



Universidad de Valladolid



MÁSTER EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA VISIÓN

TRABAJO FIN DE MÁSTER:

**INFLUENCIA DE LA NO-MIDRIASIS EN LA
CALIDAD DE IMAGEN DE LA TOMOGRAFÍA DE
COHERENCIA ÓPTICA EN PACIENTES CON
RETINOSIS PIGMENTARIA**

Presentado por:
Santiago Mejía Freire

Dirigido por:
Dr. Salvador Pastor Idoate

Fecha:
13 de julio de 2021

AGRADECIMIENTOS

*A mi familia y seres queridos por apoyarme en la distancia.
A mi tutor, compañeros residentes y personal del IOBA,
por la ayuda y enseñanzas impartidas.*

ÍNDICE

ABREVIATURAS..... 1

RESUMEN 2

ABSTRACT 3

INTRODUCCIÓN 4

HIPÓTESIS..... 7

OBJETIVOS..... 7

MATERIAL Y MÉTODOS 7

RESULTADOS11

DISCUSIÓN17

CONCLUSIONES20

BIBLIOGRAFÍA21

ANEXOS.....23

ABREVIATURAS

AVMC: Agudeza visual Mejor Corregida.

CV: Campo Visual

DGP: Plexo Capilar Profundo.

DHR: Distrofias Hereditarias de la Retina

DM: Desviación media de campo visual

DMAE: Degeneración Macular Asociada a la Edad

DP: Densidad de Perfusión

DS: Desviación Estándar

DV: Densidad de Vasos

EPR: Epitelio Pigmentario de la Retina

IOBA: Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada

IS/OS: Inner Segment / Outer Segment (zona elipsoide)

OCT: Tomografía de Coherencia Óptica.

OCT-A: Angiografía por Tomografía de Coherencia Óptica

RP: Retinosis Pigmentaria

SCP: Plexo Capilar Superficial

VAR: Visual Acuity Range

ZAF: Zona Avascular Foveolar

RESUMEN

OBJETIVO: el estudio tiene como objetivo determinar si la no-midriasis farmacológica influye en la obtención e interpretación de los parámetros de imágenes de la tomografía de coherencia óptica (OCT) y la angiografía OCT (OCT-A) y analizar la correlación de estos valores con la función visual en pacientes con retinosis pigmentaria (RP).

MÉTODOS: es un estudio prospectivo observacional, en el que se incluyó a 79 pacientes afectados de RP. Se excluyeron pacientes con opacidades corneales, presencia de nistagmo o cataratas densas que impidan realizar la captación de la imagen de OCT. Las imágenes se realizaron sin someter los ojos a midriasis farmacológica. Se realizó una exploración oftalmológica completa, y se clasificó a cada paciente según la severidad de la enfermedad. El OCT que se utilizó para la toma de imágenes fue el PLEX Elite 9000. Las principales mediciones fueron densidad de vasos (DV), densidad de perfusión (DP), zona vascular foveal (ZAF), intensidad de señal, espesor macular central, perifoveal y parafoveal, presencia y tipos de artefactos hallados. Treinta individuos sanos fueron utilizados como controles.

RESULTADOS: Se analizaron 79 ojos de 76 pacientes (48 hombres; 28 mujeres) y 60 ojos de 30 individuos como controles. La edad media del grupo de pacientes fue de 51.01 ± 13.57 años. La agudeza visual mejor corregida (AVMC) media fue de 43.03 ± 30.43 (VAR). Hay una reducción estadísticamente significativa de los parámetros de OCT-A en el grupo pacientes (DV completa 10.83 ± 3.50 mm/mm², DP completa $25.79 \pm 8.98\%$) y un aumento de la ZAF (0.31 ± 0.23 mm², respecto al grupo control (DV: 16.81 ± 1.61 mm/mm², DP: $42.11 \pm 4.25\%$; ZAF: 0.20 ± 0.09 mm²). Se calculó el ZAF manualmente en 21 de las 60 OCT-A de los controles, y en 29 de las 76 OCT-A en el grupo de pacientes. La intensidad de señal fue significativamente menor en el grupo de pacientes ($7.86/10 \pm 1.79$), al igual que las imágenes de OCT estructural (espesor macular central: 223.82 ± 63.48 μm; espesor capa células ganglionares: 51.74 ± 22.27 y espesor coroideo: 192.09 ± 74.03 μm) comparado con el grupo control ($8.68/10 \pm 1.03$; 266.70 ± 17.18 μm, 84.92 ± 5.39 μm; 294.07 ± 42.15 μm, (p < 0.001)). Los artefactos se encontraron en 76 de las 79 imágenes analizadas (96%) del grupo de pacientes, siendo la proyección el artefacto más frecuente (66/79). Hay una correlación significativa entre la AVMC y DV (r= 0.26; p= 0.02), y perfusión interna (r=0.28; p = 0.013), espesor macular central (r = 0.25; p = 0.028) e interno y del espesor coroideo (r= 0.43; p< 0.001) y una correlación negativa de la ZAF (r= - 0.32; p=0.009).

CONCLUSION: La no-midriasis no es un factor limitante para una correcta obtención e interpretación de imágenes generadas por OCT y OCT-A en pacientes con un estadio leve-moderado de RP, considerando que en estadios severos podría ser necesario la dilatación pupilar para mejorar la calidad de imagen y reducir los artefactos.

Palabras Clave: artefactos, no-midriasis, retinosis pigmentaria, tomografía de coherencia óptica.

ABSTRACT

OBJECTIVE: To determine the effect of no pharmacological mydriasis when obtaining and interpreting the image parameters of optical coherence tomography (OCT) and OCT angiography (OCT-A) and analyze the correlation of these values with visual function in patients with retinitis pigmentosa (RP).

METHODS: In this prospective observational study, 79 patients suffering from RP were enrolled. Patients with corneal opacities, presence of nystagmus, or dense cataracts preventing high-quality OCT imaging were excluded. The images were obtained without pharmacological mydriasis. A complete ophthalmological examination was performed, and each patient was classified according to the severity of the disease. OCT used was Zeiss PLEX Elite 9000. The main measurements were vessel density (VD), perfusion density (PD), foveal vascular zone (FAZ), signal intensity, central, perifoveal and parafoveal macular thickness, presence and types of artifacts found. Thirty healthy individuals were used as controls.

RESULTS: Seventy-nine eyes of seventy-six patients (48 men; 28 women) and 60 eyes of 30 individuals as controls were analyzed. Mean age in patient's group was 51.01 ± 13.57 years. Average BCVA (VAR) was 43.03 ± 30.43 . There is a statistically significant reduction in OCT-A parameters in the patient group (complete VD 10.83 ± 3.50 mm/mm²; complete PD 25.79 ± 8.98 %) compared to the control group (16.81 ± 1.61 mm/mm²; $42.11\% \pm 4.25\%$) and an increase in FAZ (0.31 ± 0.23 mm²) compared to the control group (0.20 ± 0.09 mm²). ZAF was calculated manually in 21 of 60 OCT-A images in control group, and in 29 of 76 images in the patient group. Signal Intensity was significantly lower in patients ($7.86/10 \pm 1.79$) than control group ($8.68/10 \pm 1.03$, $p=0.002$); and structural OCT measurements were significantly lower in patients (Central macular thickness: 223.82 ± 63.48 μm; ganglion cell layer thickness: 51.74 ± 22.27 μm and choroidal thickness 192.09 ± 74.03 μm) compared to the control group (266.70 ± 17.18 μm; 84.92 ± 5.39 μm; 294.07 ± 42.15 μm, $p < 0.001$) Artifacts were found in 76 of the 79 images analyzed (96%) of the group of patients, projection was the most frequent artifact (66/79).

There is a significant correlation between BVCA and vessel internal density ($r = 0.26$; $p = 0.02$) and perfusion ($r = 0.28$; $p = 0.013$), as well as central ($r = 0.25$; $p = 0.028$) and internal macular thickness, choroidal thickness ($r = 0.43$; $p < 0.001$) and negative correlation of the FAZ ($r = -0.32$; $p = 0.009$)

CONCLUSIONS: No mydriasis is not a limiting factor for a correct acquisition and interpretation of images generated by OCT and OCT-A in patients with mild-moderate stage of RP, considering pupillary dilation in severe stages to obtain better image quality and reduce artifacts.

Keywords: Artifacts, no mydriasis, optical coherency tomography, retinitis pigmentosa.

INTRODUCCIÓN

La Retinosis Pigmentaria (RP), es una distrofia hereditaria de la retina (DHR) en la que se produce una degeneración generalmente progresiva, bilateral, simétrica e irreversible de los fotorreceptores retinianos (1). Aunque suele comenzar por los bastones, en la retina externa, se alteran también los conos y el epitelio pigmentario de la retina (EPR), y en fases avanzadas, acaban alterándose las capas más internas (2) Como consecuencia, la RP produce una disminución importante y progresiva de la función visual, siendo los síntomas iniciales más frecuentes la nictalopía (o dificultad para ver en la oscuridad) y la pérdida del campo visual periférico, manteniendo la visión central relativamente conservada hasta fases tardías de la enfermedad (3).

Es la DHR más frecuente, con una prevalencia de 1 por cada 3.000 a 5.000 habitantes, afectando en nuestro medio a 27 de cada 100.000 personas (4). Se asocia con unas 3000 mutaciones en aproximadamente 70 genes identificados (5). Es una enfermedad que puede manifestarse *de novo* o con patrones de herencia distintos (autosómico dominante, recesivo, ligado al X recesivo) (6,7). Además, puede aparecer como una patología oftalmológica aislada o acompañarse de otros síntomas sistémicos, en el caso de la RP sindrómica.(1,7)

En la exploración oftalmológica los hallazgos más frecuentes son: en el fondo de ojo, la pigmentación retiniana “en espículas óseas” perivasculares, el adelgazamiento arteriolar y la atenuación vascular. Mediante técnicas de tomografía de coherencia óptica (OCT) puede observarse una disminución del espesor foveal, interrupciones de la capa de los segmentos externos de los fotorreceptores, y una reducción significativa del grosor coroideo (8–10).

En fases avanzadas puede producirse una gliosis papilar, una atrofia del epitelio pigmentario y alteraciones maculares como las membranas epirretinianas o el edema macular quístico (11,12) (ver gráfico # 1). Esta serie de cambios estructurales se correlacionan con las alteraciones funcionales que producen y con la pérdida progresiva de la función visual (12).

Estos cambios pueden monitorizarse mediante las imágenes que nos proporcionan la OCT y la OCT-Angiografía (OCT-A), que permiten visualizar de forma detallada la estructura y vascularización retinianas (12,13). Proporcionan información cualitativa y parámetros cuantitativos de las estructuras que conforman la retina y coroides, como son: la medición del espesor de las diferentes capas de las mismas, densidad de vasos (DV) y perfusión (DP), alteraciones de los plexos capilares superficiales (SCP) y profundos (DCP), o la zona avascular foveal (ZAF) facilitando el estudio y la valoración de la progresión de los pacientes (8,10) .

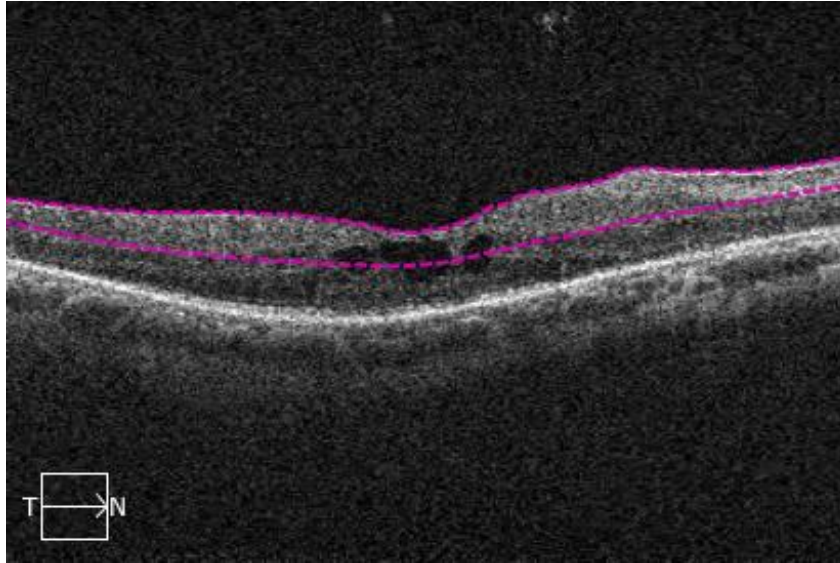


Gráfico # 1: Imagen B-scan macular de SS-OCT de paciente con RP del estudio. Se observa un edema macular quístico foveal, con adelgazamiento de la capa de fotorreceptores y coroides. Imágenes tomadas con Zeiss PLEX Elite 9000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, EE. UU).

Para poder interpretar correctamente las imágenes de OCT se debe asegurar que está información sea real y no producto de artefactos (14) que puedan llevar a un diagnóstico incorrecto o a errores en el análisis de la imagen (15). Se ha estudiado si el efecto de la midriasis es un potencial artefacto para la toma de imágenes, tanto en sujetos sanos (16) como en pacientes con Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) (17); por otra parte, se ha estudiado la correlación de los parámetros de la OCT y OCT-A, con la agudeza visual y las pruebas funcionales (como el campo visual); sin indagar en las potenciales dificultades para la toma de imagen (2,3,9). Se carece de estudios en los que analice la influencia de artefactos (entre ellos el tamaño pupilar), en la toma de OCT y OCT-A, en pacientes con RP.

Justificación

La RP es una enfermedad crónica y progresiva cuyo tratamiento más prometedor en la actualidad es la terapia génica. Para que este tratamiento se pueda desarrollar es fundamental entender la historia natural de la enfermedad, así como encontrar técnicas que permitan monitorizar la eficacia del mismo. Estas técnicas deben permitir el seguimiento funcional y estructural de la patología y la detección de complicaciones, en especial aquellas que sean potencialmente tratables como la aparición de cataratas o ciertas alteraciones del área macular.

Por otra parte, los pacientes con RP sufren una mayor tendencia al deslumbramiento, dificultades para la adaptación luz/oscuridad y una menor sensibilidad al contraste (21) síntomas muy molestos para el paciente y que empeoran bajo midriasis farmacológica, por lo que la midriasis puede ser un factor desalentador para que el paciente acuda a las revisiones programadas y cumpla su seguimiento.

En general, un paciente con RP tendrá una agudeza visual severamente deteriorada con dificultades para la fijación de la mirada, tanto cuantas más alteraciones existan en el área macular. Las OCT y OCT-A requieren para la toma de imágenes la colaboración del paciente y unas condiciones físicas mínimas, como una cierta transparencia de los medios oculares por lo que, si existe una opacidad del cristalino importante o grandes condensaciones vítreas, las imágenes aparecerán con artefactos. Por lo tanto, la toma de imágenes de OCT en pacientes con RP es técnicamente una tarea difícil que requiere un operador con experiencia, siendo además muy alta la probabilidad de obtener imágenes de baja calidad y artefactadas.

Sería de gran utilidad, conocer con más detalle qué parámetros son menos fiables y cuales se encuentran alterados con más frecuencia en estos pacientes, así como los artefactos más habituales, con el fin de mejorar la precisión diagnóstica y la interpretación clínica de las imágenes.

El presente trabajo pretende determinar y cuantificar la influencia de la no-midriasis en la toma de imágenes por OCT, descubrir en qué medida se ven alterados los parámetros objetivos y la calidad de las imágenes obtenidas permitiéndonos describir adecuadamente las alteraciones estructurales retinianas en los pacientes con RP.

HIPÓTESIS

La no-midriasis influye en la calidad de las imágenes de tomografía por coherencia óptica y de angiografía por tomografía de coherencia óptica en pacientes afectados de retinosis pigmentaria.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Determinar si la no-midriasis influye en la obtención e interpretación de imágenes de OCT y OCT-A en pacientes con Retinosis Pigmentaria.

Objetivos Específicos

- Describir los parámetros cuantitativos de las imágenes de OCT y OCT-A en pacientes con la enfermedad.

- Descubrir los tipos de artefactos que pueden aparecer en las imágenes de OCT-A.

- Correlacionar los parámetros con la agudeza visual, campo visual y severidad de la enfermedad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estrategia PICOT

Paciente (P): Pacientes afectados de retinosis pigmentaria.

Intervención (I): imágenes de OCT-A y OCT en ojos sin midriasis farmacológica

Comparación (C): Individuos sanos

Resultados/Outcomes (O): Análisis de la calidad de imagen. Parámetros cuantitativos de OCT-A y OCT. Tipos de artefactos en las imágenes. Correlación de resultados con exploración oftalmológica.

Tiempo (T): doce meses.

Características del estudio

Se trata de un estudio de investigación clínica, de tipo observacional, prospectivo y unicéntrico. Se ha llevado a cabo conforme a la legislación vigente, cumpliendo lo establecido por la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos (LOPD) y los principios de la declaración de Helsinki (1964). El proyecto ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Área de Salud Valladolid Este y por la Comisión de Investigación del IOBA (ver anexos).

Metodología del Estudio

Fueron incluidos 78 pacientes (79 ojos) con un diagnóstico de retinosis pigmentaria en sus diferentes estadios de la enfermedad y 30 pacientes (60 ojos) en calidad de controles sanos. En la siguiente tabla se incluyen los criterios de inclusión y exclusión:

Tabla # 1: Criterios de inclusión y exclusión del estudio.

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
<ul style="list-style-type: none"> - Pacientes diagnosticados con RP - Consentimiento Informado firmado - Individuos sanos sin presentar alteraciones oftalmológicas (controles) 	<ul style="list-style-type: none"> - Opacidades corneales - Presencia de nistagmo - Cataratas densas que impidan realizar la OCT - Individuos que no deseen participar en el estudio

Se realizó una exploración oftalmológica completa (agudeza visual mejor corregida (AVMC), biomicroscopía de polo anterior y posterior, y presión intraocular) a todos los participantes, se obtuvo la AVMC de ambos ojos por separado, mediante la escala "Visual Acuity Range" (VAR) utilizando los optotipos Chart 2 del "Early Treatment Diabetic Retinopathy Study" (ETDRS, Precision Vision).

Además, se realizó un campo visual de cada ojo a todos los pacientes, con la estrategia SITA estándar 24-2 mediante el perímetro automático "Humphrey Visual Field Analyser" (HFA, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA).

La severidad de la enfermedad, fue clasificada de acuerdo a los criterios de severidad publicados por Smith et al (2013) (22), los cuales se presentan a continuación:

Tabla # 2: Criterios de puntuación clínica de Severidad de la RP.

Score	Score Evaluación Clínica	Agudeza Visual Mejor Corregida (LogMAR)	Desviación media (dB)	Espesor retina externa a la fóvea (μm)
0	0	≤ 0.20	≤ -15	≥ 160
1	1	0.21 – 0.40	-15.1 a -20	160.1 – 130
2	2	0.41 – 0.60	-20.1 a -25	130.1 – 100
3	3	0.61 – 0.80	-25.1 a -30	100.1 – 70
4	4	> 0.80	> -30	< 70

Modificado de: Smith et al. (2013). Grading severity in retinitis pigmentosa using clinical assessment, visual acuity, perimetry and optical coherence tomography. *International ophthalmology*, 33(3), 237-244.

Para la obtención de las imágenes de OCT, se utilizó el OCT Zeiss PLEX Elite 9000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, EE. UU.) que tiene una velocidad de A-scanner dual de 100.000 scans/segundo con 6,3 micras de resolución axial y una profundidad de escaneo de 3 mm. Usa una longitud de onda de luz de 1040 nm, y un área de 6x6 milímetros de la angiografía y de 512x128 pixeles para las imágenes en cubo del área macular. Para el análisis de la OCT-A se utilizó el software AngioPlex™ incorporado en el dispositivo. Se evaluaron los siguientes parámetros:

Tabla # 3: Parámetros evaluados en la OCT-A y OCT.

OCT-A (6x6 mm)	OCT (512 x 128 px)
- Densidad de vasos ETDRS (central, interna, externa, completa)	- Espesor Macular ETDRS (espesor macular central, superior, inferior, temporal y nasal: interno y externo)
- Densidad de perfusión capilar ETDRS (central, interna, externa, completa)	- Espesor de la capa de células ganglionares
- ZAF automático y manual	- Espesor Coroideo (Análisis <i>En Face</i>)
- Alteración del Plexo capilar superficial y profundo	

OCT(A): Tomografía de Coherencia Óptica (Angiografía). ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ZAF: Zona Avascular Foveal.

La calidad de imagen fue analizada con el parámetro de intensidad de señal, y la presencia o no de artefactos, los mismos que se valoraron de acuerdo a las definiciones propuestas por Enders y colaboradores (13):

Tabla # 4: Definiciones de artefactos.

ARTEFACTO	DEFINICIÓN
Proyección	Estructuras vasculares de las capas superficiales son mostradas incorrectamente en las capas profundas
Enmascaramiento	Opacidades de medios que conllevan a pérdida de señal en las capas subyacentes que impiden su visualización
Segmentación	Errores en la segmentación (automática) que pueden llevar a imágenes de OCTA incorrectas.
Fuera del área a evaluar	Pérdida del enfoque del escaneo en ciertas áreas de la retina (p ej. tumores, miopía patológica).
Doblamiento Vascular	Producto del procesamiento de la imagen, los vasos se muestran dos veces y muy próximos el uno del otro en una misma capa
Movimiento	Como resultado de los movimientos oculares, se observan líneas blancas horizontales muy finas, dando una interrupción ilusoria o desplazamiento de los vasos
Parpadeo	Líneas negras verticales y horizontales en cada capa, debido al parpadeo.
Defecto en banda	Franjas horizontales adyacentes de diferente brillo
Estiramiento	Franjas cortas de diferente brillo en los bordes de las imágenes.

Modificado de: Enders C, et al. Quantity and quality of image artifacts in optical coherence tomography angiography. PLoS One. 2019;14(1):1–9.

Análisis Estadístico:

Se codificaron y analizaron los datos con el Software IBM SPSS Statistics Versión 20 (IBM Corp, Armonk NY, USA). La distribución de las variables se analizó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. En el análisis descriptivo, las variables cuantitativas continuas se presentaron con la media y la desviación estándar (DS). Las variables cualitativas se describieron mediante porcentaje y frecuencia absoluta.

En la estadística inferencial se utilizó la prueba de la t de Student para muestras independientes en las variables cuantitativas de distribución normal y la prueba U de Mann Whitney para las de distribución diferente a la normal y las variables ordinales. Las variables cualitativas se compararon mediante la prueba χ^2 . Para determinar la relación de las variables cuantitativas se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r) (variables dentro de la normalidad) y el coeficiente de correlación de Spearman (variables no normales).

Para los contrastes de hipótesis se fijó α en un 5% (intervalo de confianza del 95%) por lo que solo valores de $p < 0,05$ se consideraron como estadísticamente significativos.

RESULTADOS

En total, 106 sujetos (76 pacientes y 30 controles) cumplieron los criterios de inclusión, formando parte del estudio. En trece de los pacientes la mala calidad de las imágenes impidió la recogida de los parámetros cuantitativos de la OCT y OCT-A, aunque si se tuvieron en cuenta para el análisis cualitativo.

Las características sociodemográficas y basales de los mismos se presentan en la tabla #5.

Tabla # 5: Características de la muestra.

	Pacientes	Controles	Valor p * IC (95%)
n (Hombres/Mujeres)	76(48/28)	30(12/18)	0.04[‡]
Ojos (OD/OI)	79(44/35)	60(30/30)	----
Edad en años (media ± DS)	51.01(±13.57)	34.27(± 9.75)	0.059
AVMC (VAR) (media ± DS)	43.03(± 30.43)	100 (± 0.00)	< 0.001
Campo Visual (DM) (media ± DS)	-26.97 (± 7.22)	-0.05 (± 1.78)	< 0.001**
Severidad RP (media ± DS)	7.27/16 ± 2.46	----	-----
Puntuaciones (n)			
Leve (0-5)	14	----	-----
Moderado (6-10)	59		
Severo (11-16)	6		

n: número de individuos, OD: ojo derecho, OI: ojo izquierdo, AVMC: agudeza visual mejor corregida.

VAR: Visual Acuity Range. DM: desviación media. * prueba T- para muestras independientes.

** Prueba u Mann Whitney. ‡ Prueba de Chi-cuadrado. --- no se aplica test estadístico.

En **negrita** se encuentran marcados los valores p estadísticamente significativos

En la tabla # 6 se describen los diferentes parámetros medidos en la OCT y en la OCT-A, mediante su media y DS.

Tabla # 6: Comparación de parámetros medidos en OCT-A y OCT en el grupo pacientes y controles.

Parámetro	Pacientes (media ± DS)	Controles (media ± DS)	Valor p * IC (95%)
Densidad de vasos (mm/mm²)			
Central	5.60 (± 4.73)	8.86 (± 3.09)	< 0.001
Interna	11.10 (±4.53)	16.55(± 2.30)	< 0.001
Externa	10.96 (± 3.46)	17.17 (± 1.45)	< 0.001
Completa	10.83 (± 3.50)	16.81 (± 1.61)	< 0.001

Densidad de perfusión (%)			
Central	12.86 (± 11.48)	19.99 (± 7.41)	< 0.001
Interna	26.50 (± 11.48)	40.26 (± 5.85)	< 0.001
Externa	26.11 (± 9.01)	43.50 (± 3.92)	< 0.001
Completa	25.79 (± 8.98)	42.11 (± 4.25)	< 0.001
Zona Avascular Foveal (automática)			
Área ZAF (mm²)	0.31 (± 0.23)	0.20 (± 0.09)	0.001
Zona Avascular Foveal (corrección manual)			
Área ZAF (mm²)	0.36 (± 0.27)	0.22 (± 0.11)	< 0.001
Intensidad de Señal	7.86 (± 1.79)	8.68 (± 1.03)	0.002
Espesor macular (µm)			
Central	223.82 (± 63.48)	266.70(± 17.18)	< 0.001
Superior Interno	268.92 (± 48.36)	330.17 (±17.46)	< 0.001
Temporal Interno	257 (± 38.76)	317.48 (±14.62)	< 0.001
Inferior Interno	271.53(± 46.39)	327.75 (± 13.22)	< 0.001
Nasal Interno	280.15(± 52.30)	333.33 (± 13.60)	< 0.001
Superior externo	235.30(± 44.44)	287.95 (± 12.82)	< 0.001
Temporal externo	213.62(± 35.55)	269.90 (± 14.17)	< 0.001
Inferior externo	233.66(± 48.33)	274.78 (± 12.27)	< 0.001
Nasal externo	261.67(± 42.38)	306.35 (± 13.14)	< 0.001
Espesor Capa Células ganglionares	51.74(± 22.27)	84.92(+/-5.39)	< 0.001
Espesor coroideo	192.09 (± 74.03)	294.07 (+/- 42.15)	< 0.001

* prueba T student para muestras independientes, ZAF: Zona avascular foveal, En **negrita** se encuentran marcados los valores p estadísticamente significativos

Se calculó el ZAF manualmente en 21 de las 60 OCT-A de los controles, en y 29 de las 76 OCT-A en el grupo de pacientes, y en diez OCT-A de estos últimos no se pudo determinar el ZAF debido a que las imágenes se encontraban de mala calidad.

Las alteraciones en SCP y DCP se encontraron con mayor frecuencia en el grupo de pacientes en comparación con en el grupo control, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$).

Se encontraron artefactos en 47 de los 60 (78%) de los ojos de los individuos del grupo control y en 76 de 79 (96%) del grupo de pacientes. (ver gráfico #2)

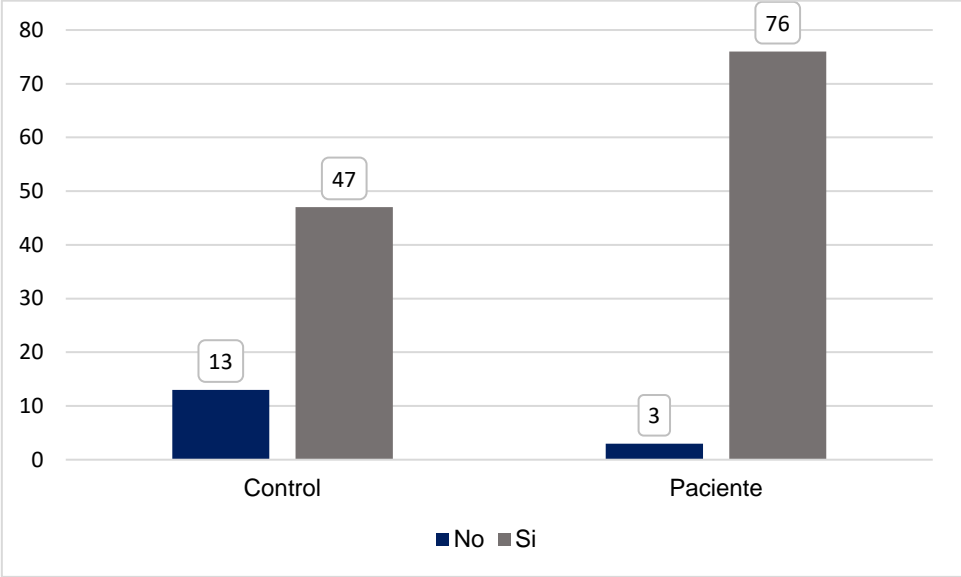


Gráfico # 2: Presencia de artefactos en grupo de pacientes y control.

En cuanto a los tipos de artefactos, la proyección fue el artefacto más frecuente en pacientes (66; 83,5%) y en el grupo control (39; 65%) seguido en el grupo de pacientes el enmascaramiento (21; 26.6%) y el defecto en banda (18; 22.8%). Entre 1 a 2 tipos de artefactos se encontraron en 59 imágenes, y de 3 a 4 tipos de artefactos en 17 imágenes del grupo de pacientes (Gráfico # 3-5). Las imágenes de pacientes con 4 artefactos no se les pudo medir los parámetros cuantitativos de OCT y OCT-A debido a la mala calidad de las mismas.

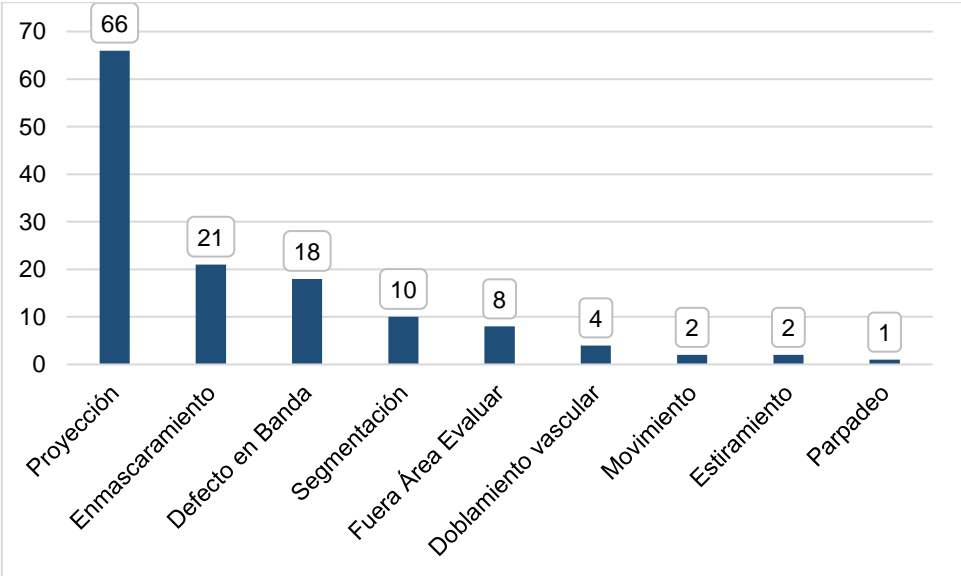


Gráfico # 3: Frecuencia de los tipos de artefactos en el grupo pacientes.

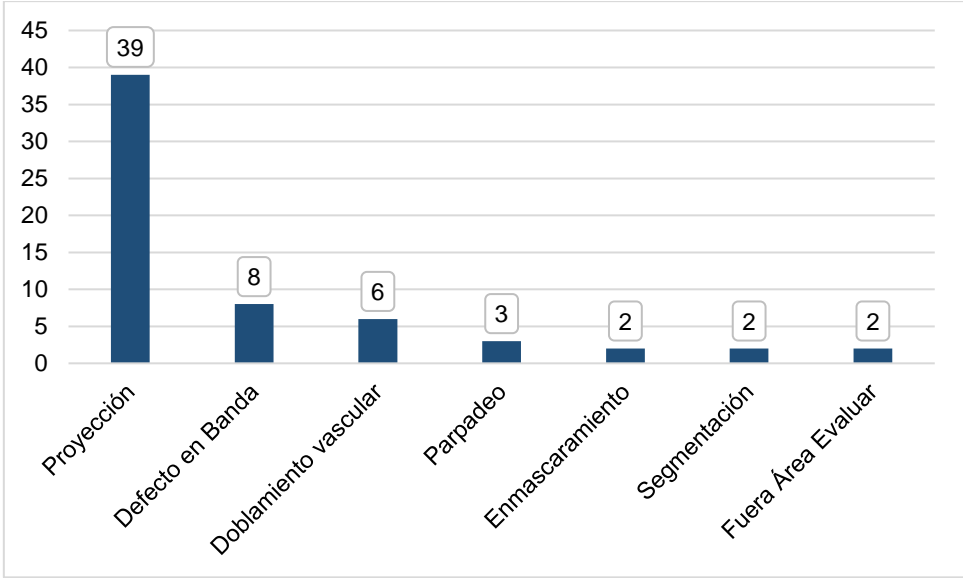


Gráfico # 4: Frecuencia de los tipos de artefactos en el grupo control.

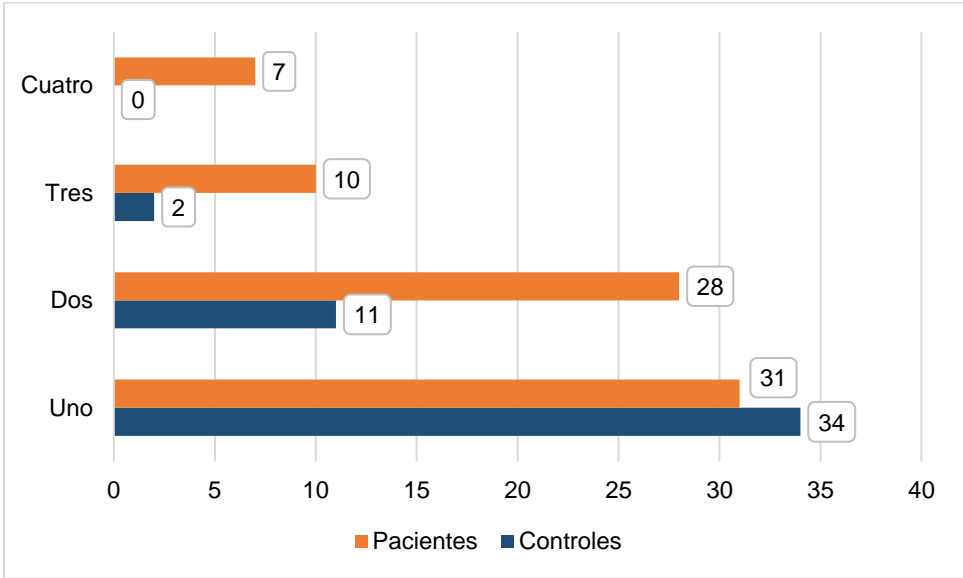


Gráfico # 5: Número de artefactos en el grupo pacientes y en el grupo control.

Al relacionar la severidad de la enfermedad con el número de artefactos, 51 imágenes con 1 a 2 artefactos tuvieron una escala leve a moderada de severidad. 14 imágenes con 3 a 4 artefactos se los clasificó como severos. Estos hallazgos son estadísticamente significativos ($p < 0.001$, prueba U de Mann-Whitney).

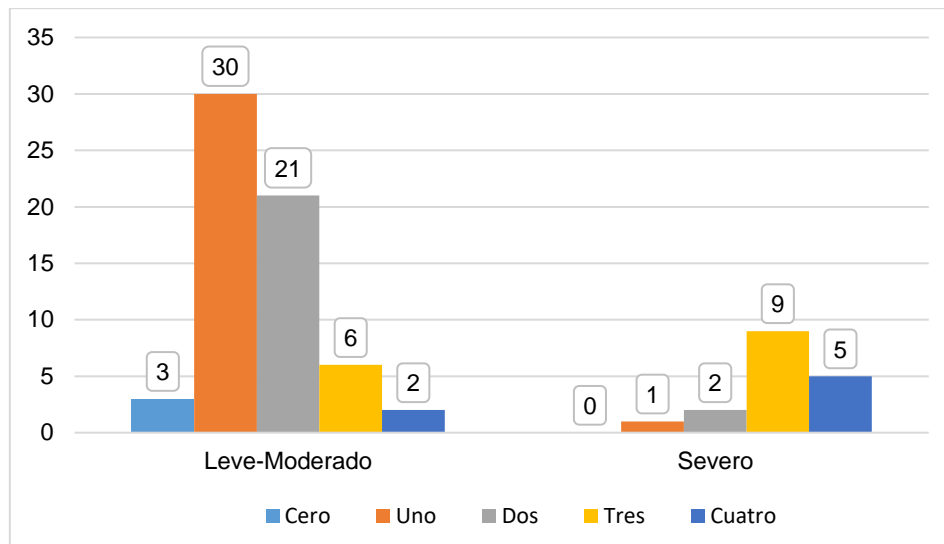


Gráfico # 6: Número de artefactos según el grado de severidad de la enfermedad.

Hay una correlación significativa de la AVMC y la densidad de vasos ($r= 0.26$; $p =0.02$), la densidad de perfusión ($r= 0.28$; $p = 0.013$) de la parte interna, espesor macular central ($r= 0.25$, $p= 0.028$) y cuadrantes internos, y el espesor coroideo ($r= 0.43$; $p <0.001$); así como una correlación negativa de la ZAF ($r = -0.32$; $p = 0,009$).

La severidad de la enfermedad está correlacionada de manera significativa con el espesor macular central ($r=-0.29$ $p=0.01$), cuadrante superior ($r = - 0.23$; $p = 0.04$) y nasal interno ($r = - 0.25$; $p = 0.02$) y el espesor coroideo ($r= -0.23$; $p = 0.04$). El resto de parámetros se detallan en la tabla # 7.

Tabla # 7: Correlación de parámetros de OCT y OCT-A con la agudeza visual (escala VAR), campo visual y severidad de la enfermedad.

PARÁMETRO	Correlación Con AVMC (p)*	Correlación con campo visual (p)**	Correlación con Severidad (p)*
Densidad de vasos (mm/mm²)			
Central	+ 0.19 (0.96)	+0.02 (0.83)	- 0.18 (0.09)
Interna	+ 0.26 (0.02)	+0.18 (0.12)	-0.20 (0.07)
Externa	+0.66 (0.057)	+0.16 (0.14)	-0.10 (0.34)
Completa	+0.13 (0.24)	+0.19 (0.09)	-0.14 (0.19)
Densidad de perfusión (%)			
Central	+0.18 (0.11)	+ 0.02 (0.8)	-0.18 (0.10)
Interna	+0.28 (0.013)	+ 0.18 (0.11)	-0.22 (0.052)
Externa	+0.06 (0.56)	+0.16 (0.15)	-0.12 (0.28)
Completa	+0.14 (0.22)	+ 0.19 (0.08)	-0.16 (0.15)

Zona Avascular Foveal (automática)			
Área ZAF (mm²)	- 0.32 (0.009)	+ 0.014 (0.91)	-0.17 (0.17)
Intensidad de Señal	- 0.10 (0.35)**	+ 0.10 (0.38)**	+0.07 (0.5)**
Espesor macular (µm)			
Central	+ 0.25 (0.028)	+0.10 (0.36)	-0.29 (0.01)
Superior Interno	+0.27 (0.015)	+0.06 (0.59)	-0.23 (0.04)
Temporal Interno	+0.23 (0.043)	+0.17 (0.13)	-0.15 (0.16)
Inferior Interno	+0.26 (0.018)	+0.01 (0.90)	-0.22 (0.051)
Nasal Interno	+0.26 (0.018)	+0.03 (0.74)	-0.25 (0.02)
Superior externo	- 0.05 (0.66)	- 0.13 (0.24)	0.08 (0.44)
Temporal externo	- 0.21 (0.77)	- 0.03 (0.77)	0.08 (0.49)
Inferior externo	- 0.09 (0.42)	- 0.06 (0.57)	0.04 (0.72)
Nasal externo	+ 0.02 (0.84)	- 0.07 (0.51)	- 0.06 (0.57)
Espesor Capa Células ganglionares	+ 0.09 (0.40)	+ 0.02 (0.84)	-0.08 (0.46)
Espesor coroideo	+0.43 (<0.001)	+ 0.11 (0.34)	-0.23 (0.04)

* Correlación r de Pearson. ** Correlación Rho de Spearman. En **negrita** se encuentran marcados los valores p estadísticamente significativos

DISCUSIÓN

La OCT y OCT-A son pruebas que han demostrado su utilidad en la monitorización y el seguimiento clínico de los pacientes con RP a nivel estructural y vascular (9,23,24). La falta de capacidad de fijación de los pacientes por la baja AV, la desestructuración de las capas retinianas en estadios avanzados o la falta de transparencia en los medios oculares puede limitar su utilidad (9,25). Para determinar la calidad de las imágenes, los dispositivos disponen del parámetro intensidad de señal donde 0 es el mínimo y 10 el máximo, siendo el valor 6 el mínimo para considerar a una imagen de OCT como aceptable. El grupo de pacientes de nuestro estudio demostró una intensidad de señal significativamente menor ($p = 0,002$) que el grupo control, de lo que puede deducirse que se obtuvieron imágenes de peor calidad en los pacientes con RP pudiendo afectar esto al resto de parámetros analizados.

El objetivo del presente estudio, era precisar el impacto de la no-midriasis en la calidad de estas imágenes, con el fin de evitar la midriasis farmacológica a estos pacientes por los molestos síntomas que provoca. No se ha encontrado estudios publicados al respecto en pacientes con RP, pero sí en otras patologías retinianas. El grupo de Brücher y col.(17), analizó las imágenes de pacientes con DMAE, utilizando la puntuación de artefactos de movimiento (MAS), mayor cuanto peor es la calidad de la imagen, descubriendo que bajo midriasis farmacológica los pacientes obtuvieron una menor puntuación. Esto puede deberse a que el *tracker* del instrumento de OCT-A funciona inadecuadamente por una mala imagen del fondo de ojo en miosis. Por otro lado, Lara-Medina y cols. estudiaron si la precisión en la detección del edema macular diabético de varios dispositivos de OCT de dominio espectral (OCT-SD) puede verse afectada por la no midriasis sin encontrar diferencias significativas entre los pacientes dilatados y los que no lo estaban (26). También el grupo de Xiao-Gang y col. estudiaron la reproducibilidad de las mediciones del espesor macular central en condiciones de no midriasis en dos dispositivos diferentes de OCT-SD, llegando a la conclusión de que siempre y cuando el tamaño pupilar cumpla los requerimientos de toma de imagen del escáner (2-3 mm), la midriasis no influye en la precisión del aparato (27). Se debe tener en cuenta que en los estudios citados la función visual estaba mejor conservada que en nuestros pacientes tanto por la naturaleza de las dos enfermedades como por las AVMC registradas de más de 85 VAR (0,5 en escala decimal) en la mayoría de los pacientes, más del doble que la media de nuestro grupo de pacientes ($43,03 \pm 30,43$ VAR).

La influencia de la no midriasis ha sido estudiada en la realización de otras pruebas, principalmente funcionales en pacientes con RP, por ejemplo, en la realización de la perimetría de Goldmann por el grupo de Lam y col. aunque no encontraron diferencias significativas en términos de diferencia de área o porcentaje de cambio entre los grupos de midriasis y no midriasis.(28)

Con respecto al resto de los parámetros que se midieron, existe una reducción significativa ($p < 0,001$) de todos en los pacientes afectados de RP, tanto los de las imágenes de OCT como en las de OCT-A (densidad vascular, densidad de perfusión, espesores maculares, espesor de

la capa de células ganglionares y espesor coroideo), salvo el área de ZAF, que resultó significativamente mayor en estos pacientes, un hallazgo esperable teniendo en cuenta que entre las características clínicas que caracterizan a la RP en fases avanzadas se encuentran el adelgazamiento arteriolar y la atenuación vascular (8,9). Estos hallazgos son acordes con la bibliografía publicada ya que, en ausencia de otras alteraciones concomitantes como el edema macular o las membranas epirretinianas, se ha descrito una reducción del espesor retiniano a expensas sobre todo de las capas externas de la retina, incluso con la desaparición de la línea EZ en fases avanzadas de la enfermedad (9,29), acompañada de una cierta reducción en las capas más internas. (25,30).

Alnawaiseh y cols y Parodi y cols, encontraron una reducción significativa de la DP en mácula y un aumento en el ZAF, en pacientes con RP; adicionalmente y a diferencia de este estudio, calcularon otros parámetros, como los plexos capilares profundos, la capa de la coriocapilar (20), y los vasos peripapilares (10). No hemos realizado tales análisis debido a que el software de OCT-A que se ha utilizado en nuestro estudio no permite calcular tales parámetros. En otro estudio, un metanálisis, realizado por Ling y cols en el que se analizó en siete estudios (cuatro estudios transversales y tres casos-controles) en el que encontraron una disminución estadísticamente significativa de los valores de la DP, pero no pudieron demostrar un aumento significativo de la ZAF. Una de las razones por las que se dio esto es por la alta heterogeneidad ($I^2 = 88\%$), y por algunos posibles factores, como la medición manual del ZAF, los diferentes algoritmos utilizados para el análisis y las diferencias de los grupos étnicos que se incluyeron.(19) En nuestro estudio, se utilizó un solo equipo, y no hay diferencias de grupos étnicos.

Con respecto a los artefactos detectados, un 16% más de las imágenes del grupo de pacientes presentaban artefactos, con distinta distribución y más artefactos por imagen. En su mayoría las imágenes tenían más de 2 artefactos mientras que el grupo control que en su mayoría presentaba uno solo. El artefacto más frecuente fue el de proyección en los dos grupos. al igual que en el estudio realizado por Enders y cols. (13) en pacientes con múltiples patologías retinianas, donde también fue este el más frecuente en las imágenes de OCT-A. Por otra parte, Ghasemi y cols. (14) describieron como más frecuente el defecto en banda (89.4%) seguido de los de segmentación y movimiento en una muestra de pacientes con distintas patologías retiniana, sin encontrar en las imágenes el artefacto de proyección. Esto puede deberse a que el dispositivo utilizado en ese estudio (DRI OCT Triton plus, Topcon, Tokyo, Japan) difiere del presente trabajo (PLEX Elite 9000, Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, EE. UU.). Otra forma de evitar el artefacto de proyección, es utilizar el algoritmo Projection-Resolved OCTA (PR-OCTA), el cual se incluye en el instrumento RTVue-XR (OptoVue, Inc) y que fue utilizado por el grupo de Hagag y col. (6) para eliminar su impacto en la interpretación de las imágenes de OCT de pacientes con RP. Otros métodos que podrían disminuir los artefactos son: aumentar la velocidad de adquisición de imagen, realizar un seguimiento o tracking del fondo de ojo durante la OCT, y desarrollar nuevos programas informáticos, tal como se describe en las conclusiones de Chen y cols (15).

En varios de los estudios publicados se ha intentado correlacionar los hallazgos de la exploración clínica con los parámetros de estas pruebas estructurales, con el fin de encontrar aquellos parámetros objetivos estructurales y funcionales que mejor nos permitan predecir la progresión y el estado clínico del paciente. En nuestra muestra la agudeza visual parece correlacionarse con la densidad vascular ($r= 0.26$; $p =0.02$) de una forma directa y moderada, siendo VAR mayor cuanto mayor es la densidad de los vasos. También parecen correlacionarse con la VAR la perfusión de la zona interna de los vasos retinianos ($r = 0,28$; $p = 0,013$) y el espesor macular ($r = 0,25$; $p = 0,028$) y coroideo ($r = 0,43$; $p = < 0,001$). En el estudio de Alnawaiseh y cols, al igual que nuestro estudio, se pudo constatar que a mayor agudeza visual mejor densidad de flujo tanto en los plexos superficiales como profundos, además de analizar otras exploraciones útiles en la RP, como es el electroretinograma con el que también hubo correlación (10).

Una de las principales limitaciones de este estudio es que el grupo control lo componen sujetos sanos, dificultando la detección del efecto aislado de la midriasis farmacológica entre el grupo de pacientes y el grupo control. Sería interesante de cara a próximos estudios la utilización de un grupo control de pacientes con RP en el que las tomografías se hagan bajo midriasis farmacológica si bien esto puede limitar a las actividades inmediatas posteriores del paciente, que fue el motivo por el que se decidió no dilatar a los pacientes en primera instancia. Otra de las limitaciones, es que no se dispone de la caracterización genética de los pacientes con RP, variable que podría utilizarse para realizar comparaciones con los hallazgos de las pruebas estructurales y funcionales y que podrían permitirnos una mejor caracterización dada la gran heterogeneidad que presenta la enfermedad. Los resultados de nuestro estudio sólo analizan imágenes de pacientes con RP y controles sanos, por lo que no son extrapolables a muestras con pacientes con patologías diferentes de la RP. Se debe considerar que, en nuestro estudio, la deficiente o nula fijación de la mirada y las opacidades de medios transparentes en algunos pacientes, generaron imágenes que no se consideraron como aceptables para la medición de parámetros cuantitativos de la OCT y OCT-A. Además, el OCT utilizado solo permitía la realización de un número limitado de mediciones de las dimensiones no permitiendo la medición automática del espesor de la zona elipsoide y la ZAF de las capas profundas, parámetros que importantes a la hora de valorar el estado y hacer el seguimiento de los pacientes con RP.

CONCLUSIONES

- La no-midriasis no es un factor limitante para una correcta obtención e interpretación de imágenes generadas por OCT y OCT-A en pacientes con un estadio leve-moderado de RP, considerando que en estadios severos podría ser necesario la dilatación pupilar para mejorar la calidad de imagen y reducir los artefactos.
- El OCT y OCT-A son herramientas diagnósticas relativamente nuevas que nos permiten realizar una aceptable exploración cuantitativa de las estructuras retinianas alteradas y los cambios fisiopatológicos que se presentan en la RP.
- El conocimiento e identificación de artefactos en las imágenes generadas por la OCT y OCT-A, nos permite realizar una adecuada interpretación de las mismas, evitando errores en el diagnóstico y seguimiento de la patología retiniana, entre las que están la RP.
- Los parámetros cuantitativos adquiridos en las imágenes con OCT y OCT-A se correlacionan con los parámetros funcionales subjetivos, como la agudeza visual y la severidad de la enfermedad.

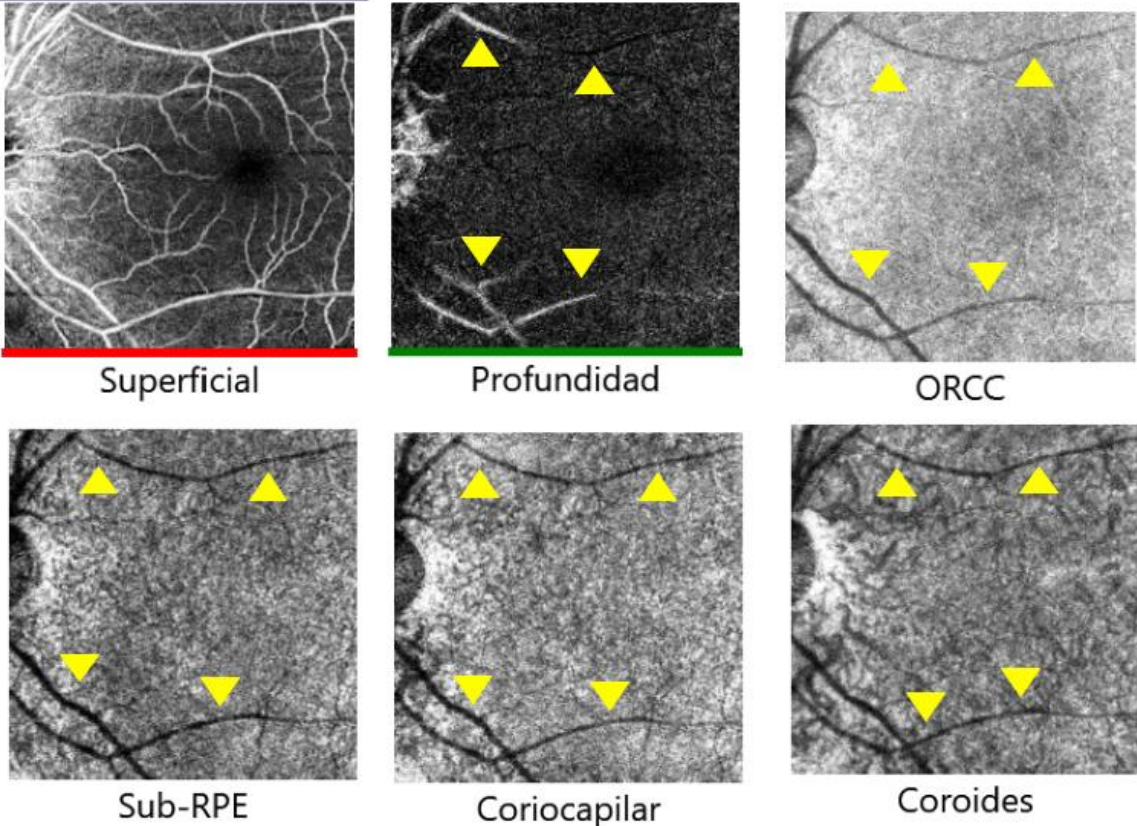
BIBLIOGRAFÍA

1. Rojas Suarez S, Sánchez Ramos J. Manual de Retina Médica y Quirúrgica. 2018. 53–56 p.
2. Arrigo A, Bordato A, Romano F, Aragona E, Grazioli A, Bandello F, et al. Choroidal patterns in retinitis pigmentosa: Correlation with visual acuity and disease progression. *Transl Vis Sci Technol.* 2020;9(4):1–14.
3. Liu G, Du Q, Keyal K, Wang F. Morphologic characteristics and clinical significance of the macular-sparing area in patients with retinitis pigmentosa as revealed by multicolor imaging. *Exp Ther Med.* 2017;14(6):5387–94.
4. Abraldes MJ, Ayuso C, Casaroli RP, Coco RM, Díaz J, Español A. Guía de Práctica Clínica para las Distrofias Hereditarias de Retina. Guía Práctica Clínica para las Distrofias Hered Retin. 2017;
5. Mustafi D, Arbabi A, Ameri H. Retinal Gene Distribution and Functionality Implicated in Inherited Retinal Degenerations Can Reveal Disease-Relevant Pathways for Pharmacologic Intervention. 2019;
6. Hagag AM, Wang J, Lu K, Harman G, Weleber RG, Huang D, et al. Projection-Resolved Optical Coherence Tomographic Angiography of Retinal Plexuses in Retinitis Pigmentosa. *Am J Ophthalmol.* 2019;204:70–9.
7. Hartong D, Berson E, Dryja T. Retinitis pigmentosa Prevalence and inheritance patterns. *Lancet.* 2006;368:1795–809.
8. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurenghi G. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res.* 2018;63:1–55.
9. Oh JK, Nuzbrokh Y, Lima de Carvalho JR, Ryu J, Tsang SH. Optical coherence tomography in the evaluation of retinitis pigmentosa. *Ophthalmic Genet.* 2020;41(5):413–9.
10. Alnawaiseh M, Schubert F, Heiduschka P, Eter N. Optical coherence tomography angiography in patients with retinitis pigmentosa. *Retina.* 2019;39(1):210–7.
11. Salmon JF. Generalized Photoreceptor Dystrophies: Retinitis Pigmentosa. In: Kanski's Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach. 2020. p. 619–23.
12. Rezaei KA, Zhang Q, Chen CL, Chao J, Wang RK. Retinal and choroidal vascular features in patients with retinitis pigmentosa imaged by OCT based microangiography. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2017;255(7):1287–95.
13. Enders C, Lang GE, Dreyhaupt J, Loidl M, Lang GK, Werner JU. Quantity and quality of image artifacts in optical coherence tomography angiography. *PLoS One.* 2019;14(1):1–9.
14. Ghasemi Falavarjani K, Al-Sheikh M, Akil H, Sadda SR. Image artefacts in swept-source optical coherence tomography angiography. *Br J Ophthalmol.* 2017;101(5):564–8.
15. Chen FK, Viljoen RD, Bukowska DM. Classification of image artefacts in optical coherence tomography angiography of the choroid in macular diseases. *Clin Exp Ophthalmol.* 2016;44(5):388–99.
16. Cheng J, Yu J, Jiang C, Sun X. Phenylephrine affects peripapillary retinal vasculature—An optical coherence tomography angiography study. *Front Physiol.* 2017;8(DEC):1–7.
17. Brücher VC, Storp JJ, Kerschke L, Nelis P, Eter N, Alnawaiseh M. Influence of mydriasis on optical coherence tomography angiography imaging in patients with age-related macular degeneration. *PLoS One.* 2019;14(10):1–11.
18. Toto L, Borrelli E, Mastropasqua R, Senatore A, Di Antonio L, Di Nicola M, et al. Macular features in retinitis pigmentosa: Correlations among ganglion cell complex thickness, capillary density, and macular function. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2016;57(14):6360–6.
19. Ling L, Gao F, Zhang Q, He T, Zhao Y, Xing Y, et al. Optical Coherence Tomography Angiography Assessed Retinal and Choroidal Microvasculature Features in Patients with Retinitis Pigmentosa: A Meta-Analysis. *Biomed Res Int.* 2019;2019.
20. Parodi MB, Cicinelli MV, Rabiolo A, Pierro L, Gagliardi M, Bolognesi G, et al. Vessel

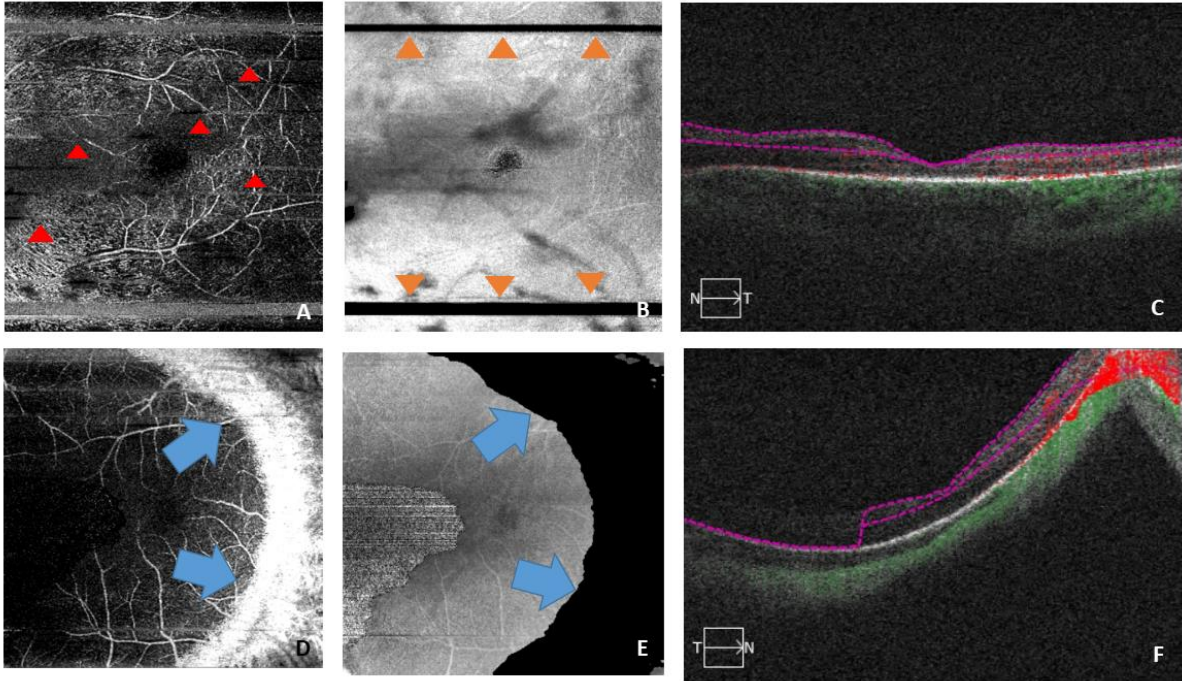
- density analysis in patients with retinitis pigmentosa by means of optical coherence tomography angiography. *Br J Ophthalmol*. 2017;101(4):428–32.
21. Herse P. Retinitis pigmentosa: visual function and multidisciplinary management. *Clin Exp Optom*. 2005;88(5):335–50.
 22. Smith HB, Chandra A, Zambarakji H. Grading severity in retinitis pigmentosa using clinical assessment, visual acuity, perimetry and optical coherence tomography. *Int Ophthalmol*. 2013;33(3):237–44.
 23. Hariri AH, Yang Zhang H, Ho A, Francis P, Weleber RG, Birch DG, et al. Quantification of Ellipsoid Zone Changes in Retinitis Pigmentosa Using en Face Spectral Domain-Optical Coherence Tomography Group Information: The principal investigators for the Trial of Oral Valproic Acid for Retinitis Pigmentosa Group include Paul HHS . *Retin Found Southwest*. 2016;134(6):628–35.
 24. Jauregui R, Park KS, Duong JK, Mahajan VB, Tsang SH. Quantitative progression of retinitis pigmentosa by optical coherence tomography angiography. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–7.
 25. Elena Garcia-Martin, Isabel Pinilla, Eva Sancho, Carmen Almarcegui, Isabel Dolz, Diego Rodriguez-Mena, Isabel Fuertes NC. Optical coherence tomography in retinitis pigmentosa: reproducibility and capacity to detect macular and retinal nerve fiber layer thickness alterations. *Retina*. 2012;32(8):1581–91.
 26. Medina FJL, Callén CI, Rebolleda G, Muñoz-Negrete FJ, Callén MJL, Del Valle FG. Use of nonmydriatic spectral-domain optical coherence tomography for diagnosing diabetic macular edema. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(3):536-543.e1.
 27. Wang XG, Peng Q, Wu Q. Comparison of central macular thickness between two spectral-domain optical coherence tomography in elderly non-mydratic eyes. *Int J Ophthalmol*. 2012;5(3):354–9.
 28. Lam BL, Fishman GA, Anderson RJ, Smith DA, Alexander KR. Effect of Mydriasis on Visual Field Area in Retinitis Pigmentosa. *Ophthalmology* 1992;99(11):1724–7.
 29. Öztekin Long M and Badre, David N. Thickness of Receptor and Post-receptor Retinal Layers in Patients with Retinitis Pigmentosa Measured with Frequency- Domain Optical Coherence Tomography. *Bone*. 2008;23(1):1–7.
 30. Oishi A, Otani A, Sasahara M, Kurimoto M, Nakamura H, Kojima H, et al. Retinal nerve fiber layer thickness in patients with retinitis pigmentosa. *Eye*. 2009;23(3):561–6.

ANEXOS

Anexo: Gráficos de Artefactos



Artefacto de proyección. Nótese las flechas amarillas la silueta de los vasos superficiales en las diferentes capas de la retina y coroides. Imágenes tomadas con Zeiss PLEX Elite 9000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, EE. UU).



Artefactos de OCT-A:

A: artefacto de defecto en banda. Se observan franjas horizontales de diferente brillo (flechas rojas)
B: artefacto de parpadeo. Líneas negras producto de que en ese momento no se adquirió la imagen por el cierre de los párpados. (flechas naranjas)
C: OCT B-Scan de paciente con RP.
D, E, F: artefacto fuera de área a evaluar. Se observa pérdida de enfoque del escaneo, generando una imagen que no corresponde a la realidad.
Imágenes tomadas con Zeiss PLEX Elite 9000 (Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, EE. UU).