheimer's patients. However, whether it is associated with early evolution of cognitive function is unknown. Within 427 participants from the 3C-Alienor longitudinal population-based cohort we explored the relationship between peripapillary RNFL thicknesses and the evolution of cognitive performance. RNFL was assessed by Spectral-Domain Optical Coherence Tomography; cognitive performances were assessed at baseline and at 2 years, with the Mini Mental State Examination, the Isaacs' set test and the Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT). Multivariate linear mixed models were performed. The RNFL was not associated with initial cognitive performance. Nevertheless, a thicker RNFL was significantly associated with a better cognitive evolution over time in the *free delayed recall* ($p=0.0037$) and *free + cued delayed recall* ($p=0.0043$) scores of the FCSRT, particularly in the temporal, supero-temporal and infero-temporal segments. No associations were found with other cognitive tests. The RNFL was associated with changes in scores that assess episodic memory. RNFL thickness could reflect a higher risk of developing cognitive impairment over time.

Key words: Retinal nerve fiber layer; episodic memory; cognition; elderly; Optical coherence tomography.

1. Introduction

Alzheimer's disease is associated with brain neurodegeneration, particularly in the medial temporal area, which leads to cognitive decline and dementia. These lesions occur several years before the clinical phase of dementia (Bernard et al., 2014; Jack et al., 2010). Detection of this neurodegenerative process at an early stage could allow prediction of cognitive decline in subsequent years. However, it requires costly and time-consuming brain imaging.

The retina and brain are intimately linked as a result of common embryonic origin. The eye is a sensory organ that is truly part of the central nervous system with neuronal cells that could be susceptible to degeneration, directly or indirectly. Thus, the condition of nerve fibers in the eye could reflect the condition of nerve fibers in the brain (London et al., 2013). Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT) allows easy and accurate evaluation of the Retinal Nerve Fiber Layer (RNFL) and could thus enable to evaluate neurodegeneration in mild cognitive impairment (MCI) and Alzheimer's disease pathology (AD) (Garcia-Martin et al., 2014).

Several previous studies have demonstrated reduced RNFL thickness in patients with MCI and/or AD compared to that of a healthy control population (Cheung et al., 2015; Garcia-Martin et al., 2014; Iseri et al., 2006; Kesler et al., 2011; Lu et al., 2010; Paquet et al., 2007); these studies were, however, mostly cross-sectional case-control studies. Additionally, we previously found an association between glaucoma pathology, which has reduced RNFL thickness, and the occurrence of dementia 3 years later (Helmer et al., 2013). However, except for one study with a small sample (Shi et al., 2015), the association between RNFL and the evolution of cognitive function has not yet been studied in a general elderly population.

Our study aims to explore the relationship between peripapillary RNFL thickness measured by SD-OCT and the evolution of cognitive function in several cognitive domains measured over a 2-year period in the elderly population.

2. Materiel and methods

2.1. Study population

The Three-City (3C) study is a prospective population-based cohort which aims to estimate the risk of dementia and cognitive impairment attributable to vascular factors. At baseline (1999-2001), 9,294 community-dwelling French adults aged ≥ 65 years in 3 French cities (Bordeaux, Dijon, Montpellier) were enrolled, including 2,104 from Bordeaux. The methodology has been described elsewhere (3C Study Group, 2003). Data regarding sociodemographic characteristics, lifestyle, physical and mental health, medications, disability and cognitive functions were assessed at baseline and subsequently 2, 4, 7, 10 and 12 years

later. At the 7-year follow-up (in 2006-08), 963 participants from Bordeaux agreed to participate to the Alienor study (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes), consisting of an ophthalmological examination (Delcourt et al., 2010). These participants were then followed-up every two years with eye examinations concurrent with cognitive evaluations. In 2009-2010, a SD-OCT examination of the optic nerve was included in the eye examination; 624 participants were evaluated. Our population consists of participants with valid RNFL measurements at that time, concurrent cognitive evaluations, without prevalent dementia in 2009-2010 and without missing data for confounders. Participants with ocular pathologies that could influence RNFL measurement were also excluded. Because glaucoma is a degenerative disease of the optic nerve that could have common pathophysiological mechanisms with AD, participants with this disease were retained in the study population, and glaucoma was included as a covariate in the analyses (Helmer et al., 2013). Finally, participants without cognitive evaluation at 2 years were excluded, with thus 427 participants considered for the present study.

Approvals were obtained from the Ethical Committee of Bordeaux for the Alienor study and from the Ethical Committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre and Sud-Méditerranée III for the 3C study. All participants signed an informed consent.

2.2. Cognitive assessment

At each follow-up visit, trained psychologists assessed the cognitive function of each participant during face-to-face visits using the Mini Mental State Examination (MMSE) (Folstein et al., 1975), the Isaacs' set test at 30 seconds (Isaacs and Kennie, 1973) and the Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) (Grober and Buschke, 1987).

For this study, we analyzed RNFL measurement in relation to cognitive assessment at baseline and 2 years later.

The MMSE is a composite scale from 0 to 30 points that evaluates the global cognitive state.

The Isaacs' set test evaluates categorical verbal fluency by measuring the ability to generate word lists from four semantic categories (animals, fruits, colors and cities) in 30 seconds.

Finally, the FCSRT evaluates episodic memory using a list of 16 words belonging to 16 semantic categories. This test assesses episodic memory processes by controlling the encoding and retrieval conditions. It starts with an initial phase of categorical semantic learning, followed by three notation steps (immediate recall, three free/cued recalls and delayed free/cued recalls). We used four variables in our study: the three free recalls score, the added score of three free plus cued recalls, the delayed free recalls and finally the added score of delayed free plus cued recalls. Other details of the procedure have been previously

described (Amieva et al., 2007). None of the staff involved in cognitive testing had access to ophthalmologic data.

2.3. Ophthalmologic assessments

2.3.1. SD-OCT measures: The OCT examination was performed using SPECTRALIS (Software Version 5.4.7.0; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) without pupil dilation by one experienced technician. The device acquisition rate of OCT images was 40 000 A-scans/sec. The OCT provides an automatic real-time (ART) function that adjusts for eye movement and increases image quality. Details of our OCT measures have been previously described (Rougier et al., 2015). The peripapillary RNFL thickness was acquired using the following conditions (Delcourt et al., 2010): resolution mode: high speed; circle diameter: 3.5 mm; size X: 768 pixels (10.9 mm); size Z: 496 pixels (1.9 mm); scaling X: 14.14 $\mu\text{m}/\text{pixel}$; scaling Z: 3.87 $\mu\text{m}/\text{pixel}$; and ART mode: 16 images. The minimum reliable value of global RNFL thickness was retained for analysis when the measure was present in both eyes; otherwise, data from the eye with the only reliable value was retained. RNFL thicknesses in the 6 segments measured by the device (superotemporal, temporal, inferotemporal, inferonasal, nasal and superonasal) were retained for the same eye (Figure 2).

2.3.2. Other ophthalmologic variables: As previously described, the diagnosis of glaucoma was established according to the classification proposed by Foster et al (Delcourt et al., 2010; Foster et al., 2002). Cataract surgery was assessed during eye examination. Optic disc size (vertical disc diameter) was measured using optic disc photography in duplicate by two trained graders and by a glaucoma specialist if there was inconsistency between the first two interpretations. Finally, axial length was measured during a subsequent visit in a subsample of participants using non-contact partial coherence laser interferometry (IOL Master; Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany). Five measurements were taken per eye, and the mean was calculated. None of the staff involved in eye examination had access to the cognitive data.

2.4. Other variables

The following covariates were assessed: age, sex, education level (elementary school, short secondary school vs higher level), the presence of Apolipoprotein $\epsilon 4$ allele and diabetes (antidiabetic treatment and/or a fasting glucose level ≥ 7 mmol/L or a non-fasting glucose level ≥ 11 mmol/L).

2.5. Data analysis

Baseline characteristics of the study sample were first described. To study the relationship between the RNFL thickness and the cognitive scores at baseline and cognitive change over time we built linear mixed models to account for the correlations due to repeated cognitive measures (Laird and Ware, 1982). We first analyzed the relationship between global RNFL thickness (continuous variable) and each cognitive test to avoid multiplicity of statistical analyses. We further analyzed all six RNFL segments only when the result was significant for global RNFL. Due to ceiling and floor effects and curvilinearity (unequal interval scaling) for MMSE and FCSRT scores, we used a previously published procedure that corrects the metrological properties to normalize the score distributions (Proust-Lima et al., 2015). First, models were adjusted for age, sex, time, education level, ApoE4, diabetes, cataract surgery, optic disc size and glaucoma in multivariable linear mixed models (Model A). The interaction between each variable and time was systematically tested and retained in the model when $p < 0.10$. Next, given the knowledge that RNFL thickness decreases with increasing axial-length (Savini et al., 2012), a second model (Model B) was built including axial length as a covariate; this measure was available for only a subset ($n=204$) of the study population. Sensitivity analyses excluding participants with glaucoma were performed. In complementary analyses we re-ran the analyses for global RNFL considering RNFL as a binary variable, according to the classification provided by the Spectralis software: within normal (measured value within 95% of normal distribution), borderline (measured value between 95% and 99% of normal distribution) and outside normal limits (measured value below 99% of normal distribution) based on the age-matched comparison with an internal normative database of 201 healthy eyes of Caucasian patients. Thus, we analyzed the evolution of cognitive performance for participants with borderline value or value outside normal limits, compared to value within normal.

The normalization procedure of cognitive scores was performed using R software (version 2.14.1, 2011© The R Foundation for Statistical Computing). All other statistical procedures were performed using SAS software (version 9.3, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

3. Results

Population characteristics are described in table 1. The mean age was 81.6 (SD: 4.2) years. The sample population was constituted of 266 (62.3%) women; 33 (7.7%) participants had a low level of education, and 44 (10.3%) were diabetic. Regarding ocular characteristics, 212 (49.6%) had undergone cataract surgery, 26 (6.1%) had glaucoma; the mean vertical disc diameter was 2 mm (SD: 0.2). The mean global RNFL thickness was 86.8 μm (SD: 13.7). As expected, the inferotemporal (122.3 μm) and superotemporal (115.9 μm) segments were

thickest. Mean cognitive scores at baseline were 27.8 (SD: 1.9) for the MMSE, 45.1 (SD: 9.7) for the Isaacs' set test at 30 seconds and 26.1 (SD: 7.1) for the FCSRT (three free recalls). The global RNFL was not associated with initial cognitive performance regardless of cognitive test considered (Table 2). Global RNFL was not associated with cognitive evolution based on the MMSE or the Isaacs' set test at follow-up (RNFL*Time term). However, global RNFL was associated with the two FCSRT scores of delayed recall scores. Specifically, a thicker global RNFL was associated with a lower decline of delayed free recall ($\beta=0.015$; 95% CI, 0.005 to 0.025; $p=0.004$ for 1 μm RNFL thickness) and delayed free plus cued recalls ($\beta=0.007$; 95% CI, 0.002 to 0.011; $p=0.004$) (Table 2, model A). These associations remained unchanged after additional adjustment for axial length in the subset which had this measure (Table 2, model B).

For FCSRT scores showing significant association with global RNFL, the relationships with each of the six RNFL segments were analyzed (Table 3). The temporal segments had the strongest association with the two FCSRT delayed recall scores. Thicker RNFL of the temporal, inferotemporal and superotemporal segments was significantly associated with a lower decline in the delayed free recall score during follow-up ($\beta=0.013$; 95% CI, 0.003 to 0.023; $p=0.011$; $\beta=0.007$; 95% CI, 0.002 to 0.012; $p=0.005$ and $\beta=0.007$; 95% CI, 0.002 to 0.013; $p=0.013$, respectively) in model A. The same trends were observed in model B after additional adjustment for axial length; although, the associations were only borderline significant for the temporal and inferotemporal segments. Surprisingly, the temporal segment also showed an association with a lower initial score ($\beta= -0.029$; 95% CI, -0.054 to -0.005; $p=0.020$), but this association was no longer significant after adjustment for axial length.

For delayed free plus cued recalls, the decline over the follow-up was also associated with RNFL thickness in the 'temporal side'; this association was significant only for the inferotemporal segment in model A ($\beta=0.003$; 95% CI, 0.0003 to 0.005; $p=0.025$). It was also significant for the 3 temporal segments in the subset with axial length measured (Model B; $\beta=0.009$; 95% CI, 0.002 to 0.016; $p=0.010$; $\beta=0.005$; 95% CI, 0.002 to 0.008; $p<0.001$; $\beta=0.005$; 95% CI; 0.001 to 0.009; $p=0.010$, for temporal, inferotemporal and superotemporal segments, respectively). Additionally, thicker RNFL of the nasal segment was also associated with lower decline of the cognitive score (Models A and B). Surprisingly, in model B, an association was also demonstrated between inferotemporal segment thickness and a lower initial score ($\beta= -0.009$; 95% CI, -0.017 to -0.002; $p=0.011$).

Results were globally unchanged in sensitivity analyses excluding participants with glaucoma.

Similar results were also observed in complementary analyses. Participants classified as borderline or outside normal limits for their global RNFL value according to the Spectralis software classification had a higher decline for the two FCSRT scores of delayed recall ($\beta=-0.40$; 95% CI, -0.71 to -0.10; $p=0.009$ for delayed free recall and $\beta=-0.20$; 95% CI, -0.34 to -0.05; $p=0.007$ for delayed free plus cued recalls).

4. Discussion

We found that, whereas global RNFL thickness was not associated with initial cognitive scores, a thicker RNFL was associated with a lower decline of cognitive performances based on the delayed recall scores of the FCSRT. None of the other cognitive functions were associated with RNFL thickness. These findings suggest that reduced RNFL thickness may reflect a higher risk of episodic memory deterioration over time.

The reduction of RNFL thickness in patients with MCI and/or AD, compared to controls, has been previously reported in several studies (Cheung et al., 2015; Garcia-Martin et al., 2014; Iseri et al., 2006; Kesler et al., 2011; Lu et al., 2010; Paquet et al., 2007). However, the association between RNFL and cognition at an earlier stage is largely unknown; yet, cognitive decline is a very long process (Amieva et al., 2014). Moreover, our study takes place within a general elderly population, using a longitudinal design, thus adding complementary knowledge compare to previous studies which are mostly cross-sectional in clinical settings.

The association shown in our results was specific to episodic memory, which is a cognitive domain strongly implicated in Alzheimer's disease process. A previous study evaluating the relationship between RNFL and cognition also found an association between RNFL and episodic memory (word list learning and story recall) among participants with normal cognition (Shen et al., 2014). However, this was a cross-sectional study with a small sample size ($n=52$).

No association was found with MMSE score, which reflects global cognition. However, our population is mainly a well-functioning population without dementia at baseline; the MMSE test may be not sensitive enough to detect subtle changes in the early phase of cognitive deterioration (Small et al., 2000). Similarly, no correlations between MMSE and peripapillary thickness were found in most previous studies comparing peripapillary RNFL in AD patients and healthy controls (Iseri et al., 2006; Kesler et al., 2011). Only one previous study comparing 35 AD, 35 MCI and 35 healthy controls reported a significant correlation between peripapillary RNFL and MMSE in an analysis combining all the participants (Oktem et al., 2015).

More surprisingly, we also found no association with Isaacs' verbal fluency test, even though this test has detected changes during very early cognitive decline, as many as 15 years before the clinical diagnosis of Alzheimer's dementia (Amieva et al., 2014). However, among elderly people, dementia is the result of several processes including neurodegeneration and vascular damage (Schneider et al., 2009). Cognitive impairment due to vascular processes is believed to preferentially manifest through impaired attention and executive function rather than memory function (O'Brien et al., 2003). Therefore, verbal fluency could reflect the global vascular process more than the neurodegenerative process. This may explain the lack of association with RNFL thickness, which may be more strongly related to neurodegeneration. Our SD-OCT device automatically calculates RNFL thickness both globally and in each of the 6 segments. This offers the advantage of providing data for the superotemporal and inferotemporal segments, which are the thickest zones in the peripapillary area and the most sensitive zones to early age-related defects (Feuer et al., 2011; Rougier et al., 2015). As previously reported, the highest RNFL values in our data were found in the inferotemporal and superotemporal segments, which, together with the temporal segment, are also associated with cognitive decline (Rougier et al., 2015).

Our results showing cognitive test alterations reflecting episodic memory changes are consistent with previous reports stating that the primary degenerative process leading to MCI and/or AD is marked by an early deterioration of episodic memory (Fox et al., 1998; Murphy et al., 2008; Small et al., 2000). In normal elderly subjects, the evaluation of this deterioration can even predict the time of progression to MCI as well as the time of progression from MCI to AD (Blacker et al., 2007). Furthermore, even though 'recall measures' are cited more often as good cognitive markers of future AD, 'delayed recall measures' are excellent predictors of progression to AD (Bastin and Salmon, 2014; Fichman-Charchat et al., 2015) and can even increase the sensitivity of recall scores used in AD identification (Vogel et al., 2007). Therefore, our findings may be relevant to the specific brain changes found in the hippocampus and temporal regions of people in the pre-clinical stage of AD (Frisoni et al., 2008; den Heijer et al., 2010; West et al., 1994). Previous imaging data showing a correlation between RNFL and cerebral volumes in the temporal and occipital lobes are concordant with these findings (Ong et al., 2015).

Glaucoma was taken into account in our analyses by adjusting for this pathology and by performing sensitivity analyses excluding participants with glaucoma. Glaucoma is a degenerative disease of the optic nerve, and we previously found an increased risk of dementia among participants with glaucoma (Helmer et al., 2013). The inferotemporal and superotemporal segments are the first segments damaged in glaucoma. These segments (and

the temporal segment) are also the ones associated with cognitive decline. Therefore, similar neurodegenerative processes could lead to both glaucoma and cognitive decline.

Our study has several limitations. First, our follow-up period of two years may be too short to demonstrate larger effects on other cognitive functions. However, to our knowledge, this is the first longitudinal study with a large cohort in this field. Moreover, our study included well-functioning subjects who consented to eye examination and who therefore may have a lower decline of cognitive performance over time than the general population. Additionally, despite our large study population compared to previous case-control studies in this field, we cannot exclude a possible lack of power. Finally, as RNFL measurement was not available at the baseline time of the Alienor study, the effect of the RNFL evolution over time on cognition could not be studied; further follow-ups of our cohort will allow studying this.

Our study has some strengths. It is based on a longitudinal design with a large population-based cohort including nearly 430 elderly participants. It includes a systematic eye examination that allows the identification and the exclusion of ocular pathologies likely to influence RNFL measurement (vitreomacular traction, myelinated retinal nerve fibers, peripapillary choroidal neovascularization or myopic chorioretinopathy). The OCT assessments were performed on the same OCT machine by the same experienced technician following a standardized protocol. Moreover, the spectral domain technique provided the best quality and reproducibility currently available (Nassif et al., 2004). Cognitive functions were systematically assessed by trained psychologists blinded to ophthalmologic data using standardized procedures and evaluating several cognitive domains. The association between RNFL and delayed episodic memory was found with both RNFL as a continuous variable and using the threshold provided by the device to classify participants as borderline or outside normal limits for RNFL. Finally, numerous potential confounding factors were taken into account.

5. Conclusions

Our findings enrich the literature on the potential utility of RNFL in cognitive deterioration. Although there are still gaps in detailed knowledge of the early association between neurodegeneration in the retina and in the brain, our findings could lead to the next steps of knowledge in that domain. However, these results should be corroborated with larger populations and longer follow-ups. Moreover, cerebral imaging studies should be implemented to better understand the association between retinal and brain neurodegeneration.

Acknowledgments

The Three-City study is conducted under a partnership agreement between the *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM), the University Bordeaux 2 Victor Segalen and Sanofi-Aventis. The *Fondation pour la Recherche Médicale* funded the preparation and initiation of the study. The Three-City study is also supported by the *Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés*, *Direction Générale de la Santé*, MGEN, *Institut de la Longévité*, *Conseils Régionaux d'Aquitaine et Bourgogne*, *Fondation de France*, Ministry of Research-INSERM Programme “*Cohortes et collections de données biologiques*”, *Agence Nationale de la Recherche* ANR PNRA 2006 and LongVie 2007, and the “*Fondation Plan Alzheimer*” (FCS 2009-2012).

The Alienor study is supported by laboratoires Théa (Clermont-Ferrand, France), Fondation Voir et Entendre (Paris, France), Association Retina France (Colomiers, France), Conseil Régional d'Aquitaine (Convention n° 20091301029, Bordeaux, France) and Fondation pour la Recherche Médicale, France (FRM).

The present study has also been supported by France Alzheimer (AAP SM 2012).

Role of the Sponsors: The Laboratoires Théa participated in the design of the Alienor study, but none of the sponsors participated in the collection, management, statistical analysis and interpretation of the data, not in the preparation, review or approval of the present manuscript.

All authors are independent of financial supports.

JLM-G and CH had full access to all of the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Disclosures

J.L.M.-G., L.T. and H.A. disclose no conflict of interest. M.B.R. is consultant for Allergan, Baush&Lomb. She has received funding for conferences from Biogen, Thea, Novartis. CS has received funding for travel from Alcon, Allergan, AMO. M.N.D. has received funding from laboratoires Théa (advisory board, travel funding) and Novartis (advisory board, travel funding). J.F.K. is consultant for Alcon, Allergan, Bayer, Carl Zeiss Meditec, Novartis, Théa. J.F.D. serves on a scientific advisory board for and has received funding for travel from Janssen-Cilag; received a gift worth more than US\$500 from Novartis; holds a corporate appointment with Merck Serono; and has received research support from Novartis and Ipsen. C.D. has received funding from laboratoires Théa (grant, advisory board, travel funding), Novartis (consultant), and Bausch&Lomb (consultant). C.H. has received honoraries from Novartis.

Author contributions

JM. analyzed the data and draft the first version of the manuscript. CH, CD, JD, JK and JM designed the study. MR, JK, CS, MD, HA, JD, CD and CH acquired the data. All the co-authors contributed to the interpretation of the results, critically revised the manuscript and approved the final version.

345 **References**

- 346 3C Study Group (2003). Vascular Factors and Risk of Dementia: Design of the Three-City
347 Study and Baseline Characteristics of the Study Population. *Neuroepidemiology* 22, 316–325.
348 doi:10.1159/000072920.
- 349 Amieva, H., Carcaillon, L., Rouze L'Alzit-Schuermans, P., Millet, X., Dartigues, J. F., and
350 Fabrigoule, C. (2007). Test de rappel libre/rappel indicé à 16 items : normes en population
351 générale chez des sujets âgés issues de l'étude des 3 Cités. *Rev. Neurol.* 163, 205–221.
352 doi:10.1016/S0035-3787(07)90392-6.
- 353 Amieva, H., Mokri, H., Le Goff, M., Meillon, C., Jacqmin-Gadda, H., Foubert-Samier, A., et
354 al. (2014). Compensatory mechanisms in higher-educated subjects with Alzheimer's disease:
355 a study of 20 years of cognitive decline. *Brain* 137, 1167–1175. doi:10.1093/brain/awu035.
- 356 Bastin, C., and Salmon, E. (2014). Early neuropsychological detection of Alzheimer's
357 disease. *Eur. J. Clin. Nutr.* 68, 1192–1199. doi:10.1038/ejcn.2014.176.
- 358 Bernard, C., Helmer, C., Dilharreguy, B., Amieva, H., Auriacombe, S., Dartigues, J.-F., et al.
359 (2014). Time course of brain volume changes in the preclinical phase of Alzheimer's disease.
360 *Alzheimers Dement.* 10, 143–151. doi:10.1016/j.jalz.2013.08.279.
- 361 Blacker, D., Lee, H., Muzikansky, A., Martin, E. C., Tanzi, R., McArdle, J. J., et al. (2007).
362 Neuropsychological measures in normal individuals that predict subsequent cognitive decline.
363 *Arch. Neurol.* 64, 862–871.
- 364 Cheung, C. Y., Ong, Y. T., Hilal, S., Ikram, M. K., Low, S., Ong, Y. L., et al. (2015). Retinal
365 Ganglion cell analysis using high-definition Optical Coherence Tomography in patients with
366 mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 45, 45–56.
367 doi:10.3233/JAD-141659.
- 368 Delcourt, C., Korobelnik, J.-F., Barberger-Gateau, P., Delyfer, M.-N., Rougier, M.-B., Le
369 Goff, M., et al. (2010). Nutrition and age-related eye diseases: the Alienor (Antioxydants,
370 Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) Study. *J. Nutr. Health Aging* 14, 854–
371 861.
- 372 Feuer, W. J., Budenz, D. L., Anderson, D. R., Cantor, L., Greenfield, D. S., Savell, J., et al.
373 (2011). Topographic Differences in the Age-related Changes in the Retinal Nerve Fiber Layer
374 of Normal Eyes Measured by Stratus Optical Coherence Tomography: *J. Glaucoma* 20, 133–
375 138. doi:10.1097/IJG.0b013e3181e079b2.
- 376 Fichman-Charchat, H., Miranda, C. V., Fernandes, C. S., Mograbi, D., Oliveira, R. M.,
377 Novaes, R., et al. (2015). Brief Cognitive Screening Battery (BCSB) is a very useful tool for
378 diagnosis of probable mild Alzheimer's disease in a geriatric clinic. *Arq. Neuropsiquiatr.* 74,
379 1–6. doi:10.1590/0004-282X20150202.
- 380 Folstein, M. F., Folstein, S. E., and McHugh, P. R. (1975). "Mini-mental state": a practical
381 method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J. Psychiatr. Res.* 12, 189–
382 198.
- 383 Foster, P. J., Buhrmann, R., Quigley, H. A., and Johnson, G. J. (2002). The definition and
384 classification of glaucoma in prevalence surveys. *Br. J. Ophthalmol.* 86, 238–242.
385 doi:10.1136/bjo.86.2.238.

386 Fox, N. C., Warrington, E. K., Seiffer, A. L., Agnew, S. K., and Rossor, M. N. (1998).
387 Presymptomatic cognitive deficits in individuals at risk of familial Alzheimer's disease. A
388 longitudinal prospective study. *Brain J. Neurol.* 121, 1631–1639.
389 doi:10.1093/brain/121.9.1631.

390 Frisoni, G. B., Ganzola, R., Canu, E., Rub, U., Pizzini, F. B., Alessandrini, F., et al. (2008).
391 Mapping local hippocampal changes in Alzheimer's disease and normal ageing with MRI at 3
392 Tesla. *Brain* 131, 3266–3276. doi:10.1093/brain/awn280.

393 Garcia-Martin, E. S., Rojas, B., Ramirez, A. I., de Hoz, R., Salazar, J. J., Yubero, R., et al.
394 (2014). Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer's disease.
395 *Ophthalmology* 121, 1149–1151.

396 Grober, E., and Buschke, H. (1987). Genuine memory deficits in dementia. *Dev.*
397 *Neuropsychol.* 3, 13–36.

398 den Heijer, T., van der Lijn, F., Koudstaal, P. J., Hofman, A., van der Lugt, A., Krestin, G. P.,
399 et al. (2010). A 10-year follow-up of hippocampal volume on magnetic resonance imaging in
400 early dementia and cognitive decline. *Brain* 133, 1163–1172. doi:10.1093/brain/awq048.

401 Helmer, C., Malet, F., Rougier, M.-B., Schweitzer, C., Colin, J., Delyfer, M.-N., et al. (2013).
402 Is there a link between open-angle glaucoma and dementia?: The Three-City-Alienor Cohort.
403 *Ann. Neurol.* 74, 171–173. doi:10.1002/ana.23926.

404 Isaacs, B., and Kennie, A. T. (1973). The Set Test as an Aid to the Detection of Dementia in
405 Old People. *Br. J. Psychiatry* 123, 467–470. doi:10.1192/bjp.123.4.467.

406 Iseri, P. K., Altinas, Ö., Tokay, T., and Yüksel, N. (2006). Relationship between cognitive
407 impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer
408 disease. *J. Neuroophthalmol.* 26, 18–24.

409 Jack, C. R., Knopman, D. S., Jagust, W. J., Shaw, L. M., Aisen, P. S., Weiner, M. W., et al.
410 (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade.
411 *Lancet Neurol.* 9, 119–128. doi:10.1016/S1474-4422(09)70299-6.

412 Kesler, A., Vakhapova, V., Korczyn, A. D., Naftaliev, E., and Neudorfer, M. (2011). Retinal
413 thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clin. Neurol.*
414 *Neurosurg.* 113, 523–526. doi:10.1016/j.clineuro.2011.02.014.

415 Laird, N. M., and Ware, J. H. (1982). Random-effects models for longitudinal data.
416 *Biometrics* 38, 963–74.

417 London, A., Benhar, I., and Schwartz, M. (2013). The retina as a window to the brain - from
418 eye research to CNS disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 44–53. doi:10.1038/nrneurol.2012.227.

419 Lu, Y., Li, Z., Zhang, X., Ming, B., Jia, J., Wang, R., et al. (2010). Retinal nerve fiber layer
420 structure abnormalities in early Alzheimer's disease: Evidence in optical coherence
421 tomography. *Neurosci. Lett.* 480, 69–72. doi:10.1016/j.neulet.2010.06.006.

422 Murphy, K. J., Troyer, A. K., Levine, B., and Moscovitch, M. (2008). Episodic, but not
423 semantic, autobiographical memory is reduced in amnesic mild cognitive impairment.
424 *Neuropsychologia* 46, 3116–3123. doi:10.1016/j.neuropsychologia.2008.07.004.

425 Nassif, N., Cense, B., Hyle Park, B., Yun, S. H., Chen, T. C., Bouma, B. E., et al. (2004). In
426 vivo human retinal imaging by ultrahigh-speed spectral domain optical coherence
427 tomography. *Opt. Lett.* 29, 480–482.

428 O’Brien, J. T., Erkinjuntti, T., Reisberg, B., Roman, G., Sawada, T., Pantoni, L., et al. (2003).
429 Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurol.* 2, 89–98. doi:10.1016/S1474-4422(03)00305-
430 3.

431 Oktem, E. O., Derle, E., Kibaroglu, S., Oktem, C., Akkoyun, I., and Can, U. (2015). The
432 relationship between the degree of cognitive impairment and retinal nerve fiber layer
433 thickness. *Neurol. Sci.* 36, 1141–1146. doi:10.1007/s10072-014-2055-3.

434 Ong, Y.-T., Hilal, S., Cheung, C. Y., Venketasubramanian, N., Niessen, W. J., Vrooman, H.,
435 et al. (2015). Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral
436 atrophy. *Neurosci. Lett.* 584, 12–16. doi:10.1016/j.neulet.2014.10.010.

437 Paquet, C., Boissonnot, M., Roger, F., Dighiero, P., Gil, R., and Hugon, J. (2007). Abnormal
438 retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease.
439 *Neurosci. Lett.* 420, 97–99. doi:10.1016/j.neulet.2007.02.090.

440 Proust-Lima, C., Philipps, V., and Liquet, B. (2015). Estimation of extended mixed models
441 using latent classes and latent processes: the R package lcmm. ArXiv Prepr.
442 ArXiv150300890. Available at: <http://arxiv.org/abs/1503.00890> [Accessed November 24,
443 2015].

444 Rougier, M.-B., Korobelnik, J.-F., Malet, F., Schweitzer, C., Delyfer, M.-N., Dartigues, J.-F.,
445 et al. (2015). Retinal nerve fibre layer thickness measured with SD-OCT in a population-
446 based study of French elderly subjects: the Alienor study. *Acta Ophthalmol.* 93, 539–545.
447 doi:10.1111/aos.12658.

448 Savini, G., Barboni, P., Parisi, V., and Carbonelli, M. (2012). The influence of axial length on
449 retinal nerve fibre layer thickness and optic-disc size measurements by spectral-domain OCT.
450 *Br. J. Ophthalmol.* 96, 57–61. doi:10.1136/bjo.2010.196782.

451 Schneider, J. A., Arvanitakis, Z., Leurgans, S. E., and Bennett, D. A. (2009). The
452 neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann. Neurol.*
453 66, 200–208. doi:10.1002/ana.21706.

454 Shen, Y., Liu, L., Cheng, Y., Feng, W., Shi, Z., Zhu, Y., et al. (2014). Retinal Nerve Fiber
455 Layer thickness is associated with episodic memory deficit in mild cognitive impairment
456 patients. *Curr. Alzheimer Res.* 11, 259–266. doi:10.2174/1567205011666140131114418.

457 Shi, Z., Zhu, Y., Wang, M., Wu, Y., Cao, J., Li, C., et al. (2015). The Utilization of Retinal
458 Nerve Fiber Layer Thickness to Predict Cognitive Deterioration. *J. Alzheimers Dis.* 49, 399–
459 405. doi:10.3233/JAD-150438.

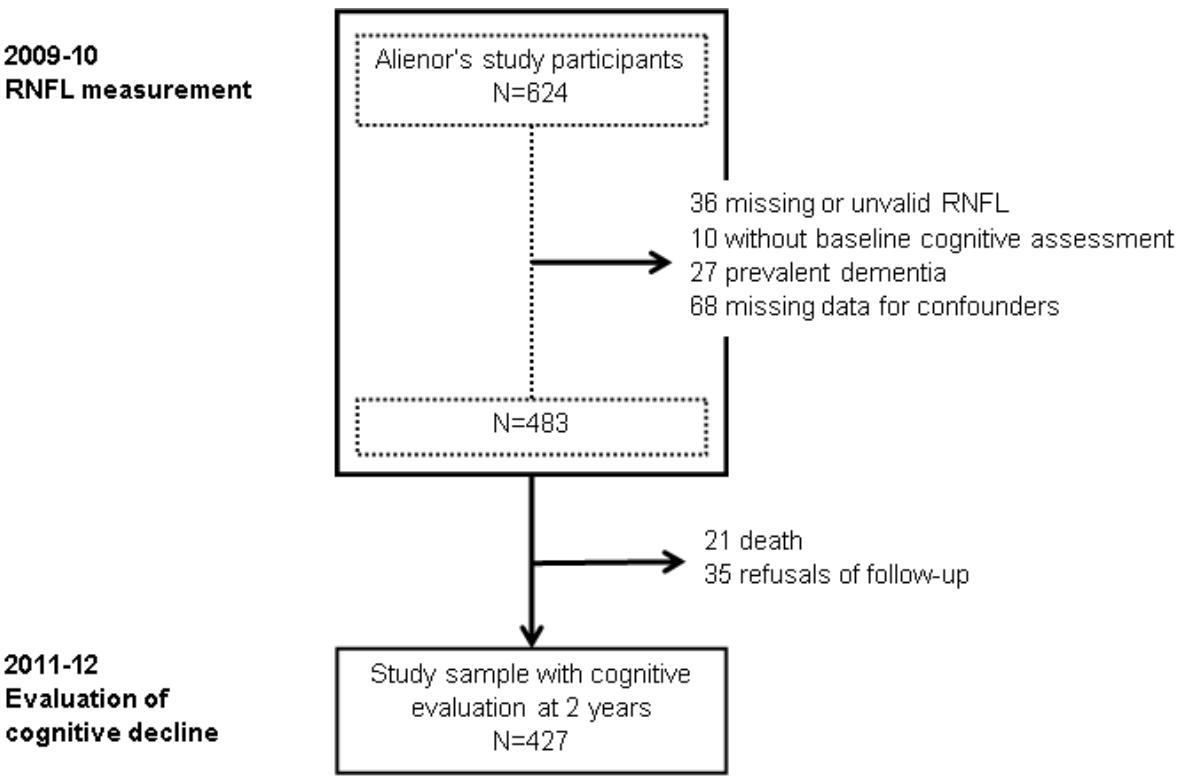
460 Small, B., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Winblad, B., and Bäckman, L. (2000). The course of
461 cognitive impairment in preclinical alzheimer disease: Three- and 6-year follow-up of a
462 population-based sample. *Arch. Neurol.* 57, 839–844. doi:10.1001/archneur.57.6.839.

463 Vogel, A., Mortensen, E. L., Gade, A., and Waldemar, G. (2007). The Category Cued Recall
464 test in very mild Alzheimer’s disease: discriminative validity and correlation with semantic
465 memory functions. *Eur. J. Neurol.* 14, 102–108. doi:10.1111/j.1468-1331.2006.01568.x.

466 West, M. J., Coleman, P. D., Flood, D. G., and Troncoso, J. C. (1994). Differences in the
467 pattern of hippocampal neuronal loss in normal ageing and Alzheimer's disease. *The Lancet*
468 344, 769–772. doi:10.1016/S0140-6736(94)92338-8.

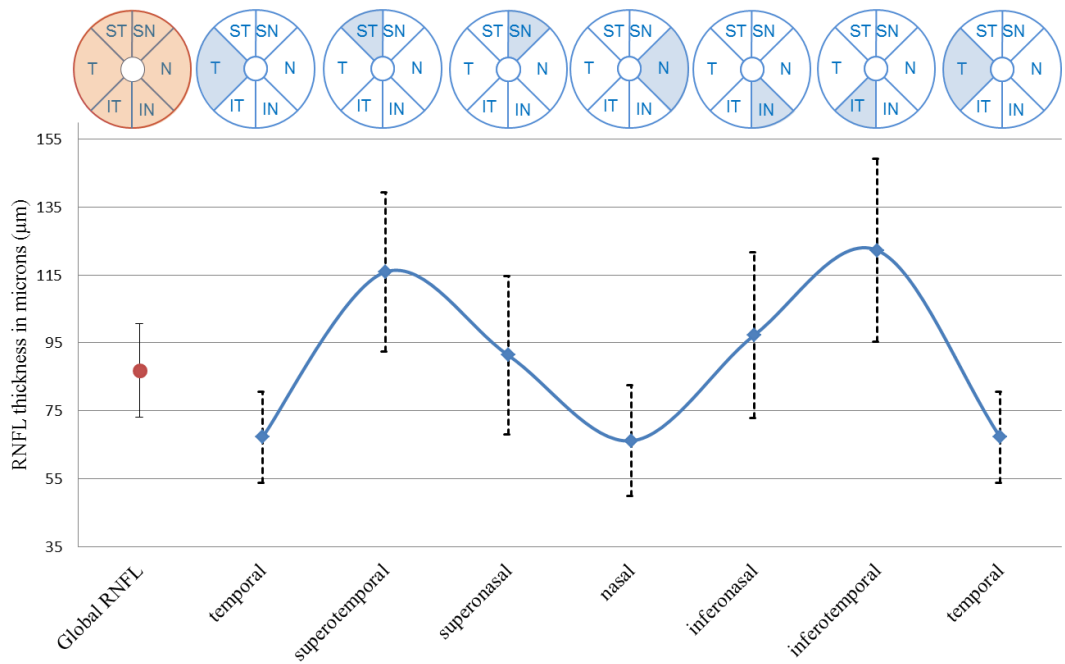
Figure legends

Figure 1. Flow chart of the population.



RNFL: Retinal Nerve Fiber Layer

473 **Figure 2. Global and six segments thicknesses of RNFL, n= 427.**



474
475 T= temporal segment, ST= superotemporal segment, SN= superonasal segment, N= nasal
476 segment, IN= inferonasal segment, IT= inferotemporal segment.

477 **Table 1: Characteristics of the study population at inclusion, N=427**

	Mean or n	SD or %
Sociodemographic, medical and ophthalmological characteristics		
Age (years), mean (SD)	81.6	4.2
Female, n (%)	266	62.3
Educational level, n (%)		
<i>Elementary school</i>	33	7.7
<i>Short secondary school</i>	198	46.4
<i>Higher level</i>	196	45.9
Apolipoprotein E4, n (%)	72	16.9
Diabetes, n (%)	44	10.3
Glaucoma, n (%)	26	6.1
Cataract surgery (with or without implant), n (%)	212	49.6
Vertical diameter of the ONH (in mm), mean (SD)	2.0	0.2
Cognitive assessment tests		
MMSE, mean (SD)	27.8	1.9
Isaacs' set test at 30", mean (SD)	45.1	9.7
FCSRT, mean (SD)		
Score of <i>three free recalls</i>	26.1	7.1
Score of <i>three free plus cued recalls</i>	45.1	4.6
Score of <i>delayed free recall</i>	10.4	3.1
Score of <i>delayed free plus cued recalls</i>	15.3	1.6
RNFL assessment measures		
Global RNFL thickness (μm), mean (SD)	86.8	13.7
Segments thickness (μm), mean (SD)		
superotemporal	115.9	23.5
temporal	67.2	13.4
inferotemporal	122.3	27.1
inferonasal	97.3	24.4
nasal	66.2	16.4
superonasal	91.4	23.3

478 *SD: Standard deviation*

479 *MMSE: Mini Mental State Examination*

480 *FCSRT: Free and Cued Selective Reminding Test*

481 *RNFL: Retinal Nerve Fiber Layer*

482 *Missing data: Isaacs' set test at 30" (n=5); all FCSRT scores (n=30).*

Table 2: Initial differences and evolution over time of the neuropsychological tests according to the global thickness of the Retinal Nerve Fiber Layer.

	Model A n= 427		Model B n=204	
	β (95% CI)	<i>p</i>	β (95% CI)	<i>p</i>
MMSE				
<i>RNFL</i>	-0.006 (-0.020 to 0.007)	0.358	0.008 (-0.012 to 0.027)	0.434
<i>RNFL * Time</i>	0.004 (-0.003 to 0.011)	0.234	0.002 (-0.007 to 0.011)	0.692
Isaacs' set test at 30"				
<i>RNFL</i>	-0.001 (-0.069 to 0.067)	0.986	0.004 (-0.090 to 0.098)	0.933
<i>RNFL * Time</i>	0.001 (-0.020 to 0.023)	0.910	0.017 (-0.013 to 0.046)	0.264
FCSRT				
Score of <i>three free recalls</i> ^a				
<i>RNFL</i>	0.011 (-0.004 to 0.025)	0.153	0.015 (-0.005 to 0.036)	0.138
<i>RNFL * Time</i>	0.001 (-0.004 to 0.007)	0.609	0.004 (-0.004 to 0.011)	0.342
Score of <i>three free plus cued recalls</i> ^b				
<i>RNFL</i>	0.010 (-0.001 to 0.021)	0.089	0.013 (-0.003 to 0.029)	0.109
<i>RNFL * Time</i>	-0.001 (-0.006 to 0.004)	0.662	-0.002 (-0.008 to 0.005)	0.589
Score of <i>delayed free recall</i> ^c				
<i>RNFL</i>	-0.002 (-0.028 to 0.024)	0.862	-0.003 (-0.040 to 0.034)	0.869
<i>RNFL * Time</i>	0.015 (0.005 to 0.025)	0.004	0.017 (0.003 to 0.030)	0.014
Score of <i>delayed free plus cued recalls</i>				
<i>RNFL</i>	-0.006 (-0.017 to 0.004)	0.253	-0.010 (-0.024 to 0.005)	0.195
<i>RNFL * Time</i>	0.007 (0.002 to 0.011)	0.004	0.011 (0.005 to 0.017)	<0.001

Model A adjusted for: time, age, interaction age/time, sex, school level, Apolipoprotein e4, diabetes, diameter of optic nerve head, cataract surgery and glaucoma.

Model B adjusted for: the same A-model with additional adjustment for axial length (AL) measure.

^a Additional adjustment for the interaction sex/ time in model A and B.

^b Additional adjustment for the interaction diabetes/ time in model A and B and the interaction AL/ time in model B.

^c Additional adjustment for the interaction Apolipoprotein e4/ time in model A and B.

MMSE: *Mini Mental State Examination.*; FCSRT: *Free and Cued Selective Reminding Test.*; RNFL: Retinal Nerve Fiber Layer.

Table 3: Initial differences and evolution over time of the FCSRT score of delayed free recall and delayed free plus cued recalls according to the segments of the RNFL.

	Model A, n= 427		Model B, n= 204	
<i>Delayed free recall*</i>	β (95% CI)	<i>p</i>	β (95% CI)	<i>p</i>
superotemporal	-0.009 (-0.024 to 0.006)	0.223	-0.009 (-0.031 to 0.012)	0.402
superotemporal $\times$ Time	0.007 (0.002 to 0.013)	0.013	0.012 (0.004 to 0.020)	0.003
temporal	-0.029 (-0.054 to -0.005)	0.020	-0.024 (-0.060 to 0.011)	0.183
temporal $\times$ Time	0.013 (0.003 to 0.023)	0.011	0.013 (-0.002 to 0.027)	0.080
inferotemporal	-0.006 (-0.020 to 0.007)	0.343	-0.009 (-0.028 to 0.010)	0.340
inferotemporal $\times$ Time	0.007 (0.002 to 0.012)	0.005	0.006 (-0.0004 to 0.013)	0.067
inferonasal	0.009 (-0.005 to 0.023)	0.192	0.005 (-0.014 to 0.024)	0.578
inferonasal $\times$ Time	0.005 (-0.001 to 0.011)	0.084	0.006 (-0.002 to 0.013)	0.142
nasal	0.020 (-0.00002 to 0.040)	0.050	0.023 (-0.005 to 0.052)	0.112
nasal $\times$ Time	0.005 (-0.003 to 0.013)	0.232	0.005 (-0.006 to 0.017)	0.351
superonasal	-0.003 (-0.018 to 0.011)	0.648	-0.008 (-0.028 to 0.013)	0.457
superonasal $\times$ Time	0.004 (-0.002 to 0.010)	0.169	0.006 (-0.002 to 0.014)	0.143
<i>Delayed free plus cued recalls</i>				
superotemporal	-0.005 (-0.011 to 0.001)	0.112	-0.005(-0.014 to 0.003)	0.232
superotemporal $\times$ Time	0.002 (-0.001 to 0.005)	0.108	0.005 (0.001 to 0.009)	0.010
temporal	-0.009 (-0.019 to 0.001)	0.089	-0.012 (-0.026 to 0.002)	0.096
temporal $\times$ Time	0.005 (-0.00003 to 0.009)	0.051	0.009 (0.002 to 0.016)	0.010
inferotemporal	-0.005 (-0.010 to 0.001)	0.092	-0.009 (-0.017 to -0.002)	0.011
inferotemporal $\times$ Time	0.003 (0.0003 to 0.005)	0.025	0.005 (0.002 to 0.008)	<0.001
inferonasal	-0.0003 (-0.006 to 0.005)	0.916	-0.0035 (-0.011 to 0.004)	0.363
inferonasal $\times$ Time	0.003 (-0.0001 to 0.005)	0.058	0.002 (-0.001 to 0.006)	0.201
nasal	0.003 (-0.005 to 0.012)	0.411	0.004 (-0.007 to 0.016)	0.440
nasal $\times$ Time	0.005 (0.001 to 0.009)	0.014	0.007 (0.001 to 0.012)	0.014
superonasal	-0.004 (-0.010 to 0.002)	0.177	-0.004 (-0.012 to 0.004)	0.340
superonasal $\times$ Time	0.002 (-0.001 to 0.005)	0.140	0.003 (-0.001 to 0.006)	0.134

Model A adjusted for: time, age, interaction age/time, sex, school level, Apolipoprotein e4, diabetes, diameter of optic nerve head, cataract surgery and glaucoma.

Model B adjusted for: the same A-model with additional adjustment for axial length (AL) measure.

*Additional adjustment for the interaction Apolipoprotein e4/time in model A and B.

MMSE: Mini Mental State Examination; FCSRT: Free and Cued Selective Reminding Test.; RNFL: Retinal Nerve Fiber Layer.

Article 2. Retinal Nerve Fiber Layer thickness and brain imaging in non-demented elderly adults (Soumis pour publication)

En raison d'une origine embryologique commune, la couche rétinienne des fibres nerveuses (RNFL) a des liens avec le système nerveux central (SNC). Ainsi, l'œil est partie intégrante du SNC et les cellules rétinienne sont susceptibles de neurodégénérescence de façon directe ou indirecte. La tomographie par cohérence optique *spectral-domain* (SD-OCT) permet une évaluation objective, précise et non invasive de la RNFL. Des études explorant la relation entre la rétine et le cerveau ont trouvé une épaisseur de la RNFL diminuée chez les sujets présentant une déficience cognitive légère (MCI) et / ou une MA par rapport à des témoins "sains". Des études utilisant l'IRM cérébrale ont montré que l'épaisseur de la RNFL était associée à une atrophie du cortex visuel et aux lésions des voies visuelles, notamment dans les radiations optiques chez les sujets présentant une SEP. Cependant, en dehors de la SEP et de certaines autres pathologies spécifiques (le glaucome notamment), la possible relation entre RNFL et imagerie cérébrale reste quasiment inexplorée. Chez les personnes âgées notamment, à l'exception d'une étude dans une population présentant majoritairement une altération cognitive (Ong et al., 2015), aucune étude n'a à ce jour était réalisée.

Notre travail avait pour objectif de déterminer si l'épaisseur de la RNFL pouvait refléter des altérations microstructurales et volumétriques du cerveau, non seulement dans les voies visuelles, mais aussi dans des régions particulièrement vulnérables au processus neurodégénératif de la MA. Pour cela, nous nous sommes basés sur la cohorte populationnelle des 3 Cités-Alienor. Notre échantillon d'étude était constitué des participants ayant bénéficié à la fois d'une imagerie cérébrale (au suivi à 10 ans de la cohorte 3C) et d'un examen ophtalmologique concomitant dans Alienor, avec mesure en SD-OCT de la RNFL. Les sujets présentant une démence et ceux ayant une pathologie oculaire pouvant influencer la mesure de la RNFL (à l'exception du glaucome) ont été exclus. Nous avons étudié la relation entre l'épaisseur de la RNFL péripapillaire en SD-OCT et :

1) les volumes cérébraux en IRM T1 morphologique (chez 114 participants). Les volumes cérébraux analysés étaient le volume total du parenchyme cérébral, le volume de substance grise, de substance blanche et le volume hippocampique (HPCv), tous ces volumes étant rapportés au volume total intracrânien.

2) et l'intégrité de la microstructure globale et des régions limbiques et visuelles du cerveau en imagerie de tenseur de diffusion (DTI) (chez 88 participant). Les paramètres analysés en imagerie en DTI étaient la fraction d'anisotropie (FA), la diffusivité moyenne (MD), la diffusivité radiale et la diffusivité axiale au niveau des radiations thalamiques postérieures,

des tractus du système limbique (fornix et cingulum) et d'une zone contrôle (faisceau postérieur de la capsule interne). En DTI, les valeurs proches de 1 de la FA reflètent l'intégrité de la microarchitecture tissulaire des fibres. La MD est la moyenne des 3 coefficients de diffusion sur les 3 axes orthogonaux du DTI ($\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3$) ; elle sera basse (proche de zéro) si l'intégrité tissulaire des fibres du cerveau est préservée.

Des modèles de régression linéaire ont été utilisés pour étudier la relation entre RNFL et paramètres d'imagerie cérébrale. Après l'ajustement par l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, l'opération de la cataracte, le diamètre vertical du disque optique, la présence d'un diabète, l'hypertension, le glaucome, la présence de l'Apo ε4 et la mesure de la longueur axiale, une épaisseur globale de la RNFL plus élevée était associée à un HPCv plus important et à de meilleurs paramètres de DTI au niveau du cingulum parahippocampique et des radiations thalamiques postérieures. Aucune autre association n'était trouvée, ni avec les autres volumes cérébraux en imagerie morphologique, ni avec les autres paramètres DTI. En particulier, il n'y avait pas d'association avec la région contrôle étudiée.

Dans cette étude, nous avons pu observer que l'épaisseur globale de la RNFL était associée aux paramètres d'IRM au niveau des voies visuelles (radiations thalamiques postérieures, incluant le cortex visuel) et au niveau des régions du système limbique, région particulièrement touchées lors du processus neurodégénératif de la MA. Ainsi, l'évaluation de l'épaisseur des fibres nerveuses de la rétine par OCT pourrait refléter les anomalies cérébrales sur les régions sensibles au processus de neurodégénérescence. Si ces résultats étaient confirmés par d'autres études et par une approche longitudinale (permettant d'évaluer si l'épaisseur de la RNFL est associée à la détérioration au cours du temps des structures cérébrales), la facilité d'utilisation de cet examen, son faible coût et sa rapidité pourrait permettre son utilisation à plus grande échelle.

Retinal Nerve Fiber Layer thickness and brain imaging in non-demented elderly adults

JL Méndez-Gómez^{1,2}, A Pelletier^{1,2,3}, MB Rougier^{1,4}, JF Korobelnik^{1,2,4}, C Schweitzer^{1,4}, MN Delyfer^{1,2,4}, G Catheline^{2,3,7}, S Monfermé⁴, JF Dartigues^{1,2,6}, C Delcourt^{1,2}, C Helmer^{1,2,5}

Author Affiliations:

¹ INSERM, U1219 - Bordeaux Population Health Research Center, F-33000 Bordeaux, France

² University of Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France

³ CNRS, INCIA, UMR 5287, F-33000 Bordeaux, France

⁴ University Hospital, Ophthalmology, Bordeaux, F-33000 France

⁵ INSERM, Clinical Investigation Center – Clinical Epidemiology 1401, F-33000 Bordeaux, France

⁶ University Hospital, Memory Consultation, CMRR, Bordeaux, F-33000 France

⁷ EPHE, PSL Research University, F-33000 Bordeaux, France

Correspondence to: Université de Bordeaux, ISPED, Catherine Helmer, 146 rue Léo Saignat, CS61292, F-33076 BORDEAUX Cedex – France

Phone: (33) 5 57 57 45 15; Fax: (33) 5 57 57 14 86

E-mail: catherine.helmer@isped.u-bordeaux2.fr

Abstract count: 148

Word count: 3124

ABSTRACT

Introduction: We aimed to explore the relationship between RNFL and brain alterations of the visual and limbic networks in non-demented elderly.

Methods: In the population-based Three-City-Alienor cohort, global RNFL was assessed by Spectral-Domain OCT. MRI morphological brain alterations were assessed by measuring global white and grey matter volumes and hippocampal regions among 114 participants. Brain microstructural alterations were assessed on Diffusion Tensor Imaging for the posterior thalamic radiations, the limbic system tracts and a control region among 88 participants. Linear regression models adjusted on several confounders were performed.

Results: A thicker RNFL was associated with a greater hippocampal volume and preserved DTI parameters in the parahippocampal cingulum and the posterior thalamic radiations. No association was found with the control region.

Conclusions: In non-demented participants, a thicker RNFL was associated with preserved MRI parameters both in the visual pathways and in regions particularly involved in the Alzheimer's neurodegenerative process.

Key words: Retinal Nerve Fiber Layer; Spectral-Domain Optical Coherence Tomography; Diffusion Tensor Imaging; Brain Volume, Elderly

1. Background

Due to a common embryologic origin, the Retinal Nerve Fiber Layer (RNFL) is anatomically related to the central nervous system; thus, the eye is a sensory organ that is truly part of the central nervous system with neuronal cells that could be susceptible to degeneration, directly or indirectly.[1] The use of advanced imaging techniques like the Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT) allows an easy and quick access to an accurate evaluation of the RNFL. Thus, RNFL may reflect the neurodegenerative changes in the brain.[2]

Some previous studies that explored the relation between retina and brain have found lower RNFL thickness, possibly related to neurodegenerative processes, in patients with mild cognitive impairment (MCI) and/or Alzheimer's Disease (AD)[3–5] or Multiple Sclerosis (MS)[6–8] compared to healthy controls. Other studies that included Magnetic Resonance Imaging (MRI) showed that the loss of RNFL correlated with significant brain alterations in MS patients[9,10] or with white matter abnormalities in their healthy relatives[11] compared to healthy controls. Using a Voxel-Based Morphometry (VBM) approach, RNFL thickness was also found to be associated with atrophy of the visual cortex and lesions in the visual pathway, specifically in optic radiations in MS patients.[12] Using functional MRI, the loss of peripapillary RNFL thickness was found to be related to decreased brain activity in the primary and secondary visual cortex in glaucoma patients.[13] Moreover, using Diffusion Tensor Imaging (DTI) technique, which is thought to assess the white matter (WM) microstructural integrity of the brain, associations were found between thinner RNFL and WM alterations in whole brain[14] and visual pathway[6,14] in MS patients compared to healthy controls.

Nevertheless, the relation between the RNFL and brain structures remains largely unexplored in the non-MS and non-glaucoma population. To our knowledge, only one previous study explored this relation in a population-based study including mainly cognitively impaired no dementia participants aged 60-85 years.[15] The authors found a reduced RNFL thickness associated with reduced grey matter volume in temporal lobe. However, in this study only brain volumes were analyzed. Yet, other brain imaging techniques such as DTI may reflect earlier alterations.

Our hypothesis is that changes in the RNFL thickness could reflect microstructural and volume alterations of the brain, not only in the visual pathways but also in regions particularly vulnerable to neurodegenerative processes in MCI and/or AD. Thus, within a population-based study of elderly participants, we aim to explore the relationships between peripapillary RNFL thickness and brain alterations measures using anatomical images to assess global and hippocampal volumes and, using diffusion-weighted images to extract parameters in specific

WM bundles in the posterior thalamic radiations including optic radiations, the WM connecting tracts of the limbic system (i.e., fornix and cingulum bundles) and the Posterior Limb of the Internal Capsule (PLIC) as a control region.

2. Methods

2.1. Study population

Our population comes from the Three-City (3C) study which is a prospective population-based cohort of French adults aged ≥ 65 years which aims to estimate the risk of dementia and cognitive impairment attributable to vascular factors in 3 French cities (Bordeaux, Dijon, Montpellier).[16] Among the 9,294 participants initially included, our study focused on the participants from Bordeaux site. A total of 2,104 were included at baseline (1999-2001) and subsequently followed-up 2, 4, 7, 10 and 12 years later. Data regarding sociodemographic characteristics, lifestyle, physical and mental health, medications, disability and cognitive functions were assessed at baseline and at each follow-up. At the 10-year follow-up, a brain imaging examination was proposed; 239 participants agreed.

At the 7-year follow-up (in 2006-2007), 963 participants agreed to participate to the Alienor study (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) consisting of an ophthalmological examination.[17] These participants were then followed-up every two years with eye examination concurrent with 3C follow-ups. In 2009-2010, a SD-OCT examination of the retina and optic nerve was included in the eye examination. Our study sample is constituted of participants with valid RNFL measurement in 2009-2010 and valid brain MRI (without presence of major cerebral pathologies) at the same time (Figure 1). The participants with prevalent dementia or medical history of stroke were excluded; those with eye diseases affecting RNFL measurement (vitreomacular traction, myopic chorioretinopathy, peripapillary choroidal neovascularization or myelinated retinal nerve fibers) were also excluded, except those with glaucoma. Indeed, because glaucoma is a degenerative disease of the optic nerve that could have common pathophysiological mechanisms with AD, participants with this disease were retained in the study population, and glaucoma was included as a covariate in the analyses.[18] In addition, as eye Axial Length (AL) influences RNFL thickness,[19] we also excluded participants with missing value for AL. Finally, our study samples included 114 subjects for the brain volume analysis (global and hippocampal volumes) and 88 subjects for the DTI analysis.

Ethics Committee approvals were obtained from the Ethical Committee of Bordeaux for the Alienor study and from the Ethical Committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre and Sud-Méditerranée III for the 3C study. All participants signed an informed consent.

2.2. MRI assessment of brain structure

2.2.1. MRI Acquisition

MRI examination was performed using an ACHIEVA 3T scanner (Philips Medical System, Netherlands) equipped with a SENSE 8-channel head coil. For each subject, anatomical high resolution MRI volumes were acquired in transverse plane using a three-dimensional MPRAGE weighted-T1 sequence, and diffusion-weighted images using a single-shot echo-planar sequence. Details on MRI sequences are provided in the Supplementary Methods 1.

2.2.2. MRI Processing

2.2.2.1. Brain volumes

Global brain volumes were assessed using Voxel-Based Morphometry (VBM) procedure[20,21] implemented in the VBM8 toolbox within SPM8 software (See Supplementary Methods 2.1). Regarding the hippocampal volume, segmentations and volume estimations were performed using FIRST,[22,23] part of FMRIB's Software Library (FSL). More details were described previously.[24] Right and left hippocampal volumes were averaged for statistical analyses. Hippocampal fraction (hippocampal volume/TIV) was used here as an index of hippocampal atrophy.[25] In the same manner, we used in statistical analyses the GM fraction (GM volume/VTI), the WM fraction (WM volume/VTI) and the Brain Parenchymal Fraction (BPF, GM+WM volumes/VTI).[26]

2.2.2.2. Diffusion parameters

We examined the integrity of WM microstructure through exploration of parameters computed from Diffusion Tensor Imaging (DTI) (Supplementary Methods 2.2.1). DTI parameters evaluate both the directionality and magnitude of water diffusion in brain tissue. Within WM, the diffusion of water is restricted along axonal bundles.[27,28] Fractional anisotropy (FA) represents the degree of directionality of water diffusivity along fibers; axial diffusivity (AxD) and radial diffusivity (RD) quantify the magnitude of diffusion along the principal and perpendicular directions of fibers, respectively, and mean diffusivity (MD) represents a global measure of diffusion. Thus, higher directionality as indicated by FA and lower magnitude of diffusion as indicated by diffusivity parameters (eg, MD, AxD and RD), generally indicate preserved microstructure. In our study, we evaluated the DTI parameters in: i) the posterior thalamic radiations including the optic tracts; ii) the bundles of the limbic system thought to be altered prematurely in AD processes (eg., fornix and cingulum bundles);

for these two bundles we analyzed them globally and specifically in their parahippocampal region. We also analyzed a control ROI (eg., Posterior Limb of Internal Capsule region including motor bundles, PLIC), not specifically involved neither in the visual pathway nor in the AD. For further details, see Supplementary Methods 2.2.2.

2.3. SD-OCT measures

Participants underwent a retinal SD-OCT examination using SPECTRALIS (Software Version 5.4.7.0; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany), performed by the same experienced technician, without pupil dilation. The SD-OCT offers a detailed cross-sectional image of the retina[29] with a device acquisition rate of 40000 A scan per second, with a depth resolution of 7 μ m in tissue and a transversal resolution of 14 μ m using a superluminescent diode with an 870 nm bandwidth. The SD-OCT provides also an automatic real-time (ART) function that adjusts for eye movement and increases image quality. The RNFL thickness was acquired using the following conditions:[17] resolution mode: high speed; circle diameter: 3.5 mm; size X: 768 pixels (10.9 mm); size Z: 496 pixels (1.9 mm); scaling X: 14.14 μ m/pixel; scaling Z: 3.87 μ m/pixel; and ART mode: 16 images. The minimum reliable value of the global thickness was retained when the measure was presented in both eyes; otherwise, data from the eye with the only reliable value was retained.

2.4. Other variables

The covariates considered were age, gender, educational level, ApoE4 genotype, diabetes (antidiabetic treatment and/or a fasting glucose level ≥ 7 mmol/L or non-fasting level ≥ 11 mmol/L), glaucoma (according to the classification proposed by Foster et al. as described in a previous paper[17,30]), hypertension (blood pressure higher than 140/90 mm Hg or antihypertensive medication), cataract extraction, optic disc size (mean of two measures of vertical disc diameter) and AL. AL was assessed for all subjects using the anatomical high resolution MRI images in transverse plane using a three-dimensional MPRAGE weighted-T1 sequence.[31] For each participant, two operators measured separately the AL and mean value of both measurements was retained. In case of difference between the two values higher than 2 mm, a third measurement was performed and the two closely measures were retained for the mean. This procedure has been validated in a subsample of 79 participants with available AL measurement with a non-contact partial coherence laser interferometry (IOL Master; Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany), showing strong correlations with AL measurement from the MRI images (Pearson correlation, $r=0.89$, $p<0.0001$).

2.5. Data analysis

The descriptive statistics were calculated for each MRI subsample, "brain volume sample" and "DTI sample". Multiple linear regression models were performed to analyze the relationship between RNFL and MRI parameters. The models were adjusted for age, gender, ocular parameters, educational level, diabetes, hypertension, glaucoma, ApoE4 and AL measurement. The distribution of residuals in the models was examined graphically in order to test the assumption of normality in their distribution. All statistical analyses were performed with the statistical software SAS version 9.3 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

3. Results

Population characteristics are described in Table 1 for the "brain volume" and "DTI" samples. The mean age was about 81 years and the samples included about 55% of women. Around 74% of participants had hypertension, 8% diabetes, 18% were ApoE4 carrier, 41.5% have had a cataract extraction and 9 to 10% had glaucoma. Global RNFL thickness was about 87 μm . Regarding brain volumes, the average BPF volume was 0.76 cm^3 (SD=0.02) and the HPCv/TIV was 0.005 mm^3 (SD=0.001). Regarding DTI parameters, the average global FA was 0.46 (SD=0.02) and the MD was 0.0008 (SD=0.00003).

3.1. RNFL thickness and brain MRI volume

The relationship between the global RNFL and the brain volume measures are displayed in Table 2. In multivariate analysis, a significant association was found with the hippocampus, a thicker RNFL being associated with a higher hippocampal fraction ($\beta=0.000013$, $p=0.0171$). No association was found between RNFL and other MRI volume measures (i.e., Brain Parenchymal Fraction, global GM fraction and global WM fraction).

3.2. RNFL thickness and DTI parameters

In multivariate analysis, the RNFL showed significant associations with both regions including the visual pathway and regions implicated in Alzheimer's disease neurodegenerative processes. A thicker RNFL was associated with a higher FA (reflecting better integrity of WM bundles, $\beta=0.0009$, $p=0.0205$) and a lower RD (better integrity, $\beta=-0.0000012$, $p=0.0375$) in the posterior thalamic radiations. A thicker RNFL was also associated with a lower MD (better integrity, $\beta=-0.0000008$, $p=0.0250$) and a lower RD ($\beta=-0.0000009$, $p=0.0275$) in parahippocampal cingulum. There was no association with other DTI parameters in the regions explored. In particular, there was no association with the control ROI.

4. Discussion

In a non-demented elderly population, we found that a thicker global peripapillary RNFL was associated with preserved DTI parameters in the posterior thalamic radiations, which include the visual pathway. In addition, a thicker RNFL was also associated with higher hippocampal volume and preserved DTI parameters in parahippocampal cingulum, regions largely involved in the Alzheimer's neurodegenerative process. On the contrary, no association was found between RNFL and DTI parameters in a control region located outside the visual pathway and the regions involved in AD. No associations were found with global MRI parameters.

The reduction of the RNFL thickness (temporal segment) was previously reported to be associated with WM lesions in posterior visual pathway (optic radiations) in MS patients.[6] The association between the RNFL and the visual pathway has been described also in a younger population with visual dysfunction where a thinner RNFL thickness was associated with white matter development injuries in the immature optic radiations.[32] In glaucoma patients, who have decreased RNFL thickness,[13,33,34] several case-control studies have also reported alterations of DTI parameters in visual pathway using 1.5T[35] or 3T[36–38] MRI. Our results add complementary knowledge; indeed, we found an association between RNFL thickness and DTI parameters in the posterior thalamic radiations, which include the visual pathway, not specifically in patients with diseases that directly influence the RNFL thickness but in a general elderly population. Thus, even beyond specific pathology inducing RNFL lesions, RNFL could reflect the brain visual pathway. To our knowledge, only one previous study explored the association between the RNFL and brain MRI beyond the context of MS or glaucoma.[15] This study included a large population of 164 elderly participants, 75% having a cognitive impairment no dementia. The results showed no association between RNFL and brain occipital lobe, which includes the visual cortex. However, only occipital volume, and not diffusion parameters, were studied. Moreover, the population was very different from ours, with a large percentage of cognitively impaired participants, thus far from a general elderly population.

In addition to the association with the visual pathway, that was rather expected, our study showed that RNFL thickness was associated with diffusion parameters in the parahippocampal cingulum and with hippocampal fraction, two brain structures largely involved in the Alzheimer's neurodegenerative process. On the contrary, no associations were found between RNFL thickness and DTI parameters in a control region, located outside the visual pathway and the regions involved in AD.

It is well known that the hippocampus is early involved in neurodegenerative process, which was evidenced in MCI patients[39] and even in cognitively intact elderly subjects before they develop AD.[40] In previous results from the 3C-Study we found that AD cases presented mediotemporal lesions up to 5 years before the diagnosis.[41] As for volumes, DTI parameters in WM structures have also been associated with current or future clinical neurodegenerative state. Compared to healthy controls, significant alterations in FA, MD and RD have been showed in parahippocampal cingulum of AD patients and MCI patients who convert to AD.[42] FA alteration was also evidenced in parahippocampal cingulum and fornix WM in non-demented cognitively normal subjects who develop amnesic-MCI two years later, compared to stable normal subjects.[43] In our elderly population, not specifically selected on cognitive capacities, the associations found between RNFL and brain structures beyond the visual pathway, are in favor of a potential interest of the RNFL to reflect brain alterations in structures particularly vulnerable in cognitive decline and AD. Concordant results were found by Ong et al. in their cognitively impaired population, with an association between RNFL and GM volume in temporal lobe.[15]

Interestingly, we found no associations between RNFL and global brain MRI parameters. One explanation may be that our population is globally well-functioning, with thus very few participants having a global alteration of the brain. In a previous MRI study among a small group of young non-MS subjects (controls for MS patients), RNFL thickness was also not associated with BPF, WM and GM volumes.[9] Ong et al. also failed to find an association with total brain, GM or WM volumes in their cognitively impaired population;[15] even in that population, the association was found only with GM in temporal lobe and not globally. However, before the stage of moderate dementia, global brain structures are relatively preserved. Thus, associations with RNFL seem to be specific of brain structures particularly vulnerable in the elderly population and involved in the neurodegenerative process of cognitive decline and AD.

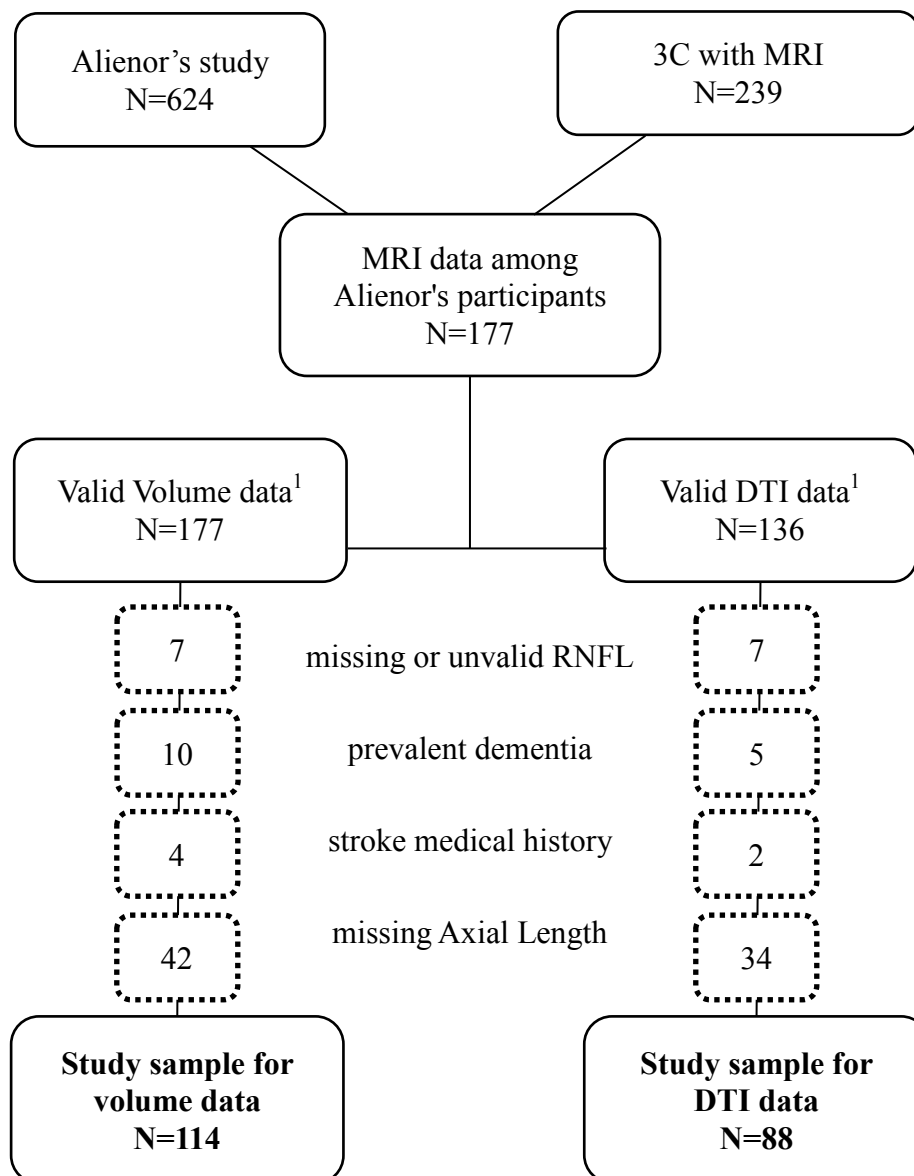
Regardless the MRI technique used, volumes or DTI parameters, our results were very consistent, a thicker RNFL being associated with both preserved DTI parameters in parahippocampal cingulum and higher hippocampal fraction. A thicker RNFL was associated with lower MD and RD in parahippocampal cingulum, but not with AxD. RD may reveals more the dysmyelination processes of neuronal cells, whereas AxD may reveals more the axonal integrity.[44] Consistently, previous studies have found a decreased microstructural integrity in WM tracts of patients with AD or at risk of AD, in particular in parahippocampal regions, with alteration of RD parameter suggesting that demyelination may be a contributing mechanism.[45],[46,47] We do not find any association with global cingulum and fornix

bundles, but only with the parahippocampal part. However, global bundles seem to evidence DTI alterations only when degenerative processes are already clinically established,[48,49] whereas our population was a general population of non-demented elderly. Thus, our results may reflect an “early silent” brain damage that may progress to a clinical stage in the future. Our study has some limitations. Firstly, our population was composed of well-functioning subjects (relatively well-educated with a conserved cognitive state) who have accepted the ophthalmologic examination. These participants may have less microstructural lesions of WM that may prevent to evidence early MRI changes associated with RNFL. However, to our knowledge, this is the first study exploring this relation in such a population. Secondly, due to our cross-sectional design, any temporal association between retina and brain degeneration cannot be evaluated; this would deserve future longitudinal approach to find out if one of these degenerations precede the other or if both are concurrent processes. Finally, as our study was restricted to participants with both brain MRI and ophthalmological examination, we cannot exclude a possible lack of power.

This study has some strengths. It includes a large population-based sample of elderly participants, with an exhaustive eye examination allowing the exclusion of ocular pathologies that are likely to influence the retinal measurement. The OCT assessments were performed on the same OCT machine by the same experienced technician following a standardized protocol. Moreover the Spectral-Domain technique provides the best quality and reproducibility currently available.[50] Brain MRI measures were also performed on the same machine, following a standardized procedure. Two different kinds of MRI parameters were analyzed (volumes and DTI parameters), in different regions of the brain, allowing a better understanding of the global processes. Finally, we took into account numerous potential confounding factors in our analyses.

In conclusion, in non-demented elderly individuals, the RNFL thickness was associated with MRI parameters both in regions including the visual pathways and in regions involved in the Alzheimer's neurodegenerative process. Thus, the OCT assessment of axonal thickness in the retina could offer a concurrent evidence of brain MRI abnormalities in these regions. However, more researches are needed to demonstrate the potential utility of the RNFL thickness to detect an early brain neurodegeneration in pre-symptomatic elderly.

Figure 1: Flow-chart of the selected subjects.



¹ Valid MRI images without presence of tumour or major cerebrovascular pathologies and presenting good quality processes.

Table 1: Characteristics of the study populations

	"Volume" sample (n=114)*		"DTI" sample (n=88)**	
Age (years), mean (SD)	81.0	(4.0)	80.6	(3.9)
Female, n (%)	63	(55.3)	48	(54.6)
Educational level, n (%)				
Higher level	58	(50.9)	42	(47.7)
Short secondary school	46	(40.4)	39	(44.3)
Elementary school	10	(8.8)	7	(8.0)
Apolipoprotein E4, n (%)	20	(18.2)	15	(17.7)
Diabetes, n (%)	9	(7.9)	7	(8.0)
Hypertension, n (%)	85	(74.6)	65	(73.9)
Glaucoma, n (%)	10	(8.8)	9	(10.2)
Cataract surgery, n (%)	47	(41.6)	36	(41.4)
Vertical diameter of optic nerve (mm), mean (SD)	2.0	(0.2)	2.1	(0.2)
Axial length, mean (SD)	23.7	(1.1)	23.7	(1.1)
Global RNFL thickness (μm), mean (SD)	87.2	(14.5)	86.9	(14.6)
MMSE, mean (SD)	27.8	(2.2)	27.8	(2.0)
MRI-DTI measures, mean (SD)				
Global Fractional Anisotropy			0.46	(0.02)
Global Axial diffusivity (s/mm ²)			0.0013	(0.00005)
Global Mean diffusivity (s/mm ²)			0.0008	(0.00003)
Global Radial diffusivity (s/mm ²)			0.0006	(0.00003)
MRI volume measures, mean (SD)				
Brain parenchymal fraction (cm ³)	0.76	(0.02)		
Hippocampal fraction (mm ³)	0.005	(0.001)		
Grey matter fraction (cm ³)	0.40	(0.03)		
White matter fraction (cm ³)	0.36	(0.02)		

SD: Standard Deviation.

RNFL: Retinal Nerve Fiber Layer

MMSE: Mini Mental State Examination

MRI: Magnetic Resonance Imaging

DTI: Diffusion Tensor Imaging

* Missing data in volume sample: Apolipoprotein E4=4; Vertical diameter of the optic nerve=3; Cataract extraction=1; Hippocampal fraction =8.

** Missing data in DTI sample: Apolipoprotein E4= 3; Vertical diameter of the optic nerve=3; Cataract extraction=1

Table 2: Associations between the global thickness of Retinal Nerve Fiber Layer and brain MRI volumes, n= 106*

	β	p
BPF (cm³)	0.00013	0.4627
Hippocampal fraction (mm³)**	0.000013	0.0171
White matter fraction (cm³)	-0.000011	0.9498
Grey matter fraction (cm³)	0.00014	0.4200
<i>Multiple linear regression model adjusted for: age, gender, educational level, cataract intervention, diameter of optic nerve disc, diabetes, hypertension, glaucoma, Apolipoprotein e4 and axial length</i>		
<i>* 8 participants with missing value for at least one covariate have been excluded from multivariate analysis</i>		
<i>** n=98</i>		

Table 3: Associations between the global thickness of Retinal Nerve Fiber Layer and DTI measures, n=81*

	Fractional Anisotropy		Axial Diffusivity		Mean Diffusivity		Radial Diffusivity	
	β	p	β	p	β	p	β	p
Global white matter	0.0002	0.3438	-0.0000002	0.4611	-0.0000002	0.3359	-0.0000003	0.3233
Global fornix	-0.0002	0.6408	0.0000006	0.6076	0.0000009	0.5816	0.0000010	0.5835
Global cingulum	0.0004	0.2143	-0.0000004	0.4602	-0.0000004	0.2061	-0.0000005	0.2072
Parahippocampal fornix	0.0003	0.3694	-0.0000006	0.2924	-0.0000005	0.2908	-0.0000004	0.3868
Parahippocampal cingulum	0.0006	0.1108	-0.0000006	0.3123	-0.0000008	0.0250	-0.0000009	0.0275
Posterior thalamic radiations	0.0009	0.0205	-0.0000004	0.5141	-0.0000010	0.0839	-0.0000012	0.0375
Posterior limb of the internal capsule	0.0001	0.5763	-0.0000001	0.8221	-0.0000001	0.5603	-0.0000002	0.5216

Multiple linear regression model adjusted for: age, gender, educational level, cataract intervention, diameter of optic nerve disc, diabetes, hypertension, glaucoma, Apolipoprotein e4 and axial length

** 7 participants with missing values for at least one covariate have been excluded from multivariate analysis*

Acknowledgments

The Three-City study is conducted under a partnership agreement between the *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM), the University Bordeaux 2 Victor Segalen and Sanofi-Aventis. The *Fondation pour la Recherche Médicale* funded the preparation and initiation of the study. The Three-City study is also supported by the *Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés*, *Direction Générale de la Santé*, MGEN, *Institut de la Longévité*, *Conseils Régionaux d'Aquitaine et Bourgogne*, *Fondation de France*, Ministry of Research-INSERM Programme “*Cohortes et collections de données biologiques*”, *Agence Nationale de la Recherche* ANR PNRA 2006 and LongVie 2007, the “*Fondation Plan Alzheimer*” (FCS 2009-2012), the Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie (CNSA) and Roche.

The Alienor study is supported by laboratoires Théa (Clermont-Ferrand, France), Fondation Voir et Entendre (Paris, France), and University of Bordeaux.

The present study has also been supported by France Alzheimer (AAP SM 2012).

Role of the Sponsors: The Laboratoires Théa participated in the design of the Alienor study, but none of the sponsors participated in the collection, management, statistical analysis and interpretation of the data, not in the preparation, review or approval of the present manuscript.

All authors are independent of financial supports.

References

- [1] London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. *Nat Rev Neurol* 2012;9:44–53.
- [2] Jindahra P, Hedges TR, Mendoza-Santiesteban CE, Plant GT. Optical coherence tomography of the retina: applications in neurology: *Curr Opin Neurol* 2010;23:16–23.
- [3] Marziani E, Pomati S, Ramolfo P, Cigada M, Giani A, Mariani C, et al. Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer and Ganglion Cell Layer Thickness in Alzheimer's Disease Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5953–5958.
- [4] Hinton DR, Sadun AA, Blanks JC, Miller CA. Optic-Nerve Degeneration in Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 1986;315:485–7.
- [5] Coppola G, Di Renzo A, Ziccardi L, Martelli F, Fadda A, Manni G, et al. Optical Coherence Tomography in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *PLOS ONE* 2015;10:1–14.
- [6] Klistorner A, Sriram P, Vootakuru N, Wang C, Barnett MH, Garrick R, et al. Axonal loss of retinal neurons in multiple sclerosis associated with optic radiation lesions. *Neurology* 2014;82:2165–2172.
- [7] Narayanan D, Cheng H, Bonem KN, Saenz R, Tang RA, Frishman LJ. Tracking changes over time in retinal nerve fiber layer and ganglion cell-inner plexiform layer thickness in multiple sclerosis. *Mult Scler J* 2014;20:1331–41.
- [8] Sabry HM, Ibrahim MA. Optical Coherence Tomography of Retinal Nerve Fibre Layer in Multiple Sclerosis and its Correlation with The Disease Evolution. *Egypt J Neurol Psychiat Neurosurg* 2010;47:21–7.
- [9] Gordon-Lipkin E, Chodkowski B, Reich DS, Smith SA, Pulicken M, Balcer LJ, et al. Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology* 2007;69:1603–1609.
- [10] Siger M, Dziegielewska K, Jasek L, Bieniek M, Nicpan A, Nawrocki J, et al. Optical coherence tomography in multiple sclerosis: Thickness of the retinal nerve fiber layer as a potential measure of axonal loss and brain atrophy. *J Neurol* 2008;255:1555–60.
- [11] Gabelic T, Weinstock-Guttman B, Melia R, Lincoff N, Masud MW, Kennedy C, et al. Retinal nerve fiber thickness and MRI white matter abnormalities in healthy relatives of multiple sclerosis patients. *Clin Neurol Neurosurg* 2013;115:S49–54.
- [12] Gabilondo I, Martínez-Lapiscina EH, Martínez-Heras E, Fraga-Pumar E, Llufríu S, Ortiz S, et al. Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis: Axonal Degeneration in MS. *Ann Neurol* 2014;75:98–107.
- [13] Murphy MC, Conner IP, Teng CY, Lawrence JD, Safiullah Z, Wang B, et al. Retinal Structures and Visual Cortex Activity are Impaired Prior to Clinical Vision Loss in Glaucoma. *Sci Rep* 2016;6:31464.
- [14] Scheel M, Finke C, Oberwahrenbrock T, Freing A, Pech L-M, Schlichting J, et al. Retinal nerve fibre layer thickness correlates with brain white matter damage in multiple sclerosis: A combined optical coherence tomography and diffusion tensor imaging study. *Mult Scler J* 2014;20:1904–7.
- [15] Ong Y-T, Hilal S, Cheung CY, Venketasubramanian N, Niessen WJ, Vrooman H, et al. Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neurosci Lett* 2015;584:12–6.
- [16] Vascular Factors and Risk of Dementia: Design of the Three-City Study and Baseline Characteristics of the Study Population. *Neuroepidemiology* 2003;22:316–25.
- [17] Delcourt C, Korobelnik J-F, Barberger-Gateau P, Delyfer M-N, Marie-Bénédicte R, Le Goff M, et al. Nutrition and Age-Related Eye Diseases: The ALIENOR (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et Maladies Oculaires) Study. *J Nutr Health Aging* 2010;14:854–61.

- [18] Helmer C, Malet F, Rougier M-B, Schweitzer C, Colin J, Delyfer M-N, et al. Is there a link between open-angle glaucoma and dementia?: The Three-City-Alienor Cohort. *Ann Neurol* 2013;74:171–3.
- [19] Savini G, Barboni P, Parisi V, Carbonelli M. The influence of axial length on retinal nerve fibre layer thickness and optic-disc size measurements by spectral-domain OCT. *Br J Ophthalmol* 2012;96:57–61.
- [20] Ashburner J, Friston KJ. Voxel-Based Morphometry—The Methods. *NeuroImage* 2000;11:805–21.
- [21] Good CD, Johnsrude IS, Ashburner J, Henson RNA, Friston KJ, Frackowiak RSJ. A Voxel-Based Morphometric Study of Ageing in 465 Normal Adult Human Brains. *NeuroImage* 2001;14:21–36.
- [22] Patenaude B, Smith SM, Kennedy DN, Jenkinson M. A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *NeuroImage* 2011;56:907–22.
- [23] Patenaude B, Smith S, Kennedy D, Jenkinson M. Bayesian Shape and Appearance Models. Oxford: FMRIB Centre, University of Oxford; 2007.
- [24] Pelletier A, Periot O, Dilharreguy B, Hiba B, Bordessoules M, Pérès K, et al. Structural hippocampal network alterations during healthy aging: a multi-modal MRI study. *Front Aging Neurosci* 2013;5.
- [25] Free SL, Bergin PS, Fish DR, Cook MJ, Shorvon SD, Stevens JM. Methods for normalization of hippocampal volumes measured with MR. *Am J Neuroradiol* 1995;16:637–643.
- [26] Rudick RA, Fisher E, Lee J-C, Simon J, Jacobs L, Group MSCR, et al. Use of the brain parenchymal fraction to measure whole brain atrophy in relapsing-remitting MS. *Neurology* 1999;53:1698–1698.
- [27] Alexander AL, Hurley SA, Samsonov AA, Adluru N, Hosseinbor AP, Mossahebi P, et al. Characterization of Cerebral White Matter Properties Using Quantitative Magnetic Resonance Imaging Stains. *Brain Connect* 2011;1:423–46.
- [28] García-Martí G, Alberich-Bayarri A, Martí-Bonmatí L. Brain structure MR imaging methods: morphometry and tractography. InTech; 2013.
- [29] Gabriele ML, Wollstein G, Ishikawa H, Xu J, Kim J, Kagemann L, et al. Three dimensional optical coherence tomography imaging: advantages and advances. *Prog Retin Eye Res* 2010;29:556–79.
- [30] Foster PJ, Buhrmann R, Quigley HA, Johnson GJ. The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. *Br J Ophthalmol* 2002;86:238–42.
- [31] Akduman EI, Nacke RE, Leiva PM, Akduman L. Accuracy of Ocular Axial Length Measurement with MRI. *Ophthalmologica* 2008;222:397–9.
- [32] Lennartsson F, Nilsson M, Flodmark O, Jacobson L. Damage to the Immature Optic Radiation Causes Severe Reduction of the Retinal Nerve Fiber Layer, Resulting in Predictable Visual Field Defects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:8278–88.
- [33] Zangwill LM, Williams J, Berry CC, Knauer S, Weinreb RN. A comparison of optical coherence tomography and retinal nerve fiber layer photography for detection of nerve fiber layer damage in glaucoma. *Ophthalmology* 2000;107:1309–1315.
- [34] Kanamori A, Nakamura M, Escano MF, Seya R, Maeda H, Negi A. Evaluation of the glaucomatous damage on retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2003;135:513–520.
- [35] Murai H, Suzuki Y, Kiyosawa M, Tokumaru AM, Ishii K, Mochizuki M. Positive correlation between the degree of visual field defect and optic radiation damage in glaucoma patients. *Jpn J Ophthalmol* 2013;57:257–62.
- [36] El-Rafei A, Engelhorn T, Wärtges S, Dörfler A, Hornegger J, Michelson G. A framework for voxel-based morphometric analysis of the optic radiation using diffusion tensor imaging in glaucoma. *Magn Reson Imaging* 2011;29:1076–87.

- [37] Garaci FG, Bolacchi F, Cerulli A, Melis M, Spanò A, Cedrone C, et al. Optic Nerve and Optic Radiation Neurodegeneration in Patients with Glaucoma: In Vivo Analysis with 3-T Diffusion-Tensor MR Imaging 1. *Radiology* 2009;252:496–501.
- [38] Chen Z, Lin F, Wang J, Li Z, Dai H, Mu K, et al. Diffusion tensor magnetic resonance imaging reveals visual pathway damage that correlates with clinical severity in glaucoma: Visual pathway damage in glaucoma patients. *Clin Experiment Ophthalmol* 2013;41:43–9.
- [39] Tabatabaei-Jafari H, Shaw ME, Cherbuin N. Cerebral atrophy in mild cognitive impairment: A systematic review with meta-analysis. *Alzheimers Dement Diagn Assess Dis Monit* 2015;1:487–504.
- [40] den Heijer T, Geerlings MI, Hoebeek FE, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM. Use of hippocampal and amygdalar volumes on magnetic resonance imaging to predict dementia in cognitively intact elderly people. *Arch Gen Psychiatry* 2006;63:57–62.
- [41] Bernard C, Helmer C, Diharreguy B, Amieva H, Auriacombe S, Dartigues J-F, et al. Time course of brain volume changes in the preclinical phase of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2014;10:143–151.e1.
- [42] Ito K, Sasaki M, Takahashi J, Uwano I, Yamashita F, Higuchi S, et al. Detection of early changes in the parahippocampal and posterior cingulum bundles during mild cognitive impairment by using high-resolution multi-parametric diffusion tensor imaging. *Psychiatry Res Neuroimaging* 2015;231:346–52.
- [43] Zhuang L, Sachdev PS, Trollor JN, Kochan NA, Reppermund S, Brodaty H, et al. Microstructural white matter changes in cognitively normal individuals at risk of amnesic MCI. *Neurology* 2012;79:748–754.
- [44] Song S-K, Sun S-W, Ramsbottom MJ, Chang C, Russell J, Cross AH. Dysmyelination Revealed through MRI as Increased Radial (but Unchanged Axial) Diffusion of Water. *NeuroImage* 2002;17:1429–36.
- [45] Salat DH, Tuch DS, van der Kouwe AJW, Greve DN, Pappu V, Lee SY, et al. White matter pathology isolates the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2010;31:244–56.
- [46] Stebbins GT, Murphy CM. Diffusion tensor imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Behav Neurol* 2009;21:39–49.
- [47] Gold BT, Powell DK, Andersen AH, Smith CD. Alterations in multiple measures of white matter integrity in normal women at high risk for Alzheimer's disease. *NeuroImage* 2010;52:1487–94.
- [48] Bosch B, Arenaza-Urquijo EM, Rami L, Sala-Llloch R, Junqué C, Solé-Padullés C, et al. Multiple DTI index analysis in normal aging, amnesic MCI and AD. Relationship with neuropsychological performance. *Neurobiol Aging* 2012;33:61–74.
- [49] Bozoki AC, Korolev IO, Davis NC, Hoisington LA, Berger KL. Disruption of limbic white matter pathways in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: A DTI/FDG-PET Study. *Hum Brain Mapp* 2012;33:1792–802.
- [50] Nassif N, Cense B, Park BH, Yun SH, Chen TC, Bouma BE, et al. In vivo human retinal imaging by ultrahigh-speed spectral domain optical coherence tomography. *Opt Lett* 2004;29:480–482.

Article 3. Choroidal thickness and white matter lesions: results from a population-based study. (En cours de soumission)

La rétine est alimentée par deux réseaux vasculaires distincts : le réseau vasculaire rétinien (issu de l'artère centrale rétinienne) et la couche vasculaire choroïde (située entre la membrane de Bruch et la sclérotique). Le réseau vasculaire rétinien et la choroïde apportent respectivement de l'oxygène et des nutriments aux couches internes et externes de la rétine. En raison du lien entre la rétine et le cerveau, des études antérieures ont montré que les anomalies microvasculaires de la rétine pouvaient refléter les atteintes cérébrales, montrant des associations entre les altérations vasculaires de la rétine avec le déficit ou le déclin cognitif, et à la démence. En outre, les études d'imagerie ont montré que ces altérations microvasculaires de la rétine sont également associées à l'atrophie cérébrale ainsi qu'à la pathologie microvasculaire cérébrale.

Cependant, la plupart des études existantes se sont intéressées uniquement à la vascularisation rétinienne et pas à la vascularisation choroïdienne ; pourtant la vascularisation choroïdienne pourrait représenter un site privilégié pour l'observation d'altérations pathologiques vasculaires dues à des facteurs de risque vasculaires. La choroïde a en effet un haut débit sanguin et se différencie du réseau vasculaire rétinien par l'absence de systèmes d'autorégulation physiologique comme la barrière hémato-rétinienne. La tomographie par cohérence optique *spectral-domain* (SD-OCT) avec le mode *enhanced depth imaging* (EDI) permet une évaluation objective, non invasive et à faible coût de la couche vasculaire choroïde alors que l'imagerie *in vivo* pour l'évaluation de la pathologie cérébrale des petits vaisseaux est longue et coûteuse. Ainsi, l'évaluation de l'épaisseur de la choroïde pourrait représenter un biomarqueur de la microvascularisation cérébrale.

Une étude explorant l'épaisseur de la choroïde a montré que la réduction de cette couche était associée à des performances cognitives diminuées. D'autres études comparant des sujets avec une maladie d'Alzheimer (MA) à des contrôles du même âge ont montré une diminution d'épaisseur de la choroïde chez les MA. Cependant, à notre connaissance aucune étude explorant le possible lien entre l'épaisseur de la choroïde et les anomalies vasculaires cérébrales n'a à ce jour été réalisée. Notre travail avait pour objectif de déterminer si l'épaisseur de la choroïde était associée au volume d'hypersignaux de la substance blanche (HSB) au sein d'une population âgée. Notre hypothèse était qu'une faible épaisseur de la choroïde était associée à un volume plus important d'HSB.

Nous nous sommes basés sur la cohorte populationnelle des 3 Cités-Alienor. Notre échantillon d'étude était constitué de 117 participants ayant bénéficié à la fois d'une mesure valide des HSB (par IRM 3T au suivi 2010-2011 de la cohorte 3C) et d'une mesure valide de

la couche choroïde (avec le mode EDI du SD-OCT dans Alienor). Deux modèles de régression linéaire ont été utilisés pour étudier l'association entre épaisseur de la choroïde et HSB. Un premier modèle a été ajusté sur l'âge, le sexe, le niveau d'études et la mesure de la longueur axiale. Un deuxième modèle a été ajusté en plus sur d'autres potentiels facteurs de confusion (tabac, diabète, hypertension, hypercholestérolémie et indice de masse corporelle). Dans le premier modèle, une épaisseur plus importante de la couche choroïde était associée à un moindre volume (valeur brute ou ajustée par le volume total intracrânien) des HSB. Dans le deuxième modèle, cette même association était légèrement diminuée, à la limite de la significativité ($p=0,054$) ; l'ajustement supplémentaire sur l'ApoE4 ne modifiait pas ce résultat.

Dans cette étude, nous avons pu observer que l'épaisseur de la choroïde était associée au volume des HSB. Ainsi, l'évaluation non-invasive, facile et rapide de l'épaisseur de la choroïde par OCT pourrait refléter des lésions microvasculaires dans le cerveau des personnes âgées (lésions qui jouent un rôle important dans le déclin cognitif et la démence). Nos modèles prennent en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels (surtout des facteurs de risque vasculaires) permettant ainsi d'observer l'association indépendante entre choroïde et HSB. Cependant, nos résultats sont à la limite de la significativité, et d'autres études, sur des populations plus importantes, sont nécessaires pour confirmer cette association. Il serait aussi important d'explorer, par une approche longitudinale, si la diminution de l'épaisseur de la choroïde au cours du temps est associée à l'augmentation de lésions vasculaires cérébrales. De tels résultats confirmatoires et complémentaires sont indispensables avant d'envisager l'utilité potentielle de la mesure de la choroïde en pratique clinique.

Choroidal thickness and white matter lesions: results from a population-based study

Juan-Luis Méndez-Gómez, MSc^{1,2}, Audrey Cougnard, PhD^{1,2}, Sarra Gattoussi, MD^{1,2,4}, Marie-Noëlle Delyfer, MD, PhD^{1,2,4}, Marie-Bénédicte Rougier, MD, PhD^{1,4}, Cédric Schweitzer, MD^{1,4}, Jean-François Korobelnik, MD^{1,2,4}, Jean-François Dartigues, MD, PhD^{1,2,5}, Cécile Delcourt, PhD^{1,2}, Catherine Helmer, MD, PhD^{1,2,3}.

¹ INSERM, Unit 1219 - Bordeaux Population Health Research Center, F-33000 Bordeaux, France.

² University of Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France.

³ INSERM, Clinical Investigation Center – Clinical Epidemiology 1401, F-33000 Bordeaux, France

⁴ University Hospital, ophthalmology, Bordeaux, F-33076 France

⁵ University Hospital, memory consultation, CMRR, Bordeaux, F-33076 France.

Title characters count: 83

Number of references: 28

Number of figures: 1

Number of tables: 2

Word count abstract: 204

Word count paper: 2786

Corresponding author:

Catherine Helmer, Université de Bordeaux, ISPED, 146 rue Léo Saignat, CS61292, F-33076 BORDEAUX Cedex – France. Phone: (33) 5 57 57 45 15; Fax: (33) 5 57 57 14 86. E-mail address: catherine.helmer@isped.u-bordeaux2.fr

Juan-Luis Méndez-Gómez juan.mendez@isped.u-bordeaux2.fr

Audrey Cougnard audrey.cougnard-gregoire@isped.u-bordeaux2.fr

Sarra Gattoussi sarragattoussi@hotmail.fr

Marie-Noëlle Delyfer marie-noelle.delyfer@chu-bordeaux.fr

Marie-Bénédicte Rougier marie-benedicte.rougier@chu-bordeaux.fr

Cédric Schweitzer cedric.schweitzer@chu-bordeaux.fr

Jean-François Korobelnik jean-francois.korobelnik@chu-bordeaux.fr

Jean-François Dartigues jean-francois.dartigues@isped.u-bordeaux2.fr

Cécile Delcourt cecile.delcourt@isped.u-bordeaux2.fr

Catherine Helmer catherine.helmer@isped.u-bordeaux2.fr

Statistical Analysis conducted by C Helmer, MD, PhD and JL Méndez-Gómez, MSc, Bordeaux University.

Search Terms: Choroidal thickness; Optical coherence tomography, enhanced depth imaging mode; white matter hyperintensities; MRI; elderly

Author contributions:

C.H. and J.L.M.-G. analyzed the data and draft the first version of the manuscript. A.C. helps analyzing and interpreting the data. C.H., C.D., J.F.D., J.F.K and J.L.M.-G. designed the study. S. G., M.B.R., J.F.K., C.S., M.N.D., J.F.D., C.D. and C.H. acquired the data. All the co-authors contributed to the interpretation of the results, critically revised the manuscript and approved the final version.

Author Disclosures:

J.L.M.-G., A.C. and S.G disclose no conflict of interest. M.B.R. is consultant for Allergan, Baush&Lomb. She has received funding for conferences from Biogen, Thea, Novartis. CS has received funding for travel from Alcon, Allergan, AMO. M.N.D. has received funding from laboratoires Théa (advisory board, travel funding) and Novartis (advisory board, travel funding). J.F.K. is consultant for Alcon, Allergan, Bayer, Carl Zeiss Meditec, Novartis, Théa. J.F.D. serves on a scientific advisory board for and has received funding for travel from Janssen-Cilag; received a gift worth more than US\$500 from Novartis; holds a corporate appointment with Merck Serono; and has received research support from Novartis and Ipsen. C.D. has received funding from laboratoires Théa (grant, advisory board, travel funding), Novartis (consultant), and Bausch&Lomb (consultant). C.H. has received honoraries from Novartis.

Study funded:

The Three-City study is conducted under a partnership agreement between the *Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale* (INSERM), the University Bordeaux 2 Victor Segalen and Sanofi-Aventis. The *Fondation pour la Recherche Médicale* funded the preparation and initiation of the study. The Three-City study is also supported by the *Caisse Nationale Maladie des Travailleurs Salariés*, *Direction Générale de la Santé*, MGEN, *Institut de la Longévité*, *Conseils Régionaux d'Aquitaine et Bourgogne*, *Fondation de France*, Ministry of Research-INSERM Programme “*Cohortes et collections de données biologiques*”, *Agence Nationale de la Recherche* ANR PNRA 2006 and LongVie 2007, the “*Fondation Plan Alzheimer*” (FCS 2009-2012), the Caisse Nationale de Solidarité pour l'Autonomie (CNSA) and Roche pharmaceutical.

The Alienor study is supported by laboratoires Théa (Clermont-Ferrand, France), Fondation Voir et Entendre (Paris, France), Association Retina France (Colomiers, France), Conseil Régional d'Aquitaine (Convention n° 20091301029, Bordeaux, France) and Fondation pour la Recherche Médicale, France (FRM).

The present study has also been supported by France Alzheimer (AAP SM 2012).

Role of the Sponsors: The Laboratoires Théa participated in the design of the Alienor study, but none of the sponsors participated in the collection, management, statistical analysis and interpretation of the data, not in the preparation, review or approval of the present manuscript. All authors are independent of financial supports.

Abstract

Objective: Our objective was to explore the relationship between choroidal thickness and White Matter Hyperintensities (WMH) volume within an elderly population.

Methods: 117 participants from the 3C-Bordeaux-Alienor longitudinal population-based cohort were included. Choroidal thickness was assessed by Spectral-Domain Optical Coherence Tomography, using the enhanced depth imaging (EDI) mode. WMH volume was automatically assessed on FLAIR images from 3T MRI, using the Lesion Segmentation Tool for SPM. Linear models adjusting for several confounders, especially vascular risk factors, were performed.

Results: Mean age was 83 years. Mean choroidal thickness was 185.6 μm and mean WMH volume was 16.0 ml. A thicker choroid layer was significantly associated with a lower volume of WMH ($\beta = -0.0409$ for 10 mm increase of choroidal thickness $p = 0.0315$) in the model adjusted for age, sex and axial length. This association was slightly decreased and borderline significant after additional adjustment for several vascular risk factors and co-morbidities ($\beta = -0.0390$, $p = 0.0541$).

Conclusions: Choroidal thickness, a non-invasive, easy and quick measure, could reflect microvascular lesions in the brain of elderly. As cerebral microvascular lesions play an important role in cognitive decline and dementia, the evaluation of retina may help to adapt advices and examinations for the elderly population in order to prevent cognitive deterioration.

INTRODUCTION

The retina is supplied by two distinct vascular systems: the retinal vascularization, supplied by the retinal central artery, which vascularizes the internal two thirds of the retina; and the choroidal vascularization, which vascularizes the external third of the retina. This choroid vascularization composes the choroid layer, a highly vascularized tissue, located between the retina and the sclera; its function is to bring oxygen and nutrients to the outer retina layer, through the Bruch membrane.

As retina and brain are intimately linked, due to a common embryonic origin, the eye may be considered as an extension of the brain. Thus, previous studies have investigated if vascular abnormalities in the retina could reflect vascular pathology in the brain, showing that retinal microvascular alterations are related to cognitive impairment, cognitive decline and dementia.[1] Moreover, retinal alterations have also been related to cerebral atrophy and microvascular cerebral pathology in imaging studies.[2-6]

However, most of the previous studies were focused on the retinal vascularization, and the choroidal vascularization has been less studied. Yet, blood flow in the choroid is one of the most important, without autoregulation, although it is still subject of debate.[7] Thus, this layer could be an early site for vascular alterations due to vascular risk factors. As in vivo visualization of cerebral small vessels disease requires brain imaging, a costly and long exam, choroidal thickness could represent a biomarker for cerebral microvascularization. A lower choroidal thickness has already been found to be associated with worse cognitive function.[8] Moreover, comparing AD patients to age-matched controls, three previous studies founded a thinner choroid in AD.[9-11] However, until now, no studies evaluated the link between choroidal thickness and vascular cerebral abnormalities.

As the choroid is located behind the retinal pigment epithelium it cannot be visualized on fundus photography. However, using the enhanced depth imaging mode of Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT) allows visualizing the choroid layer and assessing its thickness easily and quickly.[12] Our aim was to evaluate the association between choroidal thickness and white matter hyperintensities within a population-based study. We hypothesized that low choroidal thickness was associated with higher white matter hyperintensities volume.

SUBJECTS AND METHODS

Study population

This paper is based on the Three-City study and the Alienor study. The Three-City (3C) study is a prospective population-based cohort which aims to estimate the risk of dementia and

cognitive impairment attributable to vascular factors. At baseline (1999-2001), 9,294 community-dwelling French adults aged ≥ 65 years in 3 French cities (Bordeaux, Dijon, Montpellier) were included, among whom 2,104 from Bordeaux. The methodology has been described elsewhere.¹² Data regarding sociodemographic characteristics, lifestyle, physical and mental health, medications, disability and cognitive functions have been assessed at baseline and subsequently 2, 4, 7, and 10 years after. Blood samples were collected at baseline and at 10 years. At the 10-year follow-up, a subsample had a brain MRI, allowing the assessment of white matter hyperintensities.

At the 7-year follow-up (in 2006-08), 963 participants from Bordeaux agreed to participate to the Alienor study (Antioxydants, Lipides Essentiels, Nutrition et maladies OculaiRes) consisting of an ophthalmological examination.¹³ These participants were then followed-up every two years for eye examinations. In 2011-2012, in addition to the eye examination, the enhanced depth imaging mode of Spectral-Domain Optical Coherence Tomography (SD-OCT) allows to visualize the choroid layer and evaluating its thickness. Our study sample is constituted of 117 participants having both valid MRI data with assessment of white matter hyperintensities and valid measurement of choroidal thickness.

Ethics Committee approvals were obtained from the Ethical Committee of Bordeaux for the Alienor study and from the Ethical Committee of the University Hospital of Kremlin-Bicêtre and Sud-Méditerranée III for the 3C study. All participants signed an informed consent.

Eye examination and choroidal thickness

The eye examination was performed in the Department of Ophthalmology of the University Hospital of Bordeaux. It included a recording of ophthalmic history, measurement of visual acuity, refraction, intraocular pressure, nonmydriatic color fundus photographs. In 2011-2012, Spectral domain optical coherence tomography examinations were performed after pupil dilatation by the same experienced technician, using Spectralis (Software Version 5.4.7.0, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). The device acquisition rate of OCT images was 40 000 A-scans/sec. The OCT provides an automatic real-time (ART) function that adjusts for eye movement and increases image quality. Details of our OCT measures have been previously described.¹⁸ Using the Enhanced Depth Imaging mode (EDI), subfoveal choroidal thickness (SFCT) was measured manually on one horizontal scan that cutting the fovea. Subfoveal choroidal thickness was defined as the vertical distance between the hyper-reflective line of the Bruch membrane and the hyper-reflective line of the inner surface of the sclera (**Figure 1**). For each participant, both eyes were assessed. All the measurements were performed by the same ophthalmologist. In a subsample of 40 eyes, the inter-grader reliability between the ophthalmologist and two other persons (one technician and one ophthalmologist)

was tested: the intraclass correlation coefficient (ICC) was high (ICC= 0.95, 95%CI= [0.93;0.97]), showing very good reliability.

MRI assessment of White Matter Hyperintensities

MRI Acquisition

MRI examination was performed in 2010-2011 using an ACHIEVA 3T scanner (Philips Medical System, Netherlands) equipped with a SENSE 8-channel head coil. For each subject, anatomical high resolution MRI volumes were acquired in transverse plane using a three-dimensional MPRAGE weighted-T1 sequence, with the following parameters: TR/TE=8.2/3.5 ms, 7-degree flip angle, FOV 256×256 mm² to cover the whole brain, yielding 180 contiguous slices, voxel size 1×1×1 mm³. To increase signal-to-noise ratio, the sequence was repeated in four successive runs. For qualitative clinical readings, Fluid-Attenuated Inversion Recovery (FLAIR) images were also obtained with the following parameters: TR/TE/TI=11000/140/2800 ms, FOV 230×172.5 mm², yielding 24 slices, gap of 1 mm, voxel size 0.72×1.20×5 mm³. All acquisitions were aligned on the anterior commissure-posterior commissure plane (AC-PC).

MRI Processing

White Matter Hyperintensities (WMH) were automatically detected using the Lesion Segmentation Tool for SPM.[13] The procedure included three major steps and operated exclusively in the native space of T1-weighted images. First, the pre-processing was performed using VBM8 toolbox within SPM8 software. For tissue classification, T1 image was used to generate partial volume estimate image. Next, a tissue probability map of WM was created and warped to the T1 image. FLAIR images were co-registered to T1 images. Secondly, using intensity distribution of FLAIR images, outliers were detected and lesion belief maps were calculated for the three tissue classes. These lesion belief maps were then summed up. Finally, a growth model lesion was applied to create lesion maps. WMH volumes were extracted. For the analysis, we used both the crude value of WMH and the value divided by intracranial volume; values were normalized using log transformation.

Other variables

The following covariates were considered: age, sex, education level (elementary school, short secondary school vs higher level), presence of Apolipoprotein ε4 allele, and smoking in pack-years [pack-years = packs (20 cigarettes) smoked per day × years of smoking] assessed at baseline. Other vascular risk factors were assessed both at baseline and in 2010-2011 to

evaluate past and more recent exposures: high blood pressure (systolic blood pressure ≥ 140 mmHg and/or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg and/or anti-hypertensive treatment), hypercholesterolemia (fasting cholesterol level ≥ 6.2 mmol/L and/or lipid-lowering treatment) and diabetes (antidiabetic treatment and/or a fasting glucose level ≥ 7 mmol/L or non-fasting level ≥ 11 mmol/L); due to small numbers ancient and more recent diabetes have been grouped in the analysis. History of stroke was assessed at baseline and over the follow-up (reported by participants and validated by an independent expert committee on the basis of medical records). Body mass index (self-reported weight/height²) was considered in 2010-2011.

Axial length (AL) was assessed using the anatomical high resolution MRI images in transverse plane using a three-dimensional MPRAGE weighted-T1 sequence.[31] For each participant, two operators measured separately the AL and mean value of both measurements was retained. In case of difference between the two values higher than 2 mm, a third measurement was performed and the two closely measures were retained for the mean. This procedure has been validated in a subsample of 79 participants with available AL measurement with a non-contact partial coherence laser interferometry (IOL Master; Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Germany), showing strong correlations with AL measurement from the MRI images (Pearson correlation, $r=0.89$, $p<0.0001$).

Data analysis

Baseline characteristics of the study sample were first described. To study the relationship between the choroidal thickness and the WMH volume we performed multiple linear regression models. Model was first adjusted for age, sex, educational level and axial length (Model 1) and then additionally for other potential confounders (smoking, diabetes, HTA, hypercholesterolemia, BMI) (Model 2). Because of few missing data, ApoE4 was adjusted for in a supplementary model. The distribution of residuals in the models was examined graphically in order to test the assumption of normality in their distribution. Statistical analyses were performed on SAS (software version 9.3, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

RESULTS

Population characteristics are described in Table 1. The mean age was at 83.1 years (standard deviation (SD): 4.1). The sample included 55% of women and more than half of the population had a high educational level (52.1%). Regarding vascular risk factors, mean BMI was at 26.3 (SD: 4.1), 6.8% had diabetes, 83.8% had a high blood pressure, 5.1% had a history of stroke, 68.1% had hypercholesterolemia and 37.6% had ever smoked. In this

population, mean choroidal thickness was 185.6 μm (SD: 77.7) and mean WMH volume was 16.0 ml (SD: 18.1).

In model adjusted for age, sex, educational level and AL, there was a significant association between choroidal thickness and WMH volume, a thicker choroid being associated lower WMH volume ($\beta = -0.0409$, $p = 0.0315$ for 10 mm increase of choroidal thickness, Model 1). Results were the same whatever the variable considered for WMH volume (crude volume or divided by intracranial volume). After additional adjustment for vascular risk factors and vascular comorbidities the β coefficient was slightly decreased, and the association was only borderline significant ($\beta = -0.0390$, $p = 0.0541$ for 10 mm increase of choroidal thickness, Model 2). Supplementary adjustment for ApoE4 did not modify the result ($\beta = -0.0381$, $p = 0.0541$ for 10 mm increase of choroidal thickness).

DISCUSSION

In our elderly population, we found that choroidal thickness was associated with WMH; thus a non-invasive, easy and quick retinal measure could reflect microvascular lesions in the brain of elderly. This association was slightly decreased after multiple adjustments for vascular factors and co-morbidities, taking into account these vascular factors several years before the measurement of choroidal thickness.

Until now, previous studies regarding the relationship between retina and brain have mostly evaluated the retinal vascularization rather than the choroidal one. Classical retinopathy signs, retinal vascular calibers and changes in global retinal vascular network have been studied.[1] Thus, associations have been found with cognition[14-17] and dementia,[18-21] although the associations with dementia were mainly cross-sectional and mainly with vascular dementia.[20, 21] Retinal microvascular abnormalities have also been associated with cerebral vascular abnormalities, mainly cerebral infarcts and WMH, in imaging studies.[2-6] However, studies evaluating the interest of choroidal thickness in brain pathology are less frequent. In previous post-mortem studies, authors have found a decreased choroidal thickness in AD human eyes and in rats transgenic eyes.[22] A lower choroidal thickness has also been found to be associated with worse cognitive function evaluated using the Mini-Mental State Examination (MMSE), among 3009 subjects aged 50 years and over from the population-based Beijing Eye Study.[8] Moreover, comparing AD patients to age-matched controls, three previous studies founded a thinner choroid in AD.[9-11] However, beyond AD pathology, vascular processes play an important role in cognitive decline and dementia, especially with advancing age.[23]. Yet, to our knowledge, our study is one of the first to evaluate the relationship between choroidal thickness and WMH on brain MRI data within a

population-based sample. In their case-control study, Gharbiya et al failed to evidence any relationship between choroidal thickness and FASEK score for periventricular and white matter hyperintensities; the sample was however small (21 patients and 21 controls) and the method to evaluate white matter hyperintensities not automatic but semi quantitative.[10] Moreover, the authors excluded patients with vascular risk factors from their sample, leading probably to very little variability for brain microvascular abnormalities. As we were not specifically interested in evaluating AD pathology but rather cerebral small vessel disease, contrary to previous report[9-11], we did not systematically exclude participants with vascular risk factors. In particular, we did not exclude participants with history of diabetes or high blood pressure. Exclusions were done only when lesions and quality of MRI images prevent us to accurately assess WMH volume.

In our results, we found a relationship between a thicker choroid layer and a lower WMH volume. As we wanted to evaluate whether choroidal thickness was associated with brain vascular lesions beyond traditional vascular risk factors, we took into account several vascular risk factors in the analyses. Indeed, the choroid being a highly vascularized tissue, with very high blood flow, it may be influenced by vascular risk factors; these vascular factors having also a direct impact on brain vascular lesions. However, in previous studies, choroidal thickness has been found to be associated with age,[24, 25] male sex[24] and lower axial length[24, 25] but few studies have evaluated the associations between vascular factors and choroidal thickness, with conflicting results. Within the Beijing Eye Study, no association was found between vascular factors and choroidal thickness, whereas choroid was found to be thinner among type 1 diabetic patients[26] and young adults with systemic arterial hypertension,[27] compared to controls. Adjustment on these vascular factors partly explained the association between choroidal thickness and WMH in our data, but not totally. Thus, beyond the presence of observed risk factors, individual response to vascular injury, due to other non-measured factors, individual or environmental, could be partly assessed by the way of choroidal thickness.

A great advantage of the evaluation of choroidal thickness is that this is a very easy and quick measure. The specific EDI mode of the OCT directly allows measuring it, with no need of specific software for the images analysis. Thus, it could be directly used by clinicians, during a consultation. The major inconvenience is that the variability between people is high. In our data, standard deviation was at 78 μm , for a mean value of 186 μm . Thus, reduction of choroidal thickness over time rather than a single measure, could be an interesting parameter in clinical practice. However, the interest of such a reduction needs to be further evaluated within studies with longitudinal design.

Our study has some limitations. Firstly, our population was composed of well-functioning subjects, who have accepted the brain MRI and ophthalmologic examination, with few vascular risk factors, in particular few diabetics; thus, these participants may have less microvascular brain lesions than the general elderly population of the same age. Moreover due to the low numbers of participants with both MRI and ophthalmological examinations, the study's power was quite low. Secondly, our design was cross-sectional; thus future longitudinal approach should find out if both phenomena in the retina and the brain are concomitant or if one is preceding the other. Third, we did have only one measure of choroidal thickness; however, this measure was performed in the subfoveal area, where the choroid layer is the largest. Moreover, although several measures can bring more information, one single measure is probably more applicable in clinical practice.

This study has several strengths. It includes a large population-based sample of elderly participants, with eye examination and brain imaging. Brain MRI measures were performed on the same machine, following a standardized procedure and WMH were assessed automatically. The OCT assessments with EDI mode were also performed on the same machine by the same experienced technician following a standardized protocol; the manual measurement of choroidal thickness was performed by the same person, with a high intraobserver reproducibility in the subsample where choroidal thickness was measured by three persons. Moreover, as a circadian variation in choroidal thickness has been reported,[28] all the choroidal assessments were performed between 2 pm and 4 pm. Finally, we took into account numerous potential confounding factors, in particular vascular factors, to find out to what extent choroidal thickness could mirror the microvascular brain pathology, beyond vascular risk factors and comorbidities.

In conclusion, choroidal thickness could reflect microvascular lesions in the brain of elderly, beyond vascular comorbidities. As cerebral microvascular lesions play an important role in cognitive decline and dementia,[23] this evaluation of retina may help to adapt clinical care for the elderly population in order to prevent cognitive deterioration. Indeed, choroidal thickness measurement is a non-invasive and quick measure that could easily be used in clinical practice in the future. However, more researches are needed to confirm the association between choroidal thickness and brain vascular abnormalities, to explore the reduction of choroidal thickness over time and to demonstrate its potential utility in usual care.

Figure 1. Choroidal imaging using spectral-domain optical coherence tomography (SD-OCT) with enhanced depth imaging mode (EDI)

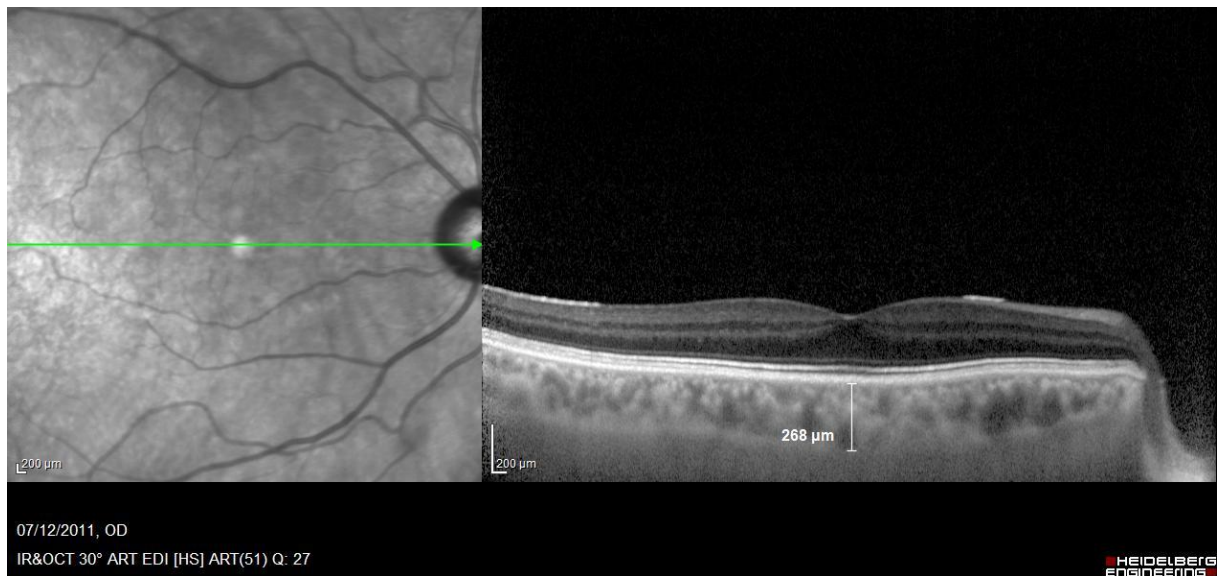


Table 1: Characteristics of the study population. 3C-Alienor study, n=117.

Age (years), mean (SD)	83.1	4.1
Female, n (%)	64	54.7
Educational level, n (%)		
- elementary school	10	8.5
- short secondary school	46	39.3
- higher level	61	52.1
Apolipoprotein E4*, n (%)	19	16.8
Diabetes, n (%)		
- recent	4	3.4
- past	4	3.4
Hypertension, n (%)		
- recent	18	15.4
- past	80	68.4
Hypercholesterolemia*, n (%)		
- recent	17	14.7
- past	62	53.4
Stroke, n (%)	6	5.1
Smoking (pack-year)*		
- never smoker	73	62.4
- 1-19	19	17.9
- ≥ 20	23	19.7
BMI, mean (SD)	26.3	4.1
Global choroidal thickness (μm), mean (SD)	185.6	77.7
Axial length (mm), mean (SD)	23.7	1.2
WML volume, mean (SD)	16.0	18.1
WML volume/VTI, mean (SD)	1.2	1.4

SD: Standard Deviation; BMI: Body Mass Index; WML: White Matter Lesions

** Missing data: Apolipoprotein E4 (n=4); hypercholesterolemia (n=1)

Table 2: Association between choroidal thickness and white matter hyperintensity volume.
3C-Alienor study, n=117.

	WMH volume (log)		log WMH volume/VTI (log)	
	β	p	β	p
Global choroidal thickness: increase of 10 mm				
Model 1	-0.0411	0.0323	-0.0409	0.0315
Model 2*	-0.0393	0.0543	-0.0390	0.0541

Multiple linear regression models adjusted for:

Model 1: age, gender, educational level, axial length

Model 2: Model 1 + diabetes (combining past and recent due to too few diabetics), high blood pressure, stroke, smoking, Body Mass Index

*1 participant with missing value for at least one covariate have been excluded in model 2

REFERENCES

1. Cheung CY, Ong YT, Ikram MK, Chen C, Wong TY. Retinal microvasculature in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 2014; 42 Suppl 4: S339-52.
2. Ikram MK, De Jong FJ, Van Dijk EJ, Prins ND, Hofman A, Breteler MM, et al. Retinal vessel diameters and cerebral small vessel disease: the Rotterdam Scan Study. *Brain* 2006; 129: 182-8.
3. Longstreth W, Jr., Larsen EK, Klein R, Wong TY, Sharrett AR, Lefkowitz D, et al. Associations between findings on cranial magnetic resonance imaging and retinal photography in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Am J Epidemiol* 2007; 165: 78-84.
4. Qiu C, Cotch MF, Sigurdsson S, Klein R, Jonasson F, Klein BE, et al. Microvascular lesions in the brain and retina: The age, gene/environment susceptibility-Reykjavik study. *Ann Neurol* 2009; 65: 569-76.
5. Haan M, Espeland MA, Klein BE, Casanova R, Gaussoin SA, Jackson RD, et al. Cognitive function and retinal and ischemic brain changes: the Women's Health Initiative. *Neurology* 2012; 78: 942-9.
6. Cheung N, Mosley T, Islam A, Kawasaki R, Sharrett AR, Klein R, et al. Retinal microvascular abnormalities and subclinical magnetic resonance imaging brain infarct: a prospective study. *Brain* 2010; 133: 1987-93.
7. Nickla DL, Wallman J. The multifunctional choroid. *Prog Retin Eye Res* 2010; 29: 144-68.
8. Jonas JB, Wang YX, Wei WB, Zhu LP, Shao L, Xu L. Cognitive Function and Subfoveal Choroidal Thickness: The Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 2016; 123: 220-2.
9. Bayhan HA, Aslan Bayhan S, Celikbilek A, Tanik N, Gurdal C. Evaluation of the chorioretinal thickness changes in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography. *Clin Experiment Ophthalmol* 2015; 43: 145-51.
10. 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: 907-17.
11. Bulut M, Yaman A, Erol MK, Kurtulus F, Toslak D, Dogan B, et al. Choroidal Thickness in Patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Type Dementia. *J Ophthalmol* 2016; 2016: 7291257.
12. Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. *Am J Ophthalmol* 2008; 146: 496-500.
13. Schmidt P, Gaser C, Arsic M, Buck D, Forschler A, Berthele A, et al. An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in Multiple Sclerosis. *Neuroimage* 2012; 59: 3774-83.
14. Baker ML, Marino Larsen EK, Kuller LH, Klein R, Klein BE, Siscovick DS, et al. Retinal microvascular signs, cognitive function, and dementia in older persons: the Cardiovascular Health Study. *Stroke* 2007; 38: 2041-7.
15. Lesage SR, Mosley TH, Wong TY, Szklo M, Knopman D, Catellier DJ, et al. Retinal microvascular abnormalities and cognitive decline: the ARIC 14-year follow-up study. *Neurology* 2009; 73: 862-8.
16. Liew G, Mitchell P, Wong TY, Lindley RI, Cheung N, Kaushik S, et al. Retinal microvascular signs and cognitive impairment. *J Am Geriatr Soc* 2009; 57: 1892-6.
17. Wong TY, Klein R, Sharrett AR, Nieto FJ, Boland LL, Couper DJ, et al. Retinal microvascular abnormalities and cognitive impairment in middle-aged persons: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Stroke* 2002; 33: 1487-92.

18. 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.
19. de Jong FJ, Schrijvers EM, Ikram MK, Koudstaal PJ, de Jong PT, Hofman A, et al. Retinal vascular caliber and risk of dementia: the Rotterdam study. *Neurology* 2011; 76: 816-21.
20. Qiu C, Cotch MF, Sigurdsson S, Jonsson PV, Jonsdottir MK, Sveinbjrnsdottir S, et al. Cerebral microbleeds, retinopathy, and dementia: the AGES-Reykjavik Study. *Neurology* 2010; 75: 2221-8.
21. Schrijvers EM, Buitendijk GH, Ikram MK, Koudstaal PJ, Hofman A, Vingerling JR, et al. Retinopathy and risk of dementia: the Rotterdam Study. *Neurology* 2012; 79: 365-70.
22. Tsai Y, Lu B, Ljubimov AV, Girman S, Ross-Cisneros FN, Sadun AA, et al. Ocular changes in TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 523-34.
23. Schneider JA, Arvanitakis Z, Leurgans SE, Bennett DA. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol* 2009; 66: 200-8.
24. Wei WB, Xu L, Jonas JB, Shao L, Du KF, Wang S, et al. Subfoveal choroidal thickness: the Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 2013; 120: 175-80.
25. Moussa M, Sabry D, Soliman W. Macular choroidal thickness in normal Egyptians measured by swept source optical coherence tomography. *BMC Ophthalmol* 2016; 16: 138.
26. Yolcu U, Cagiltay E, Toyran S, Akay F, Uzun S, Gundogan FC. Choroidal and macular thickness changes in type 1 diabetes mellitus patients without diabetic retinopathy. *Postgrad Med* 2016: 1-6.
27. Akay F, Gundogan FC, Yolcu U, Toyran S, Uzun S. Choroidal thickness in systemic arterial hypertension. *Eur J Ophthalmol* 2016; 26: 152-7.
28. Usui S, Ikuno Y, Akiba M, Maruko I, Sekiryu T, Nishida K, et al. Circadian changes in subfoveal choroidal thickness and the relationship with circulatory factors in healthy subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012; 53: 2300-7.

DISCUSSION GENERALE

I. Comment le processus dégénératif d'une MA affecte le cerveau

Le cerveau adulte sain est composé d'environ 100 milliards de neurones. Ce réseau neuronal permet le flux d'informations assurant ainsi des fonctions complexes (conscientes et autonomes) telles que les capacités de mémoire, sensibles et motrices (Alzheimer's Association, 2016). Lors du processus neurodégénératif d'une MA, l'intégrité de ce réseau neuronal est profondément compromise (Alzheimer's Association, 2016).

Les processus neurodégénératifs liés à la MA débuteraient plus de 20 ans avant l'apparition des premiers symptômes cliniques (Bateman et al., 2012; Villemagne et al., 2013). Pendant un temps, le cerveau affecté par les processus de neurodégénérescence compense afin de maintenir un fonctionnement normal, mais avec l'avancée de la neurodégénérescence surviennent des altérations cognitives, d'abord subtiles puis plus importantes. La présence de ces manifestations cliniques permettra à terme d'établir un diagnostic clinique de démence basé sur des critères diagnostiques (McKhann et al., 1984, 2011). Dans la MA, une des manifestations cliniques les plus fréquentes est l'aggravation progressive de la mémoire épisodique. A cette altération mnésique peut s'associer des altérations liées aux fonctions exécutives, aux capacités langagières ou à l'attention (Dubois et al., 2010).

Structures cérébrales touchées lors du processus neurodégénératif de la MA

Au début du processus neurodégénératif, les DNF et l'accumulation de dépôts de protéine β -amyloïde vont affecter initialement le cortex entorhinal puis s'étendre ensuite aux différentes sous-régions hippocampiques (Apostolova et al., 2010; Braak and Braak, 1991), générant un dysfonctionnement synaptique (Ballard et al., 2011) et la mort neuronale (Alzheimer's Association, 2015a). La progression des lésions s'étend ensuite aux structures parahippocampiques associées au système limbique puis à toutes les structures d'association isocorticales affectant finalement les aires sensorielles, motrices et visuelles (Braak and Braak, 1991). Cette atteinte de l'aire visuelle expliquerait notamment la présence de déficits visuo-spatiaux chez les sujets présentant une MA (Butter et al., 1996).

II. Structures oculaires et structures cérébrales : similitudes, liens et manifestations cliniques lors d'une altération.

En raison d'une forte similarité fonctionnelle et structurelle (London et al., 2013) des structures nerveuses oculaires et cérébrales, l'étude des fibres nerveuses oculaires peut permettre de mieux comprendre la réponse axonale du SNC face à une lésion (Benowitz and

Yin, 2008). Par exemple, la régénération axonale suite à une lésion est limitée dans le nerf optique et dans le cerveau de façon similaire (London et al., 2013). La régénération axonale est doublement défavorisée par l'absence de facteurs favorisant la croissance neurale (Filbin, 2003; Fischer et al., 2004; Lingor et al., 2007; Rolls et al., 2008) et la présence de facteurs inhibiteurs de celle-ci (débris de myéline et facteurs associés, astrocytes réactifs, certaines protéoglycanes, stress oxydatif...) (London et al., 2013).

L'œil et le SNC ont une interaction contrôlée avec le système immunitaire par le biais des facteurs immunomodulateurs spécifiques. Au niveau oculaire, l'interaction contrôlée du système immunitaire aide à conserver l'intégrité cellulaire en minimisant le dommage secondaire lié à son action (Streilein, 2003). De façon similaire au SNC, l'œil présente aussi des mécanismes micro-anatomiques de barrière pour la circulation sanguine au niveau du réseau vasculaire rétinien (contrairement à la choroïde) (Kaur et al., 2008) qui peuvent aider à la conception des composés thérapeutiques ciblant le cerveau et la rétine (Watanabe et al., 2012). De plus, les vaisseaux rétiens et cérébraux partagent une origine embryologique, des mécanismes de régulation et des caractéristiques anatomophysiologiques similaires (Patton et al., 2005).

Altérations des fonctions physiologiques des structures cérébrales lors d'une MA et ses manifestations cliniques

Lors d'une MA, le phénotype le plus fréquent est l'altération progressive de la mémoire épisodique (Price et al., 1993), conséquence de l'atteinte des régions du cerveau impliquées dans la capacité mnésique (Alzheimer's Association, 2015a). Dans le 1^{er} article de cette thèse, nous avons abordé la relation particulière entre la RNFL (épaisseur globale et par quadrants) et l'évolution cognitive grâce à un suivi longitudinal sur 2 ans. Nous avons montré que les sujets ayant une plus faible épaisseur globale de la RNFL avaient un déclin cognitif plus important sur les scores évaluant la mémoire épisodique. Des résultats similaires ont été observés dans l'analyse par quadrants. Les résultats de ce travail montrent que la perte axonale rétinienne est associée très spécifiquement à la principale manifestation clinique initiale de la MA, l'atteinte mnésique. Ainsi, le phénotype le plus fréquemment observé lors d'une MA débutante pourrait être reflété par l'altération de l'intégrité des fibres nerveuses de la rétine. Ce résultat est très cohérent avec les études antérieures montrant une épaisseur de la RNFL diminuée chez des sujets avec un MCI et/ou une MA (Cheung et al., 2015; Garcia-Martin et al., 2014; Iseri et al., 2006; Kesler et al., 2011; Lu et al., 2010; Paquet et al., 2007).

Mesures des fibres nerveuses rétinienne et absence de relation avec la cognition globale et la démence au sein d'une population âgée initialement non dément

Dans notre 1^{er} article, nous avons observé que la perte d'épaisseur de la RNFL n'était pas associée aux scores du MMSE reflétant l'efficacité cognitive globale. Cependant, on sait que le MMSE est peu sensible dans la détection des changements cognitifs subtils et spécifiques des premières phases de l'altération cognitive (Small et al., 2000) ; l'évolution des scores au MMSE va plutôt survenir à un stade un peu plus avancé des troubles cognitifs.

Dans ce cadre, au vu des études antérieures mettant en évidence une diminution de l'épaisseur de la RNFL chez des patients MCI et/ou déments, nous avons comparé dans notre population l'épaisseur de la RNFL entre sujets déments et non-déments sur un échantillon de 578 sujets de l'étude 3 Cités-Aliénor. Nous avons aussi exploré la relation entre l'épaisseur de la RNFL et le risque de démence future sur un échantillon de 552 sujets. Les résultats ont montré qu'il n'y avait aucune différence d'épaisseur de la RNFL entre déments et non-déments (Tableau 4), ni aucune association entre l'épaisseur de la RNFL et le risque de démence 2 ans après (Tableau 5) (résultats non publiés). Cette absence d'association peut être liée à un manque de puissance dans notre étude ; en effet, seuls 27 sujets présentaient une démence pour l'analyse transversale, et seuls 16 nouveaux cas de démence ont été diagnostiqués au cours des 2 ans de suivi. L'absence d'association peut aussi être liée au fait que notre échantillon, issu d'une étude en population générale, est probablement très différent des échantillons cliniques analysés dans les précédentes publications. Les patients MCI et/ou MA diagnostiqués dans des structures cliniques n'ont en effet pas la même présentation clinique, et probablement pas le même stade de sévérité, que ceux diagnostiqués dans le cadre d'une étude en population générale. Des études antérieures ont, par exemple, montré une évolution nettement plus défavorable, avec une conversion vers la démence bien supérieure pour des MCI diagnostiqués en clinique versus des MCI issus d'études en population générale (Farias et al., 2009).

Tableau 4. Etude comparative de l'épaisseur moyenne de la RNFL entre patients déments et non-déments. Etude 3C-Aliénor, n=578.

	Non-déments (n=551)		Démence prévalent (n=27)		p*
	moyenne	écart-type	moyenne	écart-type	
RNFL globale	86.4	13.8	82.7	19.7	0.342
Quadrants					
temporal	67.0	13.8	64.0	18.0	0.397
temporal-inférieur	121.4	27.5	115.0	40.0	0.418
temporal-supérieur	115.2	24.4	107.9	35.5	0.299
nasal	65.9	15.9	63.4	15.5	0.429
nasal-inférieur	96.7	23.6	93.9	28.2	0.554
nasal-supérieur	91.1	23.9	88.4	26.7	0.559

* *Test de Student*

Tableau 5. Etude de la relation entre l'épaisseur de la RNFL et la démence incidente 2 ans après. Etude 3C-Alienor, n=552. Régression logistique multivariée.

	Rapport de cotes (<i>odds ratio</i>)	IC à 95%		<i>p</i>
RNFL globale	1.04	0.99	1.10	0.151
Analyse par quadrants				
temporal	1.03	0.98	1.07	0.240
temporal-inférieur	1.01	0.99	1.04	0.381
temporal-supérieur	1.02	0.99	1.06	0.240
nasal	1.04	1.00	1.09	0.068
nasal-inférieur	1.00	0.98	1.03	0.840
nasal-supérieur	1.01	0.98	1.05	0.353

Modèle ajusté sur : âge, sexe, niveau d'éducation, Apolipoprotéine E4, diamètre du disque optique, opération de cataracte, diabète, hypertension, AVC, antécédents cardiovasculaires, statut tabagique et présence de glaucome.

Mesures des fibres nerveuses rétinienne et relation avec des structures cérébrales

Dans le 2^{ème} article de cette thèse, nous avons abordé la relation entre les fibres nerveuses rétinienne et les structures nerveuses cérébrales grâce à la SD-OCT et à l'IRM 3T, respectivement. Nous avons analysé l'épaisseur globale de la RNFL, la volumétrie cérébrale ainsi que la microstructure des fibres de la substance blanche (par imagerie du tenseur de diffusion (DTI)). Nous avons montré que les sujets ayant une plus faible épaisseur de la RNFL présentaient des altérations spécifiques aussi bien sur les voies visuelles que dans des régions particulièrement impliquées dans le processus neurodégénératif de la MA (hippocampe et faisceaux du cingulum parahippocampique). Les résultats de ce travail montrent que, lors d'un processus neurodégénératif « cliniquement silencieux », les lésions peuvent affecter des structures nerveuses oculaires et cérébrales de façon concomitante. Ainsi, au-delà de l'atteinte des voies visuelles, la perte axonale rétinienne est associée à une perte de cellules nerveuses dans l'hippocampe et à une altération de l'intégrité microstructurale des faisceaux nerveux para-hippocampiques.

L'altération microstructurale de la substance blanche dans les voies visuelles a déjà été observée dans plusieurs études chez les sujets glaucomateux (Chen et al., 2013; El-Rafei et al., 2011; Garaci et al., 2009; Murai et al., 2013), avec une épaisseur de la RNFL systématiquement réduite (Kanamori et al., 2003; Murphy et al., 2016; Zangwill et al., 2000). De même, une épaisseur de la RNFL réduite a été associée à une altération dans les voies visuelles chez les sujets ayant une SEP (Klistorner et al., 2014).

Les structures cérébrales associées à l'épaisseur de la RNFL dans nos résultats (hippocampe et régions parahippocampiques) ont été largement impliquées dans le MCI et la MA dans la littérature. En effet l'hippocampe est précocement altéré chez les sujets MCI (Tabatabaei-Jafari et al., 2015) et même chez les sujets âgés sans atteinte cognitive qui développent une MA dans les années suivantes (Apostolova et al., 2010; den Heijer et al., 2006). Des résultats

précédents de la cohorte des 3-Cités montraient également des lésions médiotemporales présentes jusqu'à 5 ans avant le diagnostic de MA (Bernard et al., 2014). L'altération microstructurale du cingulum parahippocampique a aussi été retrouvée chez les sujets MA (et les sujets MCI qui développeront une MA) comparés aux sujets contrôles sains (Ito et al., 2015). Cette altération a été également mise en évidence chez des sujets sans altération cognitive qui développent un MCI amnésique deux ans plus tard, par rapport aux sujets cognitivement stables (Zhuang et al., 2012).

Dans nos résultats, les altérations microstructurales de la substance blanche ont été observées en grande partie sur les paramètres de diffusivité radiale (RD) (Song et al., 2002) ce qui peut refléter une dégénération de la substance blanche liée à la démyélinisation des faisceaux neuronaux. Ainsi, plusieurs études ont constaté grâce à la RD que les sujets atteints d'une MA (ou à risque de l'avoir) avaient une altération de leur intégrité microstructurale, particulièrement dans les régions parahippocampiques (Gold et al., 2010; Salat et al., 2010; Stebbins and Murphy, 2009). La démyélinisation pourrait ainsi être contributive de la dégénération neuronale dans la MA.

Altérations des structures vasculaires et nerveuses de la rétine et leur relation avec les lésions vasculaires cérébrales

Au-delà des processus de neurodégénérescence, la participation des processus vasculaires, notamment microvasculaires dans le déclin cognitif, la survenue d'une démence et même d'une MA est de plus en plus reconnue (Schneider et al., 2009). Sur le plan clinique, ces lésions vasculaires pourraient se manifester par une atteinte préférentielle des fonctions exécutives (O'Brien et al., 2003).

De précédents travaux de notre équipe avaient montré une relation entre anomalies microvasculaires de la rétine à l'examen visuel des photographies rétinienne et déclin cognitif sur 3 ans sur le test de mémoire visuelle de Benton (travaux non publiés) (Lebrum, 2010). Dans ces travaux, les anomalies rétinienne n'étaient associées ni au déclin des autres tests ni à la survenue d'une démence à 3 ans. Dans la littérature, plusieurs études ont mis en évidence des relations entre anomalies microvasculaires rétinienne et déclin cognitif (Baker et al., 2007; Heringa et al., 2013; Lesage et al., 2009; Wong et al., 2002b), même si les études portant sur la survenue d'une démence sont plus rares (Jong et al., 2011). De façon similaire, des relations entre anomalies microvasculaires rétinienne et imagerie cérébrale ont été retrouvées, soit montrant une atrophie cérébrale plus importante (Heringa et al., 2013; Kawasaki et al., 2010; Wong et al., 2003), soit montrant des lésions vasculaires cérébrales plus importantes (Heringa et al., 2013; Ikram, 2005; Kwa et al., 2002).

De façon plus récente, certains travaux se sont intéressés à l'analyse de différents paramètres de l'architecture vasculaire de la rétine, montrant que, par rapport à des sujets contrôles, les sujets ayant une MA présentent une altération du réseau vasculaire rétinien (réduction du calibre artériel, augmentation du calibre veineux et de la tortuosité des artérioles et veinules) (Cheung et al., 2014b; Williams et al., 2015). Ces différents paramètres sont en cours d'acquisition dans la cohorte Aliénor, et pourront être mis en relation avec le déclin cognitif, la survenue d'une démence et d'une MA ainsi qu'avec l'imagerie cérébrale dans le futur.

Au-delà du réseau vasculaire rétinien, l'épaisseur de la choroïde (tunique vasculaire sous-rétinienne) a pu être mesurée dans la cohorte 3C-Alienor, grâce à l'introduction du mode EDI de l'OCT lors du suivi Alienor à 4 ans. Dans notre 3^{ème} article, nous avons abordé la relation entre l'épaisseur de la choroïde et les lésions microvasculaires du cerveau, évaluées par le volume des hypersignaux de la substance blanche (HSB) à l'imagerie cérébrale. Nous avons mis en évidence que les sujets ayant une épaisseur choroïdienne plus importante avaient un moindre volume d'HSB, même après prise en compte des différents facteurs de risque vasculaires connus de ces sujets. Des études récentes examinant l'épaisseur choroïdienne chez les sujets âgés ont montré qu'elle était associée à un meilleur statut cognitif (Bulut et al., 2016; Jonas et al., 2016) et qu'elle était diminuée chez les patients MCI (Bulut et al., 2016) et chez ceux présentant une MA (Bayhan et al., 2015; Bulut et al., 2016; Gharbiya et al., 2014) par rapport à des sujets contrôles. Cette épaisseur choroïdienne, de mesure très facile et très rapide, pourrait donc représenter un marqueur supplémentaire, en complément du profil de risque vasculaire des sujets, pour évaluer leurs lésions microvasculaires cérébrales. Notre résultat, obtenu sur une population de taille modérée, nécessite bien sûr d'être répliqué et confirmé avant d'envisager une application en pratique clinique. Cependant, ces résultats sont cohérents avec les résultats d'études antérieures suggérant que la progression des signes cliniques lors d'une MA pourrait être un processus synergique entre les altérations vasculaires et les processus neurodégénératifs (Provenzano et al., 2013; Takano et al., 2007; de la Torre, 2004). En outre, les évaluations *post-mortem* du cerveau montrent que dans 60-90% des cas de MA, l'angiopathie amyloïde, la dégénérescence microvasculaire ainsi que des lésions de la substance blanche périventriculaire sont mises en évidence (Kalaria, 2000).

A la lumière de ces résultats, nous avons tenté d'explorer cette « synergie » suggérée entre neurodégénérescence et altérations vasculaires. Nous avons ainsi voulu évaluer si l'altération des fibres nerveuses rétiniennes (mesurée par l'épaisseur de la RNFL) était associée aux lésions vasculaires cérébrales (mesurées par le volume d'HSB). Cette étude a été réalisée sur un échantillon de 90 sujets non déments de l'étude 3Cités-Alienor sans antécédent d'accident vasculaire cérébral (travaux non publiés). Les résultats montraient que les sujets ayant une RNFL globale plus épaisse (+ 1 micron) avaient un volume d'HSB moins important (Tableau

6), l'association étant à la limite de la significativité. L'analyse par quadrants de la RNFL montrait une association dans le quadrant temporal-inférieur (le plus épais) seulement. Ainsi, les résultats sur cet échantillon pourraient être en faveur d'une relation entre altération des fibres nerveuses et lésions vasculaires. Cela doit néanmoins être confirmé par d'autres études. De la même façon que pour les altérations de la RNFL, des études antérieures ont montré que les HSB sont inversement corrélés avec le volume hippocampique (Crane et al., 2015; Habes et al., 2016; Jang et al., 2013) et sont plus fréquents chez les sujets avec une MA comparés aux sujets contrôles (Bilello et al., 2015; Gordon et al., 2015).

Tableau 6. Etude de la relation entre l'épaisseur de la RNFL et le volume d'hypersignaux de la substance blanche. Etude 3C-Alienor, n=90. Modèles multivariés de régression linéaire.

	<i>Modèle A</i>			<i>Modèle B</i>		
	β	<i>p</i>	R ² ajusté (%)	β	<i>p</i>	R ² ajusté (%)
RNFL globale	-0,025	0,062	17,2	-0,025	0,063	15,2
Analyse par quadrants						
temporal-supérieur	-0,008	0,254	14,7	-0,008	0,246	12,8
temporal	-0,012	0,316	14,4	-0,012	0,309	12,4
temporal-inférieur	-0,016	0,023	19,0	-0,016	0,023	17,1
nasal-inférieur	-0,009	0,199	15,1	-0,009	0,200	13,1
nasal	-0,009	0,347	14,3	-0,009	0,354	12,2
nasal-supérieur	-0,005	0,528	13,7	-0,005	0,550	11,6

Modèle A : Log du volume des hypersignaux de la substance blanche

Modèle B : Log du volume des hyper signaux de la substance blanche corrigé par le volume total intracranien

Modèles ajustés sur : âge, sexe, niveau d'éducation, hypertension, diabète, indice de masse corporelle, Apolipoprotéine E4, diamètre du disque optique, opération de cataracte, présence de glaucome et longueur axiale.

Lien entre les différentes études sur la relation entre les structures rétinienne et cérébrales

Lors du processus neurodégénératif de la MA, les premières lésions apparaissent précocement dans le cerveau (Bateman et al., 2012; Villemagne et al., 2013) longtemps avant d'avoir un retentissement et d'être décelables par l'évaluation neuropsychologique. Ainsi, la MA présente un stade « cliniquement silencieux », stade auquel les structures spécifiques du système limbique (liées à la mémoire épisodique) sont pourtant déjà atteintes (Apostolova et al., 2010; Braak and Braak, 1991). Les études réalisées dans ce travail de thèse s'intègrent dans cette phase précoce, bien avant le stade de démence. Nous avons ainsi trouvé qu'en amont d'une atteinte clinique avérée, une mesure de la RNFL diminuée était associée à une altération spécifique des structures visuelles et limbiques ainsi qu'à un déclin des performances mnésiques en mémoire épisodique. Notre travail de thèse a également pris en compte la présence des processus vasculaires dans le vieillissement cérébral. Ainsi, nos

résultats mettent en évidence une association entre les lésions microvasculaires cérébrales et l'altération de la choroïde d'une part et de la RNFL d'autre part.

III. Utilité des structures rétinienne associées précocement au processus neurodégénératif du cerveau dans la démence

Les travaux de cette thèse amènent des arguments en faveur de l'utilisation potentielle des composants axonaux et vasculaires rétiens comme structures reflétant les atteintes cérébrales neurodégénératives et vasculaires. Ce lien rétine-cerveau pourrait constituer une voie permettant d'obtenir un diagnostic précoce de la maladie grâce à une évaluation ophtalmologique. De plus, ces évaluations rétiennes, que ce soit par OCT ou par photographie rétinienne, présentent de multiples avantages (simplicité, rapidité et faible coût) très intéressants pour envisager la rétine comme un possible biomarqueur, simple et non-invasif, de la MA et du vieillissement cérébral. Malgré cela, il est important de relativiser l'interprétation des résultats exploratoires de cette thèse.

Avantages ou inconvénients de communiquer précocement un diagnostic de démence à l'aide de biomarqueurs

Les travaux de cette thèse apportent de nouvelles connaissances mais amènent aussi à réfléchir sur les avantages ou les inconvénients potentiels pour le malade, sa famille et la société en général de l'obtention d'un diagnostic précoce de démence grâce à la rétine. Dans ce cadre, le rapport 2015 de l'*Alzheimer's Association* a exposé les avantages de communiquer précocement un diagnostic de démence, même si un traitement curatif n'est pas encore disponible (Alzheimer's Association, 2015a). Ainsi, le patient peut prendre conscience précocement de son diagnostic et avoir plus de liberté dans la prise de décision quant à son parcours de soin. C'est aussi la possibilité de s'impliquer, en tant que participant, dans la recherche clinique maximisant les chances de succès des stratégies thérapeutiques (Dubois et al., 2010; García Martín et al., 2011). Le patient et son entourage peuvent aussi anticiper les actions liées aux aspects administratifs, juridiques et financiers. Enfin, communiquer précocement un diagnostic établi peut aider l'entourage du patient à mieux comprendre les changements avec une connaissance de l'évolution de la pathologie et la possibilité de mieux apprécier les capacités restantes de leur proche. Le temps gagné grâce à la précocité du diagnostic permettrait ainsi d'adopter les meilleures stratégies d'adaptation face à la maladie. Cependant, les avantages potentiels doivent être considérés avec prudence d'autant plus que la mesure réelle du bénéfice de communiquer précocement le diagnostic n'a pas suffisamment de preuves solides. Ainsi, les avantages doivent être pondérés avec les inconvénients

potentiels du diagnostic et la communication précoce. Par exemple, dans la MA, actuellement, il n'y a pas d'essais de traitements curatifs concluants pour arrêter de façon définitive la progression de la maladie. De plus, le dépistage précoce d'une « démence future » devrait se faire systématiquement chez des personnes en apparent bon état cognitif, ce qui ouvre la porte à classer de « futures MA » qui pourraient ne pas développer une démence. L'impact de ces erreurs peut être potentiellement important dans le cadre d'une faible prévalence (même en utilisant un biomarqueur ayant une bonne précision diagnostique), ce qui peut arriver dans les cohortes de sujets MCI qui deviennent MA (Mattsson et al., 2010). De plus, il faut prendre en compte qu'un diagnostic chez les patients vrais ou faux « futurs déments » peut susciter un préjudice émotionnel fort avec des implications socio-économiques étendues. Ainsi, ce diagnostic peut entraîner des sentiments d'angoisse, d'anxiété, de souffrance, de tristesse et de profond désespoir qui peuvent accroître le risque de développer une dépression. Ceci est éthiquement problématique, même dans les cas de vrais positifs, parce que cela pourrait se traduire en 'arrêt maladie' ou la perte du travail, ce qui génère un double impact pour le patient et pour la société. Au contraire, certains sujets pourraient changer leur comportement adoptant un type de vie « à risque » ce qui sur certains pays peut faire augmenter le prix des assurances (médicales, voiture, vie...) et impacter même sur le plan juridique. Finalement, les inquiétudes liées au diagnostic pourraient augmenter le coût total de celui-ci par la multiplicité des demandes de tests complémentaires par les patients, notamment dans les pays où la couverture médicale est universelle et donc le financement de tests doit être couvert par l'Etat.

Usage de biomarqueurs de la rétine dans le cadre de la disponibilité d'un médicament contre la MA

Si un traitement contre la MA était disponible, certaines études suggèrent que des techniques de mesures rétinienne pourraient être intéressantes. Une méta-analyse récente appuie ainsi le rôle de l'OCT dans la mesure des fibres rétinienne pour l'évaluation de la progression de la MA et aussi pour l'évaluation de l'efficacité des possibles traitements (Coppola et al., 2015). Aujourd'hui, l'OCT permet d'évaluer très spécifiquement les cellules ganglionnaires (ce qui pourrait fournir de l'information sur l'altération cellulaire) et les réseaux vasculaires rétiniens (proxy de la santé microvasculaire) (Thomson et al., 2015). De plus, les performances techniques de l'OCT ne cessent de s'améliorer.

CONCLUSION

Les structures oculaires et le SNC partagent une origine embryonnaire commune. De nombreuses caractéristiques anatomiques, fonctionnelles et physiopathologiques similaires entre l'œil et le SNC ont fait de l'étude de l'œil une source importante de nouvelles connaissances sur les processus pathologiques du SNC. Ainsi, l'œil est considéré comme une structure extra-cérébrale de premier ordre dans l'étude du SNC, notamment en raison des avantages liés à son évaluation. De nos jours, des technologies avancées d'imagerie ophtalmologique comme l'OCT donnent la possibilité d'étudier les structures oculaires d'une façon rapide, reproductible, non invasive et à faible coût. Cette technologie a aidé à confirmer des changements de structures oculaires lors du vieillissement ainsi qu'à détecter des altérations pathologiques lors des pathologies du SNC. Dans ce cadre, les études montrent une réduction systématique de l'épaisseur de fibres nerveuses des cellules ganglionnaires rétiniennes lors de pathologies comme la SEP ou le glaucome. Cette réduction est aussi présente lors d'une maladie neurodégénérative majeure comme la MA. D'autres techniques complémentaires sont aussi utilisées pour aider au diagnostic d'une MA (TEP, IRM, molécules dans la LCS) mais leurs avantages sont conditionnés par la lourdeur de leurs protocoles de mesures, l'acceptation du patient et surtout par leur coût. Tous les systèmes sanitaires des différents pays ne peuvent pas assurer les aspects économiques et techniques liés à l'usage de ces technologies, alors que l'usage de l'OCT pourrait répondre à cette nécessité. Cependant, il reste encore un long chemin avant de pouvoir confirmer l'avantage concret de l'imagerie OCT de l'œil (et la rétine) afin d'établir de nouveaux biomarqueurs pouvant aider au diagnostic précoce des altérations du SNC. Sur le plan clinique, l'utilité d'un biomarqueur issu de l'imagerie rétinienne devra présenter des caractéristiques prédictives avérées sur le risque de démence afin d'être un éclairage supplémentaire pour le diagnostic. Les travaux de cette thèse ont associé des altérations des fibres nerveuses et vasculaires de l'œil avec une altération plus importante de la mémoire, des structures visuelles et limbiques et avec des lésions vasculaires cérébrales respectivement. Ainsi, ces résultats nous amènent à suggérer une capacité potentielle de l'œil à refléter précocement les altérations pathologiques du SNC, notamment celles liées à la MA.

Cependant, ces mêmes résultats nous incitent à réfléchir sur le réel avantage de l'utilisation future de l'OCT dans la procédure diagnostique d'une MA. Les avantages et inconvénients liés à la découverte précoce d'une maladie démentielle chez les individus encore « sains » ne sont pas encore suffisamment étudiés. Les implications éthiques des questions liées au diagnostic sont aussi teintées par des aspects économiques, surtout dans le contexte actuel où aucun traitement curatif n'existe contre cette pathologie.

Les résultats de cette thèse peuvent néanmoins encourager les futures recherches nécessaires pour mieux comprendre les processus pathologiques sous-jacents à l'association entre les structures oculaires et le SNC. L'éclaircissement de ce lien pourrait devenir un point clef pour l'avancée vers un biomarqueur précoce. Cliniquement, le développement d'une thérapie médicamenteuse nécessiterait un biomarqueur optimal et d'utilisation facile qui pourrait aider le monitoring de patients tout en réduisant les coûts de soins.

IMPLICATIONS ET PERSPECTIVES

A la lumière de ce travail de thèse, les résultats enrichissent les connaissances sur le lien entre l'œil et le cerveau. Certains résultats sont consensuels avec les études antérieures où les altérations oculaires sont associées aux altérations cérébrales en lien avec le processus neurodégénératif du SNC. D'autres résultats apportent de l'information sur des altérations vasculaires oculaires associées aux altérations vasculaires cérébrales, permettant ainsi de mieux comprendre la relation œil-cerveau. Tous ces résultats mettent en lumière de nouvelles possibilités pour l'utilisation de la rétine comme un biomarqueur des anomalies cérébrales. Cependant, il faut rester très prudent avant de pouvoir réellement envisager la rétine comme un biomarqueur de pathologies dégénératives du SNC, et notamment comme biomarqueur de la MA. De nombreux autres travaux devront confirmer ces premiers résultats et les étendre. De plus, de nombreuses questions de recherche restent encore à être explorées avant de concevoir la rétine comme un biomarqueur cérébral.

Travaux nécessaires pour confirmer et étendre les résultats de cette thèse

Avant d'envisager la rétine comme un biomarqueur du déclin cognitif, de la MA ou des altérations vasculaires cérébrales il est nécessaire de répliquer les résultats que nous avons obtenus et de les compléter. Ainsi, nos résultats, tant sur l'épaisseur de la RNFL que sur l'épaisseur de la couche choroïde nécessitent d'être confirmés sur des échantillons de plus grande taille et sur des études dans d'autres populations. Une approche longitudinale à plus long terme semble aussi indispensable pour évaluer dans quelles dimensions les mesures initiales de la RNFL sont associées aux atteintes d'autres fonctions cognitives et à la survenue d'une MA. De plus, afin de mieux comprendre les liens réels entre rétine et cerveau, des mesures répétées de la RNFL semblent nécessaires pour évaluer la diminution au cours du temps de son épaisseur et l'impact de cette diminution sur le déclin cognitif ou sur la survenue d'une MA. Cette même approche longitudinale devrait aussi être développée pour les autres couches de la rétine, et notamment la couche choroïde. Ces différents travaux permettraient de confirmer l'association montrée dans nos travaux en s'affranchissant des possibles problèmes de puissance statistique, des biais de sélection, de temps de suivi insuffisant ou de type de population.

Les travaux de cette thèse devront aussi être étendus en explorant d'autres structures oculaires en vue de l'approfondissement du lien entre les processus neurodégénératifs dans l'œil et le cerveau. Ces études futures pourront aborder l'étude des cellules ganglionnaires rétiniennes mais aussi l'exploration des réseaux vasculaires de la rétine avec, notamment, les nouvelles

technologies d'imagerie qui permettent de mesurer l'altération de l'architecture du réseau vasculaire rétinien.

Comparaison et complémentarité des performances des structures oculaires avec d'autres types de procédures de diagnostic complémentaires

Si nos résultats sont confirmés et étendus, des travaux complémentaires devront ensuite évaluer les caractéristiques métriques des structures oculaires afin de préciser notamment la sensibilité, la spécificité et les capacités prédictives des structures rétiniennes. Les seuils pouvant être utilisés en pratique clinique pour détecter une population "à risque" devront aussi être déterminés.

Au-delà des performances isolées des structures rétiniennes comme biomarqueurs de la pathologie cérébrale, une analyse comparative ou combinée aux autres biomarqueurs existant sera nécessaire, afin de préciser dans quelle mesure les structures rétiniennes pourraient apporter des éléments complémentaires dans la démarche clinique. Ainsi, les futures études devront évaluer les performances des biomarqueurs oculaires comparativement à celles des biomarqueurs comme l'IRM, les biomarqueurs du LCS et la TEP. Cependant, la facilité d'utilisation et le faible coût des biomarqueurs rétiniens par rapport à l'imagerie cérébrale et aux marqueurs du LCS devra aussi être pris en compte. Cependant, avant la comparaison avec des paramètres considérés comme "biomarqueurs" de la pathologie, une comparaison avec les différents paramètres cliniques -et notamment les tests neuropsychologiques utilisés en pratique clinique courante- semble indispensable. Au final, des études combinant l'ensemble des biomarqueurs cliniques, biologiques, d'imagerie et rétiniens devraient être réalisées afin d'établir les intérêts respectifs de ces différents biomarqueurs pour le diagnostic et la prise en charge clinique des patients. Cela permettrait d'apporter des éléments de réponse aux questions suivantes : Les biomarqueurs rétiniens permettent-ils une amélioration des performances diagnostiques ? Si oui, à quel stade ? Pour quelle(s) pathologie(s) ? Pour la MA uniquement ou également pour les démences mixtes ? La réponse à ce type de questions pourrait ainsi permettre d'optimiser les critères diagnostiques à un stade prodromique, conduisant à l'établissement de nouveaux critères clinico-biologiques dans la pratique clinique. Néanmoins, de telles études combinant l'ensemble des biomarqueurs sont difficiles, longues et coûteuses à mettre en place et les futures études devront sans doute se contenter de données plus restreintes, apportant chacune des réponses partielles à chacune des questions.

REFERENCES

- Alamouti, B., and Funk, J. (2003). Retinal thickness decreases with age: an OCT study. *Br. J. Ophthalmol.* 87, 899–901.
- Alzheimer, A., Stelzmann, R.A., Schnitzlein, H.N., and Murtagh, F.R. (1995). An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde." *Clin. Anat. N. Y. N* 8, 429–431.
- Alzheimer's Association (2015a). 2015 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 11, 332–384.
- Alzheimer's Association (2015b). Changing the Trajectory of Alzheimer's Disease: How a Treatment by 2025 Saves Lives and Dollars (US).
- Alzheimer's Association (2016). 2016 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 12, 459–509.
- American Psychiatric Association (2013). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (American Psychiatric Association).
- Amieva, H., Jacqmin-Gadda, H., Orgogozo, J.-M., Le Carret, N., Helmer, C., Letenneur, L., Barberger-Gateau, P., Fabrigoule, C., and Dartigues, J.-F. (2005). The 9 year cognitive decline before dementia of the Alzheimer type: a prospective population-based study. *Brain* 128, 1093.
- Apostolova, L.G., Mosconi, L., Thompson, P.M., Green, A.E., Hwang, K.S., Ramirez, A., Mistur, R., Tsui, W.H., and de Leon, M.J. (2010). Subregional hippocampal atrophy predicts Alzheimer's dementia in the cognitively normal. *Neurobiol. Aging* 31, 1077–1088.
- Armstrong, R.A. (2009). Alzheimer's Disease and the Eye. *J. Optom.* 2, 103–111.
- Ascaso, F.J., Cruz, N., Modrego, P.J., Lopez-Anton, R., Santabàrbara, J., Pascual, L.F., Lobo, A., and Cristóbal, J.A. (2014). Retinal alterations in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: an optical coherence tomography study. *J. Neurol.* 261, 1522–1530.
- Bach-Holm, D., Kessing, S.V., Mogensen, U., Forman, J.L., Andersen, P.K., and Kessing, L.V. (2012). Normal tension glaucoma and Alzheimer disease: comorbidity? *Acta Ophthalmol. (Copenh.)* 90, 683–685.
- Bajwa, A., Aman, R., and Reddy, A.K. (2015). A comprehensive review of diagnostic imaging technologies to evaluate the retina and the optic disk. *Int. Ophthalmol.* 35, 733–755.
- Baker, M.L., Larsen, E.K.M., Kuller, L.H., Klein, R., Klein, B.E.K., Siscovick, D.S., Bernick, C., Manolio, T.A., and Wong, T.Y. (2007). Retinal Microvascular Signs, Cognitive Function, and Dementia in Older Persons. *Stroke* 38, 2041–2047.
- Balazsi, A.G., Rootman, J., Drance, S.M., Schulzer, M., and Douglas, G.R. (1984). The Effect of Age on the Nerve Fiber Population of the Human Optic Nerve. *Am. J. Ophthalmol.* 97, 760–766.
- Ballard, C., Gauthier, S., Corbett, A., Brayne, C., Aarsland, D., and Jones, E. (2011). Alzheimer's disease. *The Lancet* 377, 1019–1031.

- Bateman, R.J., Xiong, C., Benzinger, T.L.S., Fagan, A.M., Goate, A., Fox, N.C., Marcus, D.S., Cairns, N.J., Xie, X., Blazey, T.M., et al. (2012). Clinical and Biomarker Changes in Dominantly Inherited Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* 367, 795–804.
- Bates, K.A., Fonte, J., Robertson, T.A., Martins, R.N., and Harvey, A.R. (2002). Chronic gliosis triggers Alzheimer's disease-like processing of amyloid precursor protein. *Neuroscience* 113, 785–796.
- Bayer, A.U., Ferrari, F., and Erb, C. (2002). High occurrence rate of glaucoma among patients with Alzheimer's disease. *Eur. Neurol.* 47, 165–168.
- Bayhan, H.A., Aslan Bayhan, S., Celikbilek, A., Tanik, N., and Gürdal, C. (2015). Evaluation of the chorioretinal thickness changes in Alzheimer's disease using spectral-domain optical coherence tomography: Chorioretinal thickness in Alzheimer's disease. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 43, 145–151.
- Bekris, L.M., Yu, C.-E., Bird, T.D., and Tsuang, D.W. (2010). Genetics of Alzheimer disease. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 23, 213–227.
- Benowitz, L., and Yin, Y. (2008). Rewiring the injured CNS: lessons from the optic nerve. *Exp. Neurol.* 209, 389–398.
- Bernard, C., Helmer, C., Dilharreguy, B., Amieva, H., Auriacombe, S., Dartigues, J.-F., Allard, M., and Catheline, G. (2014). Time course of brain volume changes in the preclinical phase of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* 10, 143–151.
- Bilello, M., Doshi, J., Nabavizadeh, S.A., Toledo, J.B., Erus, G., Xie, S.X., Trojanowski, J.Q., Han, X., and Davatzikos, C. (2015). Correlating Cognitive Decline with White Matter Lesion and Brain Atrophy Magnetic Resonance Imaging Measurements in Alzheimer's Disease. *J. Alzheimers Dis.* 48, 987–994.
- Blanks, J.C., Hinton, D.R., Sadun, A.A., and Miller, C.A. (1989). Retinal ganglion cell degeneration in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 501, 364–372.
- Blanpain, N., and Chardon, O. (2010). Projections de population à l'horizon 2060 - Un tiers de la population âgé de plus de 60 ans. *Insee Prem.*
- Blumenthal, E.Z., Williams, J.M., Weinreb, R.N., Girkin, C.A., Berry, C.C., and Zangwill, L.M. (2000). Reproducibility of nerve fiber layer thickness measurements by use of optical coherence tomography. *Ophthalmology* 107, 2278–2282.
- Braak, H., and Braak, E. (1991). Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 82, 239–259.
- Budenz, D.L., Anderson, D.R., Varma, R., Schuman, J., Cantor, L., Savell, J., Greenfield, D.S., Patella, V.M., Quigley, H.A., and Tielsch, J. (2007). Determinants of Normal Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Measured by Stratus OCT. *Ophthalmology* 114, 1046–1052.
- Bulut, M., Yaman, A., Erol, M.K., Kurtuluş, F., Toslak, D., Doğan, B., Turgut Çoban, D., and Kaya Başar, E. (2016). Choroidal Thickness in Patients with Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Type Dementia. *J. Ophthalmol.* 2016, 1–7.
- Bussel, I.I., Wollstein, G., and Schuman, J.S. (2014). OCT for glaucoma diagnosis, screening and detection of glaucoma progression. *Br. J. Ophthalmol.* 98, ii15–ii19.

- Butter, C.M., Trobe, J.D., Foster, N.L., and Berent, S. (1996). Visual-spatial deficits explain visual symptoms in Alzheimer's disease. *Am. J. Ophthalmol.* 122, 97–105.
- Celebi, A.R.C., and Mirza, G.E. (2013). Age-Related Change in Retinal Nerve Fiber Layer Thickness Measured With Spectral Domain Optical Coherence Tomography Age-Related Change in RNFL Thickness. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 8095–8103.
- Chen, T.C. (2009). Spectral domain optical coherence tomography in glaucoma: qualitative and quantitative analysis of the optic nerve head and retinal nerve fiber layer (an AOS thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 107, 254–281.
- Chen, Z., Lin, F., Wang, J., Li, Z., Dai, H., Mu, K., Ge, J., and Zhang, H. (2013). Diffusion tensor magnetic resonance imaging reveals visual pathway damage that correlates with clinical severity in glaucoma: Visual pathway damage in glaucoma patients. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 41, 43–49.
- Cheung, C.Y., Ong, Y.-T., Ikram, M.K., Chen, C., and Wong, T.Y. (2014a). Retinal microvasculature in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 42, S339–S352.
- Cheung, C.Y., Ong, Y.T., Ikram, M.K., Ong, S.Y., Li, X., Hilal, S., Catindig, J.-A.S., Venketasubramanian, N., Yap, P., Seow, D., et al. (2014b). Microvascular network alterations in the retina of patients with Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc.* 10, 135–142.
- Cheung, C.Y., Ong, Y.T., Hilal, S., Ikram, M.K., Low, S., Ong, Y.L., Venketasubramanian, N., Yap, P., Seow, D., Chen, C.L.H., et al. (2015). Retinal Ganglion cell analysis using high-definition Optical Coherence Tomography in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 45, 45–56.
- Choi, S.R., Golding, G., Zhuang, Z., Zhang, W., Lim, N., Hefti, F., Benedum, T.E., Kilbourn, M.R., Skovronsky, D., and Kung, H.F. (2009). Preclinical Properties of 18F-AV-45: A PET Agent for A β Plaques in the Brain. *J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med.* 50, 1887–1894.
- Chuang, Y.F., An, Y., Bilgel, M., Wong, D.F., Troncoso, J.C., O'Brien, R.J., Breitner, J.C., Ferruci, L., Resnick, S.M., and Thambisetty, M. (2015). Midlife adiposity predicts earlier onset of Alzheimer's dementia, neuropathology and presymptomatic cerebral amyloid accumulation. *Mol. Psychiatry*.
- Clark, C., Agnew, S., Chittams J, and et al (2003). Cerebrospinal fluid tau and β -amyloid: How well do these biomarkers reflect autopsy-confirmed dementia diagnoses? *Arch. Neurol.* 60, 1696–1702.
- Coppola, G., Di Renzo, A., Ziccardi, L., Martelli, F., Fadda, A., Manni, G., Barboni, P., Pierelli, F., Sadun, A.A., and Parisi, V. (2015). Optical Coherence Tomography in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis. *PLOS ONE* 10, 1–14.
- Corder, E., Saunders, A., Strittmatter, W., Schmechel, D., Gaskell, P., Small, G., Roses, A., Haines, J., and Pericak-Vance, M. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261, 921.
- Cornutiu, G. (2015). The Epidemiological Scale of Alzheimer's Disease. *J. Clin. Med. Res.* 7, 657–666.

Crane, D.E., Black, S.E., Ganda, A., Mikulis, D.J., Nestor, S.M., Donahue, M.J., and MacIntosh, B.J. (2015). Gray matter blood flow and volume are reduced in association with white matter hyperintensity lesion burden: a cross-sectional MRI study. *Front. Aging Neurosci.* 7.

Danesh-Meyer, H.V., Birch, H., Ku, J.-F., Carroll, S., and Gamble, G. (2006). Reduction of optic nerve fibers in patients with Alzheimer disease identified by laser imaging. *Neurology* 67, 1852–1854.

Dichtl, A., Jonas, J.B., and Naumann, G.O. (1999). Retinal nerve fiber layer thickness in human eyes. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 237, 474–479.

Dubois, B., Feldman, H.H., Jacova, C., Cummings, J.L., DeKosky, S.T., Barberger-Gateau, P., Delacourte, A., Frisoni, G., Fox, N.C., Galasko, D., et al. (2010). Revising the definition of Alzheimer's disease: a new lexicon. *Lancet Neurol.* 9, 1118–1127.

El-Rafei, A., Engelhorn, T., Wärtges, S., Dörfler, A., Hornegger, J., and Michelson, G. (2011). A framework for voxel-based morphometric analysis of the optic radiation using diffusion tensor imaging in glaucoma. *Magn. Reson. Imaging* 29, 1076–1087.

Farias, S.T., Mungas, D., Reed, B.R., Harvey, D., and DeCarli, C. (2009). Progression of Mild Cognitive Impairment to Dementia in Clinic- vs Community-Based Cohorts. *Arch. Neurol.* 66.

Feuer, W.J., Budenz, D.L., Anderson, D.R., Cantor, L., Greenfield, D.S., Savell, J., Schuman, J.S., and Varma, R. (2011). Topographic Differences in the Age-related Changes in the Retinal Nerve Fiber Layer of Normal Eyes Measured by Stratus Optical Coherence Tomography: *J. Glaucoma* 20, 133–138.

Filbin, M.T. (2003). Myelin-associated inhibitors of axonal regeneration in the adult mammalian CNS. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 703–713.

Fischer, D., He, Z., and Benowitz, L.I. (2004). Counteracting the Nogo receptor enhances optic nerve regeneration if retinal ganglion cells are in an active growth state. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* 24, 1646–1651.

Fratiglioni, L., Launer, L.J., Andersen, K., Breteler, M.M., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Lobo, A., Martinez-Lage, J., Soininen, H., and Hofman, A. (2000). Incidence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. *Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. Neurology* 54, S10-15.

Gabelic, T., Weinstock-Guttman, B., Melia, R., Lincoff, N., Masud, M.W., Kennedy, C., Brinar, V., Ramasamy, D.P., Carl, E., Bergsland, N., et al. (2013). Retinal nerve fiber thickness and MRI white matter abnormalities in healthy relatives of multiple sclerosis patients. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 115, S49–S54.

Gabilondo, I., Martínez-Lapiscina, E.H., Martínez-Heras, E., Fraga-Pumar, E., Llufriu, S., Ortiz, S., Bullich, S., Sepulveda, M., Falcon, C., Berenguer, J., et al. (2014). Trans-synaptic axonal degeneration in the visual pathway in multiple sclerosis: Axonal Degeneration in MS. *Ann. Neurol.* 75, 98–107.

Gallez, C. (2005). Rapport sur la maladie d'Alzheimer et les maladies apparentées (Office parlementaire d'évaluation des politiques de santé; Assemblée nationale; FRANCE. Sénat).

- Gao, L., Liu, Y., Li, X., Bai, Q., and Liu, P. (2015). Abnormal retinal nerve fiber layer thickness and macula lutea in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 60, 162–167.
- Garaci, F.G., Bolacchi, F., Cerulli, A., Melis, M., Spanò, A., Cedrone, C., Floris, R., Simonetti, G., and Nucci, C. (2009). Optic Nerve and Optic Radiation Neurodegeneration in Patients with Glaucoma: In Vivo Analysis with 3-T Diffusion-Tensor MR Imaging 1. *Radiology* 252, 496–501.
- García Martín, E., Fuertes Lázaro, I., Fernández Tirado, F.J., and Júlvez, L.E.P. (2011). Utilidad de los nuevos dispositivos de tomografía de coherencia óptica de dominio espectral para el estudio de las demencias degenerativas. *Arch. Soc. Esp. Oftalmol.* 86, 347–350.
- García-Martí, G., Alberich-Bayarri, A., and Martí-Bonmatí, L. (2013). Brain structure MR imaging methods: morphometry and tractography (InTech).
- Garcia-Martin, E.S., Rojas, B., Ramirez, A.I., de Hoz, R., Salazar, J.J., Yubero, R., Gil, P., Triviño, A., and Ramirez, J.M. (2014). Macular thickness as a potential biomarker of mild Alzheimer's disease. *Ophthalmology* 121, 1149–1151.
- Gharbiya, M., Trebbastoni, A., Parisi, F., Manganiello, S., Cruciani, F., D'Antonio, F., De Vico, U., Imbriano, L., Campanelli, A., and De Lena, C. (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.
- Gold, B.T., Powell, D.K., Andersen, A.H., and Smith, C.D. (2010). Alterations in multiple measures of white matter integrity in normal women at high risk for Alzheimer's disease. *NeuroImage* 52, 1487–1494.
- Gordon, B.A., Najmi, S., Hsu, P., Roe, C.M., Morris, J.C., and Benzinger, T.L.S. (2015). The effects of white matter hyperintensities and amyloid deposition on Alzheimer dementia. *NeuroImage Clin.* 8, 246–252.
- Gordon-Lipkin, E., Chodkowski, B., Reich, D.S., Smith, S.A., Pulicken, M., Balcer, L.J., Frohman, E.M., Cutter, G., and Calabresi, P.A. (2007). Retinal nerve fiber layer is associated with brain atrophy in multiple sclerosis. *Neurology* 69, 1603–1609.
- Gracitelli, C.P., Abe, R.Y., and Medeiros, F.A. (2015). Spectral-domain optical coherence tomography for glaucoma diagnosis. *Open Ophthalmol. J.* 9.
- Grasset, L., Brayne, C., Joly, P., Jacqmin-Gadda, H., Peres, K., Foubert-Samier, A., Dartigues, J.-F., and Helmer, C. (2016). Trends in dementia incidence: Evolution over a 10-year period in France. *Alzheimers Dement.* 12, 272–280.
- Guo, L., Salt, T.E., Luong, V., Wood, N., Cheung, W., Maass, A., Ferrari, G., Russo-Marie, F., Sillito, A.M., Cheetham, M.E., et al. (2007). Targeting amyloid- β in glaucoma treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 13444–13449.
- Habes, M., Erus, G., Toledo, J.B., Zhang, T., Bryan, N., Launer, L.J., Rosseel, Y., Janowitz, D., Doshi, J., Van der Auwera, S., et al. (2016). White matter hyperintensities and imaging patterns of brain ageing in the general population. *Brain* 139, 1164–1179.
- Hamer, M., and Chida, Y. (2009). Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychol. Med.* 39, 3.

- Hardy, J., Myers, A., and Wavrant-De Vrieze, F. (2004). Problems and Solutions in the Genetic Analysis of Late-Onset Alzheimer's Disease. *Neurodegener. Dis.* 1, 213–217.
- Harwerth, R.S., Wheat, J.L., and Rangaswamy, N.V. (2008). Age-Related Losses of Retinal Ganglion Cells and Axons. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* 49, 4437.
- Haute Autorité de Santé (2011). *Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : diagnostic et prise en charge. Recommandations.*
- He, X.-F., Liu, Y.-T., Peng, C., Zhang, F., Zhuang, S., and Zhang, J.-S. (2012). Optical coherence tomography assessed retinal nerve fiber layer thickness in patients with Alzheimer's disease: a meta-analysis. *Int. J. Ophthalmol.* 5, 401–405.
- Hedges, T.R., Galves, R.P., Spiegelman, D., Barbas, N.R., Peli, E., and Yardley, C.J. (1996). Retinal nerve fiber layer abnormalities in Alzheimer's disease. *Acta Ophthalmol. Scand.* 74, 271–275.
- den Heijer, T., Geerlings, M.I., Hoebeek, F.E., Hofman, A., Koudstaal, P.J., and Breteler, M.M. (2006). Use of hippocampal and amygdalar volumes on magnetic resonance imaging to predict dementia in cognitively intact elderly people. *Arch. Gen. Psychiatry* 63, 57–62.
- Helmer, C., Pérès, K., Letenneur, L., Gutiérrez-Robledo, L.M., Ramarosan, H., Barberger-Gateau, P., Fabrigoule, C., Orgogozo, J.-M., and Dartigues, J.-F. (2006). Dementia in Subjects Aged 75 Years or Over within the PAQUID Cohort: Prevalence and Burden by Severity. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 22, 87–94.
- Helmer, C., Pérès, K., Pariente, A., Pasquier, F., Auriacombe, S., Poncet, M., Portet, F., Rouaud, O., Ritchie, K., Tzourio, C., et al. (2008). Primary and Secondary Care Consultations in Elderly Demented Individuals in France. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 26, 407–415.
- Helmer, C., Malet, F., Rougier, M.-B., Schweitzer, C., Colin, J., Delyfer, M.-N., Korobelnik, J.-F., Barberger-Gateau, P., Dartigues, J.-F., and Delcourt, C. (2013). Is there a link between open-angle glaucoma and dementia ? The Three-City-Alienor Cohort. *Ann. Neurol.* 74, 171–173.
- Heneka, M.T., Rodríguez, J.J., and Verkhratsky, A. (2010). Neuroglia in neurodegeneration. *Brain Res. Rev.* 63, 189–211.
- Heringa, S.M., Bouvy, W.H., Berg, E. van den, Moll, A.C., Kappelle, L.J., and Biessels, G.J. (2013). Associations Between Retinal Microvascular Changes and Dementia, Cognitive Functioning, and Brain Imaging Abnormalities: A Systematic Review. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 33, 983–995.
- Hinton, D.R., Sadun, A.A., Blanks, J.C., and Miller, C.A. (1986). Optic-Nerve Degeneration in Alzheimer's Disease. *N. Engl. J. Med.* 315, 485–487.
- Huang, D., Swanson, E.A., Lin, C.P., Schuman, J.S., Stinson, W.G., Chang, W., Hee, M.R., Flotte, T., Gregory, K., Puliafito, C.A., et al. (1991). Optical coherence tomography. *Sci. N. Y. NY* 254, 1178.
- Ikram, M.K. (2005). Retinal vessel diameters and cerebral small vessel disease: the Rotterdam Scan Study. *Brain* 129, 182–188.

- Iseri, P.K., Altinas, Ö., Tokay, T., and Yüksel, N. (2006). Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. *J. Neuroophthalmol.* 26, 18–24.
- Ito, K., Sasaki, M., Takahashi, J., Uwano, I., Yamashita, F., Higuchi, S., Goodwin, J., Harada, T., Kudo, K., and Terayama, Y. (2015). Detection of early changes in the parahippocampal and posterior cingulum bundles during mild cognitive impairment by using high-resolution multi-parametric diffusion tensor imaging. *Psychiatry Res. Neuroimaging* 231, 346–352.
- Jack, C.R., Knopman, D.S., Jagust, W.J., Shaw, L.M., Aisen, P.S., Weiner, M.W., Petersen, R.C., and Trojanowski, J.Q. (2010). Hypothetical model of dynamic biomarkers of the Alzheimer's pathological cascade. *Lancet Neurol.* 9, 119–128.
- Jang, J.-W., Kim, S., Na, H.Y., Ahn, S., Lee, S.J., Kwak, K.-H., Lee, M.-A., Hsiung, G.-Y.R., Choi, B.-S., and Youn, Y.C. (2013). Effect of white matter hyperintensity on medial temporal lobe atrophy in Alzheimer's disease. *Eur. Neurol.* 69, 229–235.
- Jonas, J.B., Wang, Y.X., Wei, W.B., Zhu, L.P., Shao, L., and Xu, L. (2016). Cognitive Function and Subfoveal Choroidal Thickness: The Beijing Eye Study. *Ophthalmology* 123, 220–222.
- Jong, F.J. de, Schrijvers, E.M.C., Ikram, M.K., Koudstaal, P.J., Jong, P.T.V.M. de, Hofman, A., Vingerling, J.R., and Breteler, M.M.B. (2011). Retinal vascular caliber and risk of dementia The Rotterdam Study. *Neurology* 76, 816–821.
- Kalaria, R.N. (2000). The role of cerebral ischemia in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 21, 321–330.
- Kampougeris, G., Spyropoulos, D., Mitropoulou, A., Zografou, A., and Kosmides, P. (2013). Peripapillary retinal nerve fibre layer thickness measurement with SD-OCT in normal and glaucomatous eyes: distribution and correlation with age. *Int. J. Ophthalmol.* 6, 662–665.
- Kanamori, A., Nakamura, M., Escano, M.F., Seya, R., Maeda, H., and Negi, A. (2003). Evaluation of the glaucomatous damage on retinal nerve fiber layer thickness measured by optical coherence tomography. *Am. J. Ophthalmol.* 135, 513–520.
- Kanno, M., Nagasawa, M., Suzuki, M., and Yamashita, H. (2010). Peripapillary retinal nerve fiber layer thickness in normal Japanese eyes measured with optical coherence tomography. *Jpn. J. Ophthalmol.* 54, 36–42.
- Kasper, J.D., Freedman, V.A., and Spillman, B.C. (2014). Disability and Care Needs of Older Americans: An Analysis of the 2011 National Health and Aging Trends Study (US: Office of Disability, Aging and Long -Term Care Policy Office of the Assistant Secretary for Planning and Evaluation U.S. Department of Health and Human Services Contract #HHSP23337003T).
- Katz, S., Ford, A., Moskowitz, R., Jackson, B., and Jaffe, M. (1963). Studies of illness in the aged. The index of ADL: a standardized measure of biological and psychosocial function. *JAMA* 185, 914–919.
- Kaur, C., Foulds, W., and Ling, E. (2008). Blood–retinal barrier in hypoxic ischaemic conditions: Basic concepts, clinical features and management. *Prog. Retin. Eye Res.* 27, 622–647.

- Kawasaki, R., Cheung, N., Mosley, T., Islam, A.F.M., Sharrett, A.R., Klein, R., Coker, L.H., Knopman, D.S., Shibata, D.K., Catellier, D., et al. (2010). Retinal Microvascular Signs and 10-Year Risk of Cerebral Atrophy: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke* 41, 1826–1828.
- Kesler, A., Vakhapova, V., Korczyn, A.D., Naftaliev, E., and Neudorfer, M. (2011). Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 113, 523–526.
- Kessing, L.V., Lopez, A.G., Andersen, P.K., and Kessing, S.V. (2007). No Increased Risk of Developing Alzheimer Disease in Patients With Glaucoma. *J. Glaucoma* 16.
- Kiliç, A., Altıntaş, Ö., Yüksel, N., Altıntaş, L., Çelik, M., and Çağlar, Y. (2010). Optical Coherence Tomography Measurement of Retinal Nerve Fibre Layer, Optic Nerve Head and Macula in Normal Subjects. *Neuro-Ophthalmol.* 34, 36–44.
- Klistorner, A., Sriram, P., Vootakuru, N., Wang, C., Barnett, M.H., Garrick, R., Parratt, J., Levin, N., Raz, N., Van der Walt, A., et al. (2014). Axonal loss of retinal neurons in multiple sclerosis associated with optic radiation lesions. *Neurology* 82, 2165–2172.
- Klunk, W.E., Engler, H., Nordberg, A., Wang, Y., Blomqvist, G., Holt, D.P., Bergström, M., Savitcheva, I., Huang, G., Estrada, S., et al. (2004). Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann. Neurol.* 55, 306–319.
- Knopman, D.S. (2007). Cerebrovascular disease and dementia. *Br. J. Radiol.* 80 Spec No 2, S121-127.
- Kromer, R., Serbecic, N., Hausner, L., Froelich, L., Aboul-Enein, F., and Beutelspacher, S.C. (2014). Detection of Retinal Nerve Fiber Layer Defects in Alzheimer's Disease Using SD-OCT. *Front. Psychiatry* 5.
- Kwa, V.I.H., Van der Sande, J.J., Stam, J., Tijmes, N., Vrooland, J.L., and others (2002). Retinal arterial changes correlate with cerebral small-vessel disease. *Neurology* 59, 1536–1540.
- Kwon, Y.H., Fingert, J.H., Kuehn, M.H., and Alward, W.L. (2009). Primary Open-Angle Glaucoma. *N. Engl. J. Med.* 360, 1113–1124.
- Lambert, J.-C., Ibrahim-Verbaas, C.A., Harold, D., Naj, A.C., Sims, R., Bellenguez, C., Jun, G., DeStefano, A.L., Bis, J.C., Beecham, G.W., et al. (2013). Meta-analysis of 74,046 individuals identifies 11 new susceptibility loci for Alzheimer's disease. *Nat. Genet.* 45, 1452–1458.
- Lamirel, C., Newman, N.J., and Biousse, V. (2010). Optical coherence tomography (OCT) in optic neuritis and multiple sclerosis. *Rev. Neurol. (Paris)* 166, 978–986.
- Lawton, M.P., and Brody, E.M. (1969). Assessment of Older People: Self-Maintaining and Instrumental Activities of Daily Living. *The Gerontologist* 9, 179–186.
- Lebrum, C. (2010). Association entre anomalies microvasculaires de la rétine et déclin cognitif et démence au sein de l'étude des 3 Cités et de l'étude Alienor (Bordeaux: Inserm U897).

- Lesage, S.R., Mosley, T.H., Wong, T.Y., Szklo, M., Knopman, D., Catellier, D.J., Cole, S.R., Klein, R., Coresh, J., Coker, L.H., et al. (2009). Retinal microvascular abnormalities and cognitive decline The ARIC 14-year follow-up study. *Neurology* 73, 862–868.
- Letenneur, L., Launer, J., Andersen, K., Dewey, M.E., Ott, A., Copeland, J.R.M., Dartigues, J.-F., Kragh-Sorensen, P., Baldereschi, M., Brayne, C., et al. (2000). Education and Risk for Alzheimer's Disease: Sex Makes a Difference EURODEM Pooled Analyses. *Am. J. Epidemiol.* 151, 1064–1071.
- Levkovitch-Verbin, H., Quigley, H.A., Kerrigan-Baumrind, L.A., D'Anna, S.A., Kerrigan, D., and Pease, M.E. (2001). Optic nerve transection in monkeys may result in secondary degeneration of retinal ganglion cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 975–982.
- Lin, I.-C., Wang, Y.-H., Wang, T.-J., Wang, I.-J., Shen, Y.-D., Chi, N.-F., and Chien, L.-N. (2014). Glaucoma, Alzheimer's Disease, and Parkinson's Disease: An 8-Year Population-Based Follow-Up Study. *PLoS ONE* 9, e108938.
- Lingor, P., Teusch, N., Schwarz, K., Mueller, R., Mack, H., Bähr, M., and Mueller, B.K. (2007). Inhibition of Rho kinase (ROCK) increases neurite outgrowth on chondroitin sulphate proteoglycan in vitro and axonal regeneration in the adult optic nerve in vivo. *J. Neurochem.* 103, 181–189.
- Liu, C.-C., Kanekiyo, T., Xu, H., and Bu, G. (2013). Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 106–118.
- Liu, D., Zhang, L., Li, Z., Zhang, X., Wu, Y., Yang, H., Min, B., Zhang, X., Ma, D., and Lu, Y. (2015). Thinner changes of the retinal nerve fiber layer in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *BMC Neurol.* 15, 14.
- Lobo, A., Launer, L.J., Fratiglioni, L., Andersen, K., Di Carlo, A., Breteler, M.M., Copeland, J.R., Dartigues, J.F., Jagger, C., Martinez-Lage, J., et al. (2000). Prevalence of dementia and major subtypes in Europe: A collaborative study of population-based cohorts. Neurologic Diseases in the Elderly Research Group. *Neurology* 54, S4-9.
- London, A., Benhar, I., and Schwartz, M. (2013). The retina as a window to the brain - from eye research to CNS disorders. *Nat. Rev. Neurol.* 9, 44–53.
- Lu, Y., Li, Z., Zhang, X., Ming, B., Jia, J., Wang, R., and Ma, D. (2010). Retinal nerve fiber layer structure abnormalities in early Alzheimer's disease: Evidence in optical coherence tomography. *Neurosci. Lett.* 480, 69–72.
- Mandel, S.A., Morelli, M., Halperin, I., and Korczyn, A.D. (2010). Biomarkers for prediction and targeted prevention of Alzheimer's and Parkinson's diseases: evaluation of drug clinical efficacy. *EPMA J.* 1, 273–292.
- Marziani, E., Pomati, S., Ramolfo, P., Cigada, M., Giani, A., Mariani, C., and Staurengi, G. (2013). Evaluation of Retinal Nerve Fiber Layer and Ganglion Cell Layer Thickness in Alzheimer's Disease Using Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 54, 5953–5958.
- Matthews, F.E., Arthur, A., Barnes, L.E., Bond, J., Jagger, C., Robinson, L., Brayne, C., Function, M.R.C.C., Collaboration, A., and others (2013). A two-decade comparison of prevalence of dementia in individuals aged 65 years and older from three geographical areas of England: results of the Cognitive Function and Ageing Study I and II. *The Lancet* 382, 1405–1412.

Matthews, F.E., Stephan, B.C.M., Robinson, L., Jagger, C., Barnes, L.E., Arthur, A., Brayne, C., Comas-Herrera, A., Wittenberg, R., Denning, T., et al. (2016). A two decade dementia incidence comparison from the Cognitive Function and Ageing Studies I and II. *Nat. Commun.* 7, 11398.

Mattsson, N., Brax, D., and Zetterberg, H. (2010). To Know or Not to Know: Ethical Issues Related to Early Diagnosis of Alzheimer's Disease. *Int. J. Alzheimer's Dis.* 2010, e841941.

McKeith, I., O'Brien, J., Walker, Z., Tatsch, K., Booi, J., Darcourt, J., Padovani, A., Giubini, R., Bonuccelli, U., Volterrani, D., et al. (2007). Sensitivity and specificity of dopamine transporter imaging with 123I-FP-CIT SPECT in dementia with Lewy bodies: a phase III, multicentre study. *Lancet Neurol.* 6, 305–313.

McKhann, G., Drachman, D., Folstein, M., Katzman, R., Price, D., and Stadlan, E.M. (1984). 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, 939–939.

McKhann, G.M., Knopman, D.S., Chertkow, H., Hyman, B.T., Jack, C.R., Kawas, C.H., Klunk, W.E., Koroshetz, W.J., Manly, J.J., Mayeux, R., et al. (2011). 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.* 7, 263–269.

MetLife Mature Market Institute, (Prénom), and LifePlans, Inc. (2006). The MetLife study of Alzheimer's Disease: the Caregiving Experience. (US).

Moreno-Ramos, T., Benito-León, J., Villarejo, A., and Bermejo-Pareja, F. (2013). Retinal nerve fiber layer thinning in dementia associated with Parkinson's disease, dementia with Lewy bodies, and Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* 34, 659–664.

Mura, T., Dartigues, J.-F., and Berr, C. (2010). How many dementia cases in France and Europe? Alternative projections and scenarios 2010-2050: Future numbers of dementia cases. *Eur. J. Neurol.* 17, 252–259.

Murai, H., Suzuki, Y., Kiyosawa, M., Tokumaru, A.M., Ishii, K., and Mochizuki, M. (2013). Positive correlation between the degree of visual field defect and optic radiation damage in glaucoma patients. *Jpn. J. Ophthalmol.* 57, 257–262.

Murphy, M.C., Conner, I.P., Teng, C.Y., Lawrence, J.D., Safiullah, Z., Wang, B., Bilonick, R.A., Kim, S.-G., Wollstein, G., Schuman, J.S., et al. (2016). Retinal Structures and Visual Cortex Activity are Impaired Prior to Clinical Vision Loss in Glaucoma. *Sci. Rep.* 6, 31464.

Narayanan, D., Cheng, H., Bonem, K.N., Saenz, R., Tang, R.A., and Frishman, L.J. (2014). Tracking changes over time in retinal nerve fiber layer and ganglion cell-inner plexiform layer thickness in multiple sclerosis. *Mult. Scler. J.* 20, 1331–1341.

Nelson, L., Gard, P., and Tabet, N. (2014). Hypertension and inflammation in Alzheimer's disease: close partners in disease development and progression! *J. Alzheimers Dis.* 41, 331–343.

- Nordberg, G., Wimo, A., Jönsson, L., Kåreholt, I., Sjölund, B.-M., Lagergren, M., and von Strauss, E. (2007). Time use and costs of institutionalised elderly persons with or without dementia: results from the Nordanstig cohort in the Kungsholmen Project—a population based study in Sweden. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 22, 639–648.
- Oberwahrenbrock, T., Weinhold, M., Mikolajczak, J., Zimmermann, H., Paul, F., Beckers, I., and Brandt, A.U. (2015). Reliability of Intra-Retinal Layer Thickness Estimates. *PLOS ONE* 10, e0137316.
- O’Brien, J.T., Erkinjuntti, T., Reisberg, B., Roman, G., Sawada, T., Pantoni, L., Bowler, J.V., Ballard, C., DeCarli, C., Gorelick, P.B., et al. (2003). Vascular cognitive impairment. *Lancet Neurol.* 2, 89–98.
- Ong, Y.-T., Hilal, S., Cheung, C.Y., Venketasubramanian, N., Niessen, W.J., Vrooman, H., Anuar, A.R., Chew, M., Chen, C., Wong, T.Y., et al. (2015). Retinal neurodegeneration on optical coherence tomography and cerebral atrophy. *Neurosci. Lett.* 584, 12–16.
- Ortman, J.M., Velkoff, V.A., Hogan, H., and others (2014). An aging nation: the older population in the United States (US: U.S. Department of Commerce, U.S. CENSUS Bureau).
- Ownby RL, Crocco E, Acevedo A, John V, and Loewenstein D (2006). Depression and risk for alzheimer disease: Systematic review, meta-analysis, and metaregression analysis. *Arch. Gen. Psychiatry* 63, 530–538.
- Paquet, C., Boissonnot, M., Roger, F., Dighiero, P., Gil, R., and Hugon, J. (2007). Abnormal retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *Neurosci. Lett.* 420, 97–99.
- Pasquier, F., Boulogne, A., Leys, D., and Fontaine, P. (2006). Diabetes mellitus and dementia. *Diabetes Metab.* 860, 393.
- Patel, N.B., Lim, M., Gajjar, A., Evans, K.B., and Harwerth, R.S. (2014). Age-Associated Changes in the Retinal Nerve Fiber Layer and Optic Nerve Head. *Investig. Ophthalmology Vis. Sci.* 55, 5134.
- Patton, N., Aslam, T., Macgillivray, T., Pattie, A., Deary, I.J., and Dhillon, B. (2005). Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: a rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. *J. Anat.* 206, 319–348.
- Philipps, V., Amieva, H., Andrieu, S., Dufouil, C., Berr, C., Dartigues, J.-F., Jacqmin-Gadda, H., and Proust-Lima, C. (2014). Normalized Mini-Mental State Examination for Assessing Cognitive Change in Population-Based Brain Aging Studies. *Neuroepidemiology* 43, 15–25.
- Price, B., Gurvit, H., Weintraub, S., Geula, C., Leimkuhler, E., and Mesulam, M. (1993). Neuropsychological patterns and language deficits in 20 consecutive cases of autopsy-confirmed alzheimer’s disease. *Arch. Neurol.* 50, 931–937.
- Prince, M., Ali, G.-C., Guerchet, M., Prina, A.M., Albanese, E., and Wu, Y.-T. (2016). Recent global trends in the prevalence and incidence of dementia, and survival with dementia. *Alzheimers Res. Ther.* 8.
- Prince, M.J., Wimo, A., Ali, G., Wu, Y., and Prina, M. (2015). World Alzheimer Report 2015. The Global Impact of Dementia. An Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends (London: Alzheimer’s Disease International).

- Proust-Lima, C., Dartigues, J.-F., and Jacqmin-Gadda, H. (2011). Misuse of the Linear Mixed Model When Evaluating Risk Factors of Cognitive Decline. *Am. J. Epidemiol.* 174, 1077–1088.
- Provenzano, F.A., Muraskin, J., Tosto, G., Narkhede, A., Wasserman, B.T., Griffith, E.Y., Guzman, V.A., Meier, I.B., Zimmerman, M.E., Brickman, A.M., et al. (2013). White Matter Hyperintensities and Cerebral Amyloidosis: Necessary and Sufficient for Clinical Expression of Alzheimer Disease? *JAMA Neurol.* 70, 455.
- Rebolleda, G., Diez-Alvarez, L., Casado, A., Sánchez-Sánchez, C., de Dompablo, E., González-López, J.J., and Muñoz-Negrete, F.J. (2015). OCT: New perspectives in neuro-ophthalmology. *Saudi J. Ophthalmol.* 29, 9–25.
- Ritchie, C., Smailagic, N., Noel-Storr, A.H., Takwoingi, Y., Flicker, L., Mason, S.E., and McShane, R. (2014). Plasma and cerebrospinal fluid amyloid beta for the diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). *Cochrane Database Syst. Rev.* 90.
- Rocca, W.A., Petersen, R.C., Knopman, D.S., Hebert, L.E., Evans, D.A., Hall, K.S., Gao, S., Unverzagt, F.W., Langa, K.M., Larson, E.B., et al. (2011). Trends in the incidence and prevalence of Alzheimer's disease, dementia, and cognitive impairment in the United States. *Alzheimers Dement.* 7, 80–93.
- Rolls, A., Shechter, R., London, A., Segev, Y., Jacob-Hirsch, J., Amariglio, N., Rechavi, G., and Schwartz, M. (2008). Two Faces of Chondroitin Sulfate Proteoglycan in Spinal Cord Repair: A Role in Microglia/Macrophage Activation. *PLoS Med.* 5.
- Rougier, M.-B., Korobelnik, J.-F., Malet, F., Schweitzer, C., Delyfer, M.-N., Dartigues, J.-F., Delcourt, C., and Helmer, C. (2015). Retinal nerve fibre layer thickness measured with SD-OCT in a population-based study of French elderly subjects: the Alienor study. *Acta Ophthalmol. (Copenh.)* 93, 539–545.
- Rowe, C.C., Ackerman, U., Browne, W., Mulligan, R., Pike, K.L., O'Keefe, G., Tochon-Danguy, H., Chan, G., Berlangieri, S.U., Jones, G., et al. (2008). Imaging of amyloid beta in Alzheimer's disease with 18F-BAY94-9172, a novel PET tracer: proof of mechanism. *Lancet Neurol.* 7, 129–135.
- Sabry, H.M., and Ibrahim, M.A. (2010). Optical Coherence Tomography of Retinal Nerve Fibre Layer in Multiple Sclerosis and its correlation with the disease evolution. *Egypt J Neurol Psychiat Neurosurg* 47, 21–27.
- Sachdev, P.S., Blacker, D., Blazer, D.G., Ganguli, M., Jeste, D.V., Paulsen, J.S., and Petersen, R.C. (2014). Classifying neurocognitive disorders: the DSM-5 approach. *Nat Rev Neurol* 10, 634–642.
- Sadun, A.A., and Bassi, C.J. (1990). Optic Nerve Damage in Alzheimer's Disease. *Ophthalmology* 97, 9–17.
- Salat, D.H., Tuch, D.S., van der Kouwe, A.J.W., Greve, D.N., Pappu, V., Lee, S.Y., Hevelone, N.D., Zaleta, A.K., Growdon, J.H., Corkin, S., et al. (2010). White matter pathology isolates the hippocampal formation in Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* 31, 244–256.

- Satizabal, C.L., Beiser, A.S., Chouraki, V., Chêne, G., Dufouil, C., and Seshadri, S. (2016). Incidence of Dementia over Three Decades in the Framingham Heart Study. *N. Engl. J. Med.* 374, 523–532.
- Savini, G. (2005). Correlation between retinal nerve fibre layer thickness and optic nerve head size: an optical coherence tomography study. *Br. J. Ophthalmol.* 89, 489–492.
- Scheel, M., Finke, C., Oberwahrenbrock, T., Freing, A., Pech, L.-M., Schlichting, J., Sömmer, C., Wuerfel, J., Paul, F., and Brandt, A.U. (2014). Retinal nerve fibre layer thickness correlates with brain white matter damage in multiple sclerosis: A combined optical coherence tomography and diffusion tensor imaging study. *Mult. Scler. J.* 20, 1904–1907.
- Schneider, J.A., Arvanitakis, Z., Leurgans, S.E., and Bennett, D.A. (2009). The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann. Neurol.* 66, 200–208.
- Schrijvers, E.M.C., Verhaaren, B.F.J., Koudstaal, P.J., Hofman, A., Ikram, M.A., and Breteler, M.M.B. (2012). Is dementia incidence declining? Trends in dementia incidence since 1990 in the Rotterdam Study. *Neurology* 78, 1456–1463.
- Serbecic, N., Beutelspacher, S.C., Aboul-Enein, F.C., Kircher, K., Reitner, A., and Schmidt-Erfurth, U. (2011). Reproducibility of high-resolution optical coherence tomography measurements of the nerve fibre layer with the new Heidelberg Spectralis optical coherence tomography. *Br. J. Ophthalmol.* 95, 804–810.
- Sharp, E.S., and Gatz, M. (2011). Relationship Between Education and Dementia: An Updated Systematic Review. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 25, 289–304.
- Siger, M., Dziągielewski, K., Jasek, L., Bieniek, M., Nicpan, A., Nawrocki, J., and Selmaj, K. (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. Neurol.* 255, 1555–1560.
- Small, B., Fratiglioni, L., Viitanen, M., Winblad, B., and Bäckman, L. (2000). The course of cognitive impairment in preclinical alzheimer disease: Three- and 6-year follow-up of a population-based sample. *Arch. Neurol.* 57, 839–844.
- Song, S.-K., Sun, S.-W., Ramsbottom, M.J., Chang, C., Russell, J., and Cross, A.H. (2002). Dysmyelination Revealed through MRI as Increased Radial (but Unchanged Axial) Diffusion of Water. *NeuroImage* 17, 1429–1436.
- Sperling, R.A., Aisen, P.S., Beckett, L.A., Bennett, D.A., Craft, S., Fagan, A.M., Iwatsubo, T., Jack, C.R., Kaye, J., Montine, T.J., et al. (2011). 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.* 7, 280–292.
- Stebbins, G.T., and Murphy, C.M. (2009). Diffusion tensor imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Behav. Neurol.* 21, 39–49.
- Streilein, J.W. (2003). Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature. *Nat. Rev. Immunol.* 3, 879–889.
- Su, R., Ekberg, P., Leitner, M., and Mattsson, L. (2014). Accurate and automated image segmentation of 3D optical coherence tomography data suffering from low signal-to-noise levels. *J. Opt. Soc. Am. A* 31, 2551.

Sung, K.R., Wollstein, G., Bilonick, R.A., Townsend, K.A., Ishikawa, H., Kagemann, L., Noecker, R.J., Fujimoto, J.G., and Schuman, J.S. (2009). Effects of Age on Optical Coherence Tomography Measurements of Healthy Retinal Nerve Fiber Layer, Macula, and Optic Nerve Head. *Ophthalmology* 116, 1119–1124.

Swanson, E.A., Izatt, J.A., Lin, C.P., Fujimoto, J.G., Schuman, J.S., Hee, M.R., Huang, D., and Puliafito, C.A. (1993). In vivo retinal imaging by optical coherence tomography. *Opt. Lett.* 18, 1864–1866.

Tabatabaei-Jafari, H., Shaw, M.E., and Cherbuin, N. (2015). Cerebral atrophy in mild cognitive impairment: A systematic review with meta-analysis. *Alzheimers Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* 1, 487–504.

Takano, T., Han, X., Deane, R., Zlokovic, B., and Nedergaard, M. (2007). Two-photon imaging of astrocytic Ca²⁺ signaling and the microvasculature in experimental mice models of Alzheimer's disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1097, 40–50.

Tamura, H., Kawakami, H., Kanamoto, T., Kato, T., Yokoyama, T., Sasaki, K., Izumi, Y., Matsumoto, M., and Mishima, H.K. (2006). High frequency of open-angle glaucoma in Japanese patients with Alzheimer's disease. *J. Neurol. Sci.* 246, 79–83.

Tanzi, R.E. (2012). The Genetics of Alzheimer Disease. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 2, 1–10.

Thomson, K.L., Yeo, J.M., Waddell, B., Cameron, J.R., and Pal, S. (2015). A systematic review and meta-analysis of retinal nerve fiber layer change in dementia, using optical coherence tomography. *Alzheimers Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* 1, 136–143.

de la Torre, J.C. (2004). Is Alzheimer's disease a neurodegenerative or a vascular disorder? Data, dogma, and dialectics. *Lancet Neurol.* 3, 184–190.

Tsai, C., Ritch, R., Schwartz, B., and et al (1991). Optic nerve head and nerve fiber layer in Alzheimer's disease. *Arch. Ophthalmol.* 109, 199–204.

United Nations (2013). World Population Ageing 2013 (United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division).

Villemagne, V.L., Burnham, S., Bourgeat, P., Brown, B., Ellis, K.A., Salvado, O., Szoek, C., Macaulay, S.L., Martins, R., Maruff, P., et al. (2013). Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: a prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 12, 357–367.

Wang, H.-X., Xu, W., and Pei, J.-J. (2012). Leisure activities, cognition and dementia. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* 1822, 482–491.

Wang, M., Zhu, Y., Shi, Z., Li, C., and Shen, Y. (2015). Meta-analysis of the relationship of peripheral retinal nerve fiber layer thickness to Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Shanghai Arch. Psychiatry* 27, 263.

Watanabe, K., Nishimura, Y., Nomoto, T., Umemoto, N., Zhang, Z., Zhang, B., Kuroyanagi, J., Shimada, Y., Shintou, T., Okano, M., et al. (2012). In vivo assessment of the permeability of the blood-brain barrier and blood-retinal barrier to fluorescent indoline derivatives in zebrafish. *BMC Neurosci.* 13, 101–101.

- Williams, M.A., McGowan, A.J., Cardwell, C.R., Cheung, C.Y., Craig, D., Passmore, P., Silvestri, G., Maxwell, A.P., and McKay, G.J. (2015). Retinal microvascular network attenuation in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement. Diagn. Assess. Dis. Monit.* 1, 229–235.
- Wilson, R.S., Segawa, E., Boyle, P.A., Anagnos, S.E., Hizel, L.P., and Bennett, D.A. (2012). The natural history of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Psychol. Aging* 27, 1008–1017.
- Winblad, B., Amouyel, P., Andrieu, S., Ballard, C., Brayne, C., Brodaty, H., Cedazo-Minguez, A., Dubois, B., Edvardsson, D., Feldman, H., et al. (2016). Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol.* 15, 455–532.
- Wong, T.Y., Klein, R., Sharrett, A.R., Couper, D.J., Klein, B.E.K., Liao, D.-P., Hubbard, L.D., Mosley, T.H., and ARIC Investigators. Atherosclerosis Risk in Communities Study (2002a). Cerebral white matter lesions, retinopathy, and incident clinical stroke. *JAMA* 288, 67–74.
- Wong, T.Y., Klein, R., Sharrett, A.R., Nieto, F.J., Boland, L.L., Couper, D.J., Mosley, T.H., Klein, B.E.K., Hubbard, L.D., and Szklo, M. (2002b). Retinal microvascular abnormalities and cognitive impairment in middle-aged persons: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Stroke J. Cereb. Circ.* 33, 1487–1492.
- Wong, T.Y., Mosley, T.H., Klein, R., Klein, B.E.K., Sharrett, A.R., Couper, D.J., Hubbard, L.D., and Atherosclerosis Risk in Communities Study (2003). Retinal microvascular changes and MRI signs of cerebral atrophy in healthy, middle-aged people. *Neurology* 61, 806–811.
- World Health Organization, and Alzheimer's Disease International (2012). *Dementia: a public health priority* (Geneva: World Health Organization & Alzheimer's Disease International).
- Wostyn, P., Audenaert, K., and De Deyn, P. (2009). More advanced Alzheimer's disease may be associated with a decrease in cerebrospinal fluid pressure. *Cerebrospinal Fluid Res.* 6, 14.
- Yaqoob, Z., Wu, J., and Yang, C. (2005). Spectral domain optical coherence tomography: a better OCT imaging strategy. *BioTechniques* 39, S6–S13.
- Yeo, J.M., Lim, X., Khan, Z., and Pal, S. (2013). Systematic review of the diagnostic utility of SPECT imaging in dementia. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 263, 539–552.
- Yoles, E., and Schwartz, M. (1998). Degeneration of spared axons following partial white matter lesion: implications for optic nerve neuropathies. *Exp. Neurol.* 153, 1–7.
- Zangwill, L.M., Williams, J., Berry, C.C., Knauer, S., and Weinreb, R.N. (2000). A comparison of optical coherence tomography and retinal nerve fiber layer photography for detection of nerve fiber layer damage in glaucoma. *Ophthalmology* 107, 1309–1315.
- Zhang, Y., Wey, H.-Y., Nateras, O.S.E., Peng, Q., De La Garza, B.H., and Duong, T.Q. (2011). Anatomical, BOLD, blood-flow MRI of non-human primate (baboon) retina. *Magn. Reson. Med. Off. J. Soc. Magn. Reson. Med. Soc. Magn. Reson. Med.* 66, 546–554.
- Zhong, G., Wang, Y., Zhang, Y., Guo, J.J., and Zhao, Y. (2015). Smoking Is Associated with an Increased Risk of Dementia: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies with Investigation of Potential Effect Modifiers. *PLOS ONE* 10, e0118333.

Zhuang, L., Sachdev, P.S., Trollor, J.N., Kochan, N.A., Reppermund, S., Brodaty, H., and Wen, W. (2012). Microstructural white matter changes in cognitively normal individuals at risk of amnesic MCI. *Neurology* 79, 748–754.