UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

ALTERACIONES DE LA MICROVASCULATURA RETINIANA MEDIANTE ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR SARS-CoV-2

Sandra Banderas García

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  https://creativecommons.org/licenses/?lang=es

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  https://creativecommons.org/licenses/?lang=en

ALTERACIONES DE LA MICROVASCULATURA RETINIANA MEDIANTE ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR SARS-CoV-2



TESIS DOCTORAL

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA

SANDRA BANDERAS

2026

UAB
Universitat Autònoma de Barcelona

TESIS DOCTORAL

ALTERACIONES DE LA MICROVASCULATURA RETINIANA MEDIANTE ANGIOGRAFÍA POR TOMOGRAFÍA DE COHERENCIA ÓPTICA EN PACIENTES CON INFECCIÓN POR SARS-CoV-2

Doctorando:
Sandra Banderas García

Directores:
Miguel Ángel Zapata Victori
José García Arumí

Tutor:
Prof. José García Arumí

Programa de Doctorado en Cirugía y Ciencias Morfológicas
Departamento de Cirugía
Universitat Autònoma de Barcelona
Barcelona, 2026

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. José García Arumí, por ser un gran jefe y referencia. Ha sido un honor poder aprender de una figura excepcional, cuya trayectoria constituye una inspiración.

Al Dr. Miguel Ángel Zapata, por darme la oportunidad de emprender este proyecto, por su apoyo constante y por haberme acompañado e inspirado durante todo este camino.

A los adjuntos del Hospital Vall d'Hebron y del Hospital Germans Trias i Pujol, que me han enseñado y formado no solo en oftalmología, sino también en una ética de trabajo, esfuerzo y compromiso que intento reproducir día a día. En especial, a mis compañeros y amigos, Dr. Aragón, al Dr. Garrell, a la Dra. Ros, a la Dra. Calatayud y al Dr. Goñi, que han dedicado parte de su valioso tiempo a ayudarme con este proyecto. Gracias también al resto de residentes, personal de enfermería y equipos de ambos centros, por el apoyo, tiempo y cariño. Espero poder devolver algún día todo lo recibido.

Al Dr. Valldeperas, por su paciencia y mentoría. Gracias por ayudarme a crecer tanto en lo profesional como en lo personal.

Finalmente, a mis padres y a mi pareja, Oscar. Gracias por hacer mi vida mucho mejor, por sostenerme siempre mientras intento finalizar múltiples imposibles a la vez. Este trabajo también es vuestro.

"Una de las cosas más bellas de la vida es el trabajo a gusto."
Antoni Gaudí

LISTADO DE ABREVIATURAS

OCTA: Angiografía por OCT

OCT: Tomografía de coherencia óptica

ACE2: Enzima convertidora de angiotensina 2

IL-6: Interleucina-6

OMS: Organización Mundial de la Salud

SDRA: síndrome de distrés respiratorio agudo

UCI: Unidades de Cuidados Intensivos

SNC: Sistema Nervioso Central

DLCO: difusión pulmonar para monóxido de carbono

PVS: Plexo vascular superficial

PVI: Plexo vascular intermedio

PVP: Plexo vascular profundo

PVC: Plexo vascular de la coriocapilaris

ZAF: Zona avascular foveal

DV: Densidad Vascular

IECA: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

ARA II: Antagonistas de los receptores de angiotensina II

CRAE: *Central Retinal Artery Equivalent*

CRVE: *Central Retinal Vein Equivalent*

DE: Desviación estándar

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN 7
ABSTRACT 8
1. INTRODUCCIÓN 9
1.1. La enfermedad por COVID-19 9
1.1.1. Breve historia de la pandemia y alcance global. 9
1.1.2. Fisiopatología general de la infección por SARS-CoV-2. 9
1.1.3. Papel del receptor ACE2 en la entrada viral y afectación multisistémica. 9
1.1.4. Efectos sistémicos clave: respiratorio, oftalmológico, cardiovascular, renal, hepático y neurológico. 11
1.2. *Long* COVID 15
1.2.1. Definición y relevancia clínica. 15
1.2.2. Síntomas persistentes y multisistémicos. 16
1.2.3. Alteraciones neurológicas y neurocognitivas 17
1.3. Imagen retiniana 17
1.3.1. Retinografía 17
1.3.2. OCT 18
1.3.3. Angiografía por OCT 19
1.4. La retina como biomarcador no invasivo de la salud vascular y cerebral 22
1.4.1. Retina como reflejo de la salud vascular 22
1.4.2. Retina como ventana al sistema nervioso central 25
2. JUSTIFICACIÓN 29
3. HIPÓTESIS 30
3.1. Hipótesis principal 30
3.2. Hipótesis secundarias 30
4. OBJETIVOS 31
4.1. Objetivo principal 31
4.2. Objetivos secundarios 31
5. MÉTODO 32
5.1. Comité ético 32
5.2. Inclusión y selección de pacientes 32
5.2.1. Cohorte COVID 32
5.2.2. Cohorte *long* COVID 33
5.2.3. Criterios de exclusión para ambas cohortes 33
5.2.4. Integración de cohortes para análisis comparativo 34
5.3. Exámenes realizados 34

5.4. Retinografía 34
5.4.1. Análisis cuantitativo 35
5.4.2. Análisis cualitativo 35
5.5. OCT 36
5.5.1. Análisis cualitativo 36
5.6. Angiografía por OCT 37
5.6.1. Mapas de densidad vascular 37
5.6.2. Zona avascular foveal 40
5.7. Entrevista 41
5.8. Estadística 42
5.8.1. Cálculo de la muestra 42
5.8.2. Análisis estadístico 42
6. RESULTADOS 44
6.1. Visita basal de la cohorte COVID. 44
6.1.1. Características demográficas 44
6.1.2. Retinografías 45
6.1.3. OCT 46
6.1.4. Angiografía por OCT 46
6.2. Primer seguimiento de la cohorte COVID 52
6.2.1. Retinografías 52
6.2.2. OCT 54
6.2.3. Angiografía por OCT 54
6.3. Segundo seguimiento de la cohorte COVID 62
6.3.1. Retinografías 62
6.3.2. OCT 63
6.3.3. Angiografía por OCT 63
6.4. *Long* COVID en la cohorte COVID 68
6.4.1. Revisión de historia clínica 68
6.4.2. Entrevista 69
6.5. Análisis prospectivo de la cohorte COVID 71
6.5.1. Visita basal y primer seguimiento 71
6.5.2. Visita basal y segundo seguimiento 72
6.6. Cohorte *long* COVID 77
6.6.1. Características demográficas 77
6.6.2. Retinografías 79
6.6.3. OCT 80

6.6.4. Angiografía por OCT 80
6.7. Análisis comparativo entre la cohorte COVID y la cohorte *long* COVID 84
6.7.1. Plexo vascular superficial 85
6.7.2. Plexo vascular profundo 87
6.7.3. Plexo vascular de la coriocapilar 89
7. DISCUSIÓN 91
7.1. Respecto al diseño, inclusión y exclusión de pacientes 91
7.1.1. Diseño y justificación de las cohortes 91
7.1.2. Cohorte *long* COVID y síntomas neurocognitivos 92
7.1.3. Tamaño muestral 92
7.1.4. Comparabilidad entre cohortes y control de factores de confusión 92
7.1.5. Seguimiento longitudinal 93
7.2. Respecto al análisis de las retinografías 94
7.3. Respecto al análisis del OCT 96
7.4. Respecto a los hallazgos de la angiografía por OCT 97
7.4.1. Cohorte COVID 97
7.4.2. Cohorte *long* COVID 102
7.5. Limitaciones 106
8. CONCLUSIONES 108
9. LÍNEAS DE FUTURO 109
9.1. Estudios longitudinales multicéntricos 109
9.2. Evaluación de la autorregulación vascular 109
9.3. Integración multimodal clínica 109
9.4. Estandarización metodológica 109
9.5. Inteligencia artificial 110
10. BIBLIOGRAFÍA 111
11. ANEXOS 131
11.1. Publicaciones derivadas de la tesis 131
11.1.1. Publicación 1 131
11.1.2. Publicación 2 136

RESUMEN

Introducción

La infección por SARS-CoV-2 se ha asociado con disfunción endotelial, inflamación sistémica y daño microvascular. La angiografía por tomografía de coherencia óptica (OCTA) permite evaluar de forma no invasiva la microvasculatura retiniana y podría identificar alteraciones subclínicas asociadas a COVID-19 y *long* COVID.

Justificación científica

La retina constituye un modelo *in vivo* accesible de microcirculación sistémica. Sin embargo, la persistencia de alteraciones microvasculares retinianas tras la infección por SARS-CoV-2 y su posible relación con la gravedad inicial y el *long* COVID no están completamente establecidas.

Hipótesis y objetivos

Se hipotetizó que la infección por SARS-CoV-2 induce alteraciones microvasculares retinianas detectables mediante OCTA, asociadas a la gravedad de la enfermedad y potencialmente relacionadas con síntomas persistentes. El objetivo principal fue analizar la densidad vascular retiniana tras la infección por SARS-CoV-2. Los objetivos secundarios incluyeron la evaluación de retinografía, tomografía de coherencia óptica (OCT), y la relación con el *long* COVID.

Diseño del estudio

Estudio observacional, analítico y clínico (no experimental). Incluyó dos cohortes independientes: una cohorte COVID (diseño prospectivo longitudinal unicéntrico) que comparó sujetos sanos con pacientes estratificados por gravedad (leve, moderada y grave); y una cohorte *long* COVID (diseño transversal multicéntrico/colaborativo) que comparó controles, individuos recuperados y pacientes con sintomatología persistente (con y sin deterioro cognitivo). En la cohorte COVID el tamaño muestral se basó en viabilidad exploratoria, mientras que en la cohorte *long* COVID se estimó una muestra de aproximadamente 17–20 sujetos por grupo.

Resultados

En la cohorte COVID, los pacientes con enfermedad moderada y grave presentaron menor densidad vascular central en los plexos vascular superficial y profundo, así como mayor área de la zona avascular foveal, en comparación con controles y casos leves. Estas alteraciones persistieron durante el seguimiento, hasta aproximadamente tres años tras la infección. La retinografía y la OCT estructural no mostraron hallazgos relevantes atribuibles al SARS-CoV-2. En la cohorte *long* COVID, no se identificó un patrón microvascular retiniano distintivo asociado al deterioro cognitivo.

Conclusiones

La infección por SARS-CoV-2, especialmente en formas moderadas y graves, se asocia con alteraciones microvasculares retinianas subclínicas y persistentes detectables mediante OCTA. Estos hallazgos parecen relacionarse principalmente con la gravedad de la infección aguda, más que con la presencia de *long* COVID. La OCTA puede constituir una herramienta no invasiva útil para estudiar la afectación microvascular sistémica post-COVID.

ABSTRACT

Introduction

SARS-CoV-2 infection has been associated with endothelial dysfunction, systemic inflammation, and microvascular damage. Optical coherence tomography angiography (OCTA) allows for the non-invasive assessment of the retinal microvasculature and could identify subclinical alterations associated with COVID-19 and long COVID.

Scientific rationale

The retina constitutes an accessible in vivo model of systemic microcirculation. However, the persistence of retinal microvascular alterations following SARS-CoV-2 infection and their possible relationship with initial severity and long COVID are not fully established.

Hypothesis and objectives:

It was hypothesized that SARS-CoV-2 infection induces retinal microvascular alterations detectable by OCTA, associated with disease severity and potentially related to persistent symptoms. The primary objective was to analyze retinal vessel density after SARS-CoV-2 infection. Secondary objectives included the evaluation of retinography, optic coherence tomography (OCT), and the relationship with long COVID.

Study design

Observational, analytical, and clinical study (non-experimental). It included two independent cohorts: a COVID cohort (single-center longitudinal prospective design) that compared healthy subjects with patients stratified by severity (mild, moderate, and severe); and a long COVID cohort (multicenter/collaborative cross-sectional design) that compared controls, recovered individuals, and patients with persistent symptoms (with and without cognitive impairment). In the COVID cohort, the sample size was based on exploratory feasibility, while in the long COVID cohort, a sample of approximately 17–20 subjects per group was estimated.

Results

In the COVID cohort, patients with moderate and severe disease presented lower central vessel density in the superficial and deep vascular plexuses, as well as a larger area of the foveal avascular zone, compared to controls and mild cases. These alterations persisted during follow-up, up to approximately three years post-infection. Retinography and structural OCT showed no relevant findings attributable to SARS-CoV-2. In the long COVID cohort, no distinctive retinal microvascular pattern associated with cognitive impairment was identified.

Conclusions

SARS-CoV-2 infection, especially in moderate and severe forms, is associated with subclinical and persistent retinal microvascular alterations detectable by OCTA. These findings appear to be related primarily to the severity of the acute infection, rather than the presence of long COVID. OCTA may constitute a useful non-invasive tool to study systemic microvascular involvement post-COVID.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. La enfermedad por COVID-19

1.1.1. Breve historia de la pandemia y alcance global.

La pandemia de COVID-19 comenzó en diciembre de 2019 en Wuhan, China, causada por el coronavirus SARS-CoV-2. El virus se propagó rápidamente a nivel mundial, lo que llevó a la Organización Mundial de la Salud (OMS) a declararlo Emergencia de Salud Pública de Importancia Internacional el 30 de enero de 2020 y pandemia el 11 de marzo de 2020 (1).

COVID-19 ha tenido un impacto global profundo, saturando sistemas de salud, afectando economías y evidenciando desigualdades, con más de 775 millones de casos y 18-33 millones de muertes estimadas durante 2024, exponiendo vulnerabilidades en la preparación sanitaria, la infraestructura de salud y la comunicación pública (2).

La rápida transmisión del virus motivó medidas no sólo farmacológicas sino de aislamiento físico con confinamientos, restricciones de viaje y distanciamiento social, afectando a la vida diaria, la educación y la economía, además de interrumpir servicios sanitarios rutinarios, como la vacunación infantil, aumentando riesgos para la salud pública (3, 4).

1.1.2. Fisiopatología general de la infección por SARS-CoV-2.

El SARS-CoV-2 ingresa al sistema respiratorio uniéndose al receptor enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2) presente en los neumocitos tipo II (responsables de producir el surfactante que mantiene los alveolos abiertos) y en las células endoteliales capilares. La proteasa transmembrana serina 2 (TMPRSS2) facilita esta entrada viral al cortar ACE2 y activar la proteína de espiga del virus (5). Esto provoca la muerte de las células infectadas mediante apoptosis y piroptosis, desencadenando una respuesta inflamatoria.

La respuesta inmune innata se caracteriza por la activación de los macrófagos alveolares, que liberan citocinas proinflamatorias como interleucina-6 (IL-6), TNF-α e IL-1β. Estas moléculas aumentan la expresión de moléculas de adhesión celular y del factor de crecimiento endotelial vascular, incrementando la permeabilidad vascular y favoreciendo la infiltración de neutrófilos y monocitos en el espacio alveolar (5, 6). Este proceso culmina en un daño alveolar difuso, caracterizado por edema, formación de membranas hialinas e inflamación intersticial, cuya manifestación clínica más grave es el síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA) (7).

1.1.3. Papel del receptor ACE2 en la entrada viral y afectación multisistémica.

El receptor ACE2 desempeña un papel central en la afectación multisistémica observada en el COVID-19, tanto por actuar como puerta de entrada del SARS-CoV-2 a las células humanas como por su función reguladora dentro del sistema renina-angiotensina.

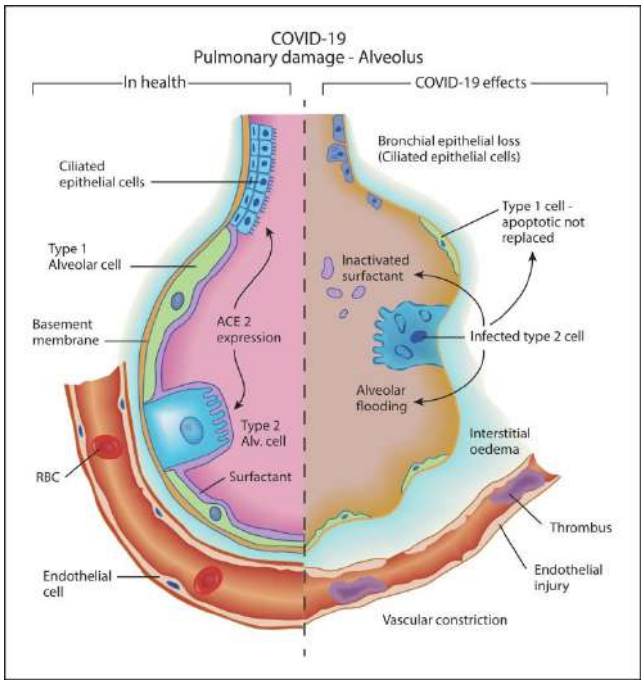
El SARS-CoV-2 se une al receptor ACE2 presente en la superficie de múltiples tipos celulares, incluyendo células epiteliales alveolares, células endoteliales y células de órganos como el corazón, los riñones y el tracto gastrointestinal. Esta unión facilita la entrada viral y la infección celular, provocando daño directo y muerte celular por apoptosis (8).

La internalización del complejo virus-ACE2 conlleva una disminución de la expresión de ACE2 en la superficie celular. En condiciones fisiológicas, ACE2 convierte la angiotensina II en angiotensina-(1-7), una molécula con efectos vasodilatadores y antiinflamatorios. Su reducción favorece la acumulación de angiotensina II, lo que potencia la vasoconstricción, la inflamación, la fibrosis y la trombosis a través del receptor AT1 (8).

Este desequilibrio del sistema renina-angiotensina contribuye a un estado hiperinflamatorio sistémico, caracterizado por niveles elevados de citocinas proinflamatorias, como la IL-6, que pueden desencadenar la denominada tormenta de citocinas y amplificar el daño tisular (9, 10).

Además, la infección directa del endotelio junto con la inflamación sistémica induce disfunción endotelial, con aumento de la permeabilidad vascular, formación de microtrombos y alteraciones de la coagulación (11). Estos mecanismos explican la elevada incidencia de eventos tromboembólicos y el daño multiorgánico observado en las formas graves de la enfermedad (9, 12). Estos procesos se resumen esquemáticamente en la Figura 1.

Figura 1. Representación esquemática de la disfunción endotelial mediada por la unión del SARS-CoV-2 al receptor ACE2, con promoción de un estado protrombótico sistémico. Extraída de la referencia 9.



1.1.4. Efectos sistémicos clave: respiratorio, oftalmológico, cardiovascular, renal, hepático y neurológico.

1.1.4.1. Sistema respiratorio

El COVID-19 afecta principalmente al sistema respiratorio y puede producir un amplio espectro de manifestaciones clínicas, desde síntomas leves hasta insuficiencia respiratoria grave (13).

Aproximadamente el 80 % de los casos de COVID-19 son leves o moderados, con síntomas como fiebre, tos y disnea. Alrededor del 15 % de los pacientes desarrolla enfermedad grave que requiere oxigenoterapia, y un 5 % progresa a enfermedad crítica, presentando SDRA, shock séptico o fallo multiorgánico (5).

La neumonía por COVID-19 se caracteriza por hipoxemia, que puede evolucionar a SDRA. Este se define por un deterioro de la oxigenación con una relación PaO_2/FiO_2 igual o inferior a 300 mmHg, en los casos más graves, hasta menos de 200mmHg (14).

Desde el punto de vista radiológico, la neumonía por COVID-19 suele manifestarse con opacidades en vidrio deslustrado bilaterales y áreas de consolidación en las pruebas de imagen torácica, hallazgos que reflejan la extensa afectación pulmonar observada en los casos graves (15).

1.1.4.2. Afectación oftalmológica

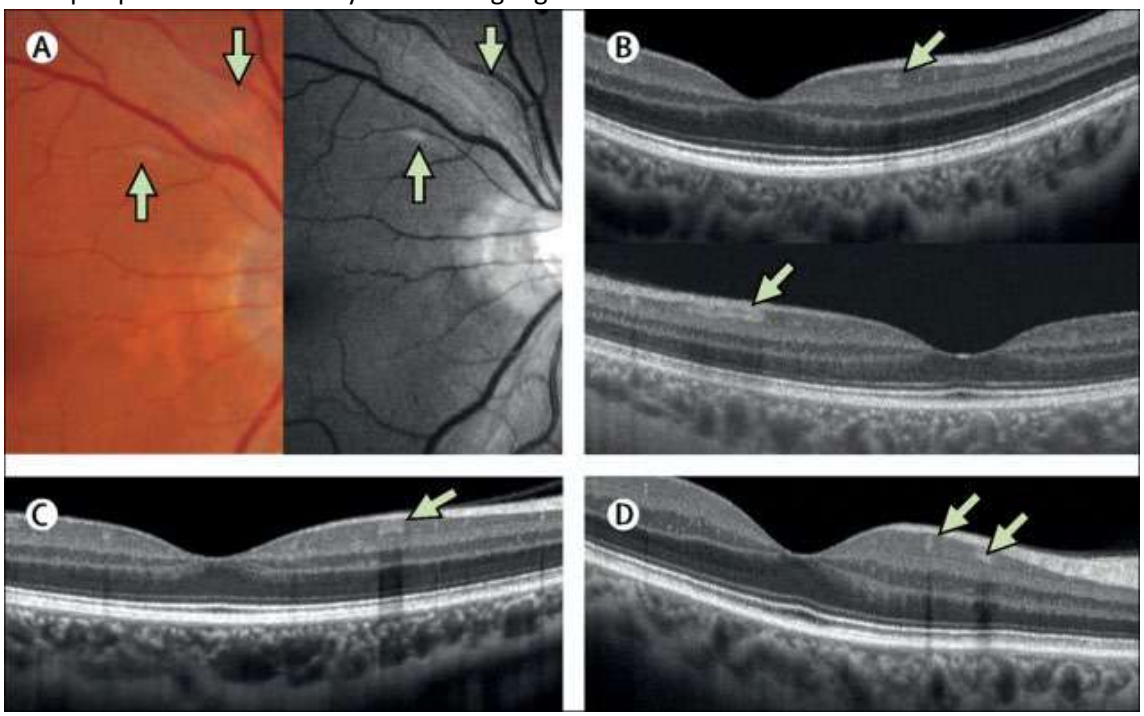
Al inicio de la pandemia, las manifestaciones oculares de la infección por SARS-CoV-2 estaban escasamente descritas, aunque la conjuntivitis folicular aguda fue reportada con relativa frecuencia en pacientes con COVID-19 (16), y se demostró la presencia del virus en muestras obtenidas mediante hisopado conjuntival (17).

El primer reporte de casos sobre cambios vasculares retinianos correspondió a una pequeña serie de pacientes en la que se evaluaron los hallazgos mediante fotografía de fondo de ojo y OCT. En todos los pacientes se observaron lesiones hiperreflectivas a nivel de la capa de células ganglionares y de la capa plexiforme interna, localizadas de forma bilateral y más prominentes en el haz papilomacular (18). Además, se describieron casos de sutiles exudados algodonosos y microhemorragias a lo largo de las arcadas retinianas.

Posteriormente, diversos estudios oftalmológicos describieron alteraciones retinianas en pacientes con COVID-19, incluyendo dilatación venosa, hemorragias intrarretinianas, y signos compatibles con isquemia microvascular (19). Estos hallazgos han sido interpretados como manifestaciones locales de la disfunción endotelial y del estado protrombótico sistémico característicos de la infección por SARS-CoV-2.

Figura 2. Imágenes correspondientes a 4 pacientes con COVID. A: exudado algodonoso en fotografía de fondo de ojo con su correspondiente imagen libre de rojo. (B–D): Las secciones transversales de OCT de tres pacientes revelan lesiones hiperreflectivas localizadas a nivel de

las capas plexiforme interna y de células ganglionares. Extraída de referencia 18.



1.1.4.3. Sistema cardiovascular

Durante la etapa aguda de la infección por SARS-CoV-2, las complicaciones vasculares (trombóticas y microvasculares) se consolidaron como un componente central de la fisiopatología y del pronóstico clínico. Ya en las primeras cohortes hospitalarias se observó una incidencia llamativamente elevada de eventos tromboembólicos, especialmente en pacientes críticos, lo que llevó a conceptualizar el COVID-19 agudo no solo como una neumonía viral, sino como una enfermedad sistémica con participación endotelial, inflamatoria y protrombótica marcada (12, 20, 21).

En términos clínicos, el espectro vascular agudo abarca desde tromboembolismo venoso, trombosis venosa profunda y embolia pulmonar hasta trombosis arterial (ictus isquémico, infarto agudo de miocardio e isquemia aguda de extremidades), además de fenómenos de trombosis microvascular y endotelitis documentados en estudios anatomopatológicos (12, 20, 22, 23).

En pacientes hospitalizados, el tromboembolismo venoso fue una de las complicaciones más consistentes y con mayor impacto clínico. Estudios observacionales de gran tamaño describieron eventos trombóticos venosos y arteriales a lo largo del ingreso, con tasas más altas en unidades de cuidados intensivos (UCI) que en planta (24, 25). En una cohorte de UCI, la incidencia acumulada de complicaciones trombóticas fue del 31%, con predominio de EP, a pesar del uso de tromboprofilaxis, lo que evidenció el carácter particularmente protrombótico del COVID-19 grave (25).

En esta línea, un meta-análisis temprano que agrupó decenas de estudios reportó tasas globales elevadas de tromboembolismo: en conjunto, el tromboembolismo venoso se situó en torno a una quinta parte de los pacientes hospitalizados, con incrementos sustanciales en UCI (aproximadamente en el rango del 30%), y con embolia pulmonar como evento clínicamente

destacado en pacientes críticos (26). Este patrón fue confirmado por revisiones sistemáticas posteriores centradas en población hospitalaria, que además señalaron la gran heterogeneidad entre estudios (diferencias en intensidad de cribado, severidad, profilaxis y definiciones), pero mantuvieron como hallazgo robusto el aumento del riesgo trombótico en el COVID-19 agudo, especialmente en enfermedad grave (27).

A nivel fisiopatológico, la coagulopatía asociada a COVID-19 se caracterizó por elevación de D-dímero y alteraciones de parámetros de coagulación. En un estudio clínico muy influyente, niveles de D-dímero elevados al ingreso se asociaron fuertemente con mayor riesgo de mortalidad intrahospitalaria, sugiriendo su utilidad como marcador temprano de estratificación pronóstica y de riesgo trombótico en el manejo agudo (28).

El COVID-19 agudo también se asoció con complicaciones arteriales. Aunque menos frecuentes que el tromboembolismo venoso en muchas series, los eventos arteriales (infarto, ictus, trombosis periférica) se reportaron de forma consistente en cohortes hospitalarias y contribuyeron a la morbilidad aguda, especialmente en pacientes con factores de riesgo cardiovascular o enfermedad crítica (24, 26). En un análisis comparativo, se describió un mayor riesgo de tromboembolismo arterial en COVID-19 en comparación con influenza, lo que apoya la hipótesis de mecanismos específicos de la infección por SARS-CoV-2 (endotelitis, hipercoagulabilidad e inflamación sistémica) contribuyendo a eventos arteriales durante la hospitalización (29).

En el caso del ictus isquémico, estudios en población hospitalizada estimaron una incidencia acumulada aproximada del 2%, con mayor riesgo en pacientes tratados en UCI, subrayando que la afectación arterial cerebral forma parte del espectro vascular agudo, aunque su frecuencia absoluta sea menor que la del tromboembolismo venoso (30). Otra manifestación vascular de alta gravedad clínica fue la isquemia aguda de extremidades, descrita en series y revisiones sistemáticas como complicación menos común pero potencialmente devastadora, vinculada al estado protrombótico y con impacto en amputación y mortalidad (31).

1.1.4.4. Sistema renal

La lesión renal aguda constituye una de las complicaciones extrapulmonares más relevantes en el COVID-19. Un metaanálisis global que incluyó más de 345.000 pacientes hospitalizados estimó una prevalencia de enfermedad renal aguda cercana al 23 % en pacientes no críticos, aumentando hasta aproximadamente el 45 % en pacientes ingresados en UCI (32), además asociándose a un mayor riesgo de mortalidad (33).

Se ha descrito que el daño renal en la infección por SARS-CoV-2 es el resultado de múltiples mecanismos concomitantes, incluyendo la infección viral directa de las células renales, el daño inflamatorio e inmunológico, la hipoxia, la sepsis, la formación de microtrombos, la hipovolemia y la interacción entre órganos como pulmón, corazón y riñón (34, 35). Asimismo, existe evidencia de que la infección puede inducir fibrosis tubulointersticial, lo que podría contribuir a la persistencia del daño renal a largo plazo (35-37).

1.1.4.5. Sistema hepático

Diversos estudios han descrito alteraciones en las pruebas de función hepática. Durante la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2, caracterizadas principalmente por elevaciones de las

transaminasas séricas, así como incrementos menos frecuentes de la gamma-glutamiltransferasa y la bilirrubina total (38, 39).

La evidencia disponible indica que la presencia de lesión hepática aguda durante la fase inicial de COVID-19 se asocia de forma consistente con mayor gravedad clínica, mayor necesidad de ingreso en UCI y aumento de la mortalidad (40, 41).

Los mecanismos fisiopatológicos implicados en la lesión hepática asociada a COVID-19 agudo son multifactoriales. Entre los más aceptados se encuentran la respuesta inflamatoria sistémica exacerbada, mediada por la liberación masiva de citocinas proinflamatorias, el daño hipóxico-isquémico secundario a insuficiencia respiratoria grave y la disfunción endotelial generalizada descrita en esta infección (38, 42). Asimismo, debe considerarse el papel de la hepatotoxicidad inducida por fármacos, dado el uso frecuente de antivirales, antibióticos, corticosteroides e inmunomoduladores durante el manejo hospitalario del COVID-19 (43, 44). En casos más graves, se han descrito patrones colestásicos y entidades específicas como la colangiopatía asociada a COVID-19, observadas principalmente en pacientes críticamente enfermos (45).

1.1.4.6. Sistema neurológico

La afectación neurológica durante la fase aguda del COVID-19 constituye una manifestación clínica frecuente y clínicamente relevante, asociada a un peor pronóstico y a un incremento significativo de la mortalidad y la discapacidad funcional. Su fisiopatología es claramente multifactorial e incluye mecanismos de invasión viral directa, disfunción endotelial, fenómenos tromboinflamatorios, neuroinflamación sistémica e hipoxia secundaria al compromiso respiratorio grave (46-48).

El SARS-CoV-2 posee potencial neurotrópico, mediado en parte por la expresión del receptor ACE2 en neuronas, células gliales y células endoteliales cerebrales. El acceso al Sistema Nervioso Central (SNC) puede producirse por vía hematógena, favorecida por la alteración de la barrera hematoencefálica, o mediante transporte neuronal retrógrado, particularmente a través del nervio olfatorio (46, 49). No obstante, la evidencia actual sugiere que la invasión viral directa del SNC es relativamente infrecuente y que la mayoría de las manifestaciones neurológicas se explican por mecanismos indirectos mediados por inflamación sistémica y disfunción vascular (47, 50).

La afectación inflamatoria del SNC se ha asociado a cuadros de encefalitis, meningitis y encefalopatía necrosante aguda. La encefalitis relacionada con el COVID-19 presenta una incidencia estimada del 0,21–0,25 %, con una tasa de mortalidad aproximada del 13–14 %, mientras que la meningitis constituye una complicación menos frecuente, con incidencias cercanas a 0,4 casos por cada 1.000 pacientes atendidos en servicios de urgencias (51, 52). Estas entidades se han relacionado con una activación inmunitaria exacerbada, infiltración de células inflamatorias y daño neuronal secundario (48, 51).

De forma paralela, la interacción del SARS-CoV-2 con el endotelio vascular induce una disfunción endotelial generalizada, caracterizada por activación de la coagulación, daño microvascular y un marcado estado de hipercoagulabilidad. Este contexto favorece la aparición de eventos cerebrovasculares agudos, entre los que destacan el ictus isquémico (incidencia estimada del 1,0–1,4 %, y menos frecuentemente la trombosis venosa cerebral y la hemorragia

intracerebral (52, 54). Estos eventos ocurren con mayor frecuencia en pacientes con enfermedad grave y se asocian a una elevada mortalidad hospitalaria y a peores resultados funcionales (53).

La encefalopatía representa la manifestación neurológica más frecuente en pacientes hospitalizados por COVID-19, con una incidencia estimada entre el 8,7 % y el 12 %, que puede alcanzar hasta el 70–80 % en pacientes críticos ingresados en UCI (55, 56). Su desarrollo se asocia a edad avanzada, mayor gravedad de la infección y comorbilidades cardiovasculares y metabólicas previas. La respuesta inflamatoria sistémica contribuye con la disfunción cerebral difusa (48, 55). Asimismo, la hipoxia prolongada secundaria al compromiso respiratorio grave puede agravar el daño neuronal y favorecer el desarrollo de encefalopatía hipóxico-isquémica, actuando como un factor sinérgico que intensifica las manifestaciones neurológicas (47, 50).

Finalmente, el sistema nervioso periférico también puede verse afectado durante la fase aguda de la infección como en el caso de síndromes immunomediados como el síndrome de Guillain-Barré y el síndrome de Miller-Fisher (57, 58).

1.2. *Long* COVID

1.2.1. Definición y relevancia clínica.

El *Long* COVID o síndrome post-COVID, se define como la presencia de síntomas persistentes, recurrentes o de nueva aparición tras la infección por SARS-CoV-2, no atribuibles a un diagnóstico alternativo (59-61). Según la OMS, esta condición aparece generalmente dentro de los tres meses posteriores a la infección aguda y los síntomas persisten al menos dos meses (62). La OMS estima que alrededor del 10–20 % de las personas infectadas por SARS-CoV-2 pueden desarrollar síntomas compatibles con esta entidad, mientras que en cohortes de pacientes hospitalizados las cifras descritas son mayores, habitualmente en torno al 30–50 % o superiores según el diseño del estudio y el tiempo de seguimiento (62, 63).

Puede desarrollarse tras infecciones leves, moderadas o graves, incluidos casos no hospitalizados, lo que indica que su aparición no depende exclusivamente de la gravedad del episodio agudo (60, 64). Se estima que entre el 10 % y el 30 % de los individuos infectados presentan síntomas persistentes, con variabilidad según la población, la definición empleada y el tiempo de seguimiento (59, 61).

Clínicamente, el l*ong* COVID presenta un fenotipo multisistémico, destacando la fatiga persistente, la disnea, el deterioro cognitivo, las alteraciones del sueño, la disfunción autonómica y los síntomas neuropsiquiátricos (59, 60). La fisiopatología es multifactorial e incluye inflamación crónica de bajo grado, disfunción endotelial y microvascular, fenómenos autoinmunes, persistencia viral y daño orgánico residual (60, 61). Por su elevada prevalencia y su impacto funcional, el l*ong* COVID constituye un problema clínico y de salud pública relevante (65).

1.2.2. Síntomas persistentes y multisistémicos.

La afectación pulmonar persistente constituye una de las secuelas descritas tras el COVID-19, especialmente en pacientes que requirieron hospitalización o presentaron enfermedad aguda grave. Entre las alteraciones funcionales, la reducción de la capacidad de difusión pulmonar para monóxido de carbono (DLCO) se ha identificado como uno de los hallazgos más frecuentes durante el seguimiento.

En una revisión sistemática y metaanálisis, Zhi et al. observaron que la proporción de pacientes con DLCO alterada tras la recuperación del COVID-19 oscilaba entre el 14 % y el 67 %, e identificaron como factores asociados la edad avanzada, el sexo femenino, la presencia de alteraciones en la tomografía computarizada (TC) torácica, así como niveles elevados de dímero D y nitrógeno ureico (66). De forma similar, Han et al. mostraron que, aunque las alteraciones pulmonares post-COVID mejoraban progresivamente con el tiempo, a los 3 años del alta hospitalaria el 22 % de los pacientes mantenía síntomas respiratorios, el 38 % presentaba una DLCO reducida y el 36 % conservaba alteraciones pulmonares residuales en la TC. Cambios residuales en las pruebas radiológicas, especialmente las de tipo fibrótico, se asociaron con mayor frecuencia de síntomas respiratorios persistentes, y mayor proporción de DLCO alterada (67).

La evidencia epidemiológica disponible indica que, tras la fase aguda de la infección por SARS-CoV-2, un subgrupo de pacientes presenta un aumento sostenido del riesgo de eventos cardiovasculares y tromboembólicos más allá de los primeros 30 días post-infección. En un estudio poblacional de Estados Unidos, que incluyó 153.760 personas con COVID-19, 5.637.647 controles contemporáneos y 5.859.411 controles históricos, se observó un incremento significativo del riesgo de enfermedad cardiovascular incidente durante los 12 meses posteriores a la infección, incluyendo trastornos cerebrovasculares, arritmias, enfermedad isquémica y no isquémica, insuficiencia cardíaca y enfermedad tromboembólica. Este incremento fue evidente incluso en pacientes no hospitalizados y en individuos sin enfermedad cardiovascular previa, con un HR de 1,55 para eventos cardiovasculares adversos mayores y de 1,63 para cualquier evento cardiovascular (68). Hallazgos concordantes han sido descritos en otros estudios, que muestran un mayor riesgo de eventos arteriales y venosos tras el COVID-19, aunque con una disminución progresiva del riesgo a lo largo del seguimiento (69, 70).

De forma paralela, el COVID-19 se ha asociado con deterioro renal persistente. Bowe et al. observaron, en una cohorte de más de 1,7 millones de personas, un mayor riesgo post-agudo de lesión renal aguda, enfermedad renal terminal y descenso del filtrado glomerular, incluyendo un incremento del riesgo de reducción ≥50 % del eGFR frente a controles no infectados (71). Además, en pacientes con enfermedad renal crónica previa, se ha observado que la hospitalización por COVID-19 se asociaba con mayor progresión a estadios avanzados de ERC a 12 y 24 meses, incluso en ausencia de lesión renal aguda inicial (72).

La afectación hepática persistente tras el COVID-19 ha sido menos estudiada que otras secuelas sistémicas. No obstante, algunos estudios longitudinales han descrito alteraciones mantenidas de la función hepática en un subgrupo de pacientes tras el alta. En una cohorte prospectiva con seguimiento a 12 meses, Xie et al. observaron que, aunque la mayoría de las

alteraciones hepáticas se normalizaban progresivamente, el 13,2 % de los pacientes mantenía alguna alteración de las pruebas de función hepática al año, especialmente aquellos con comorbilidades o alteraciones hepáticas previas (73)

Finalmente, recalcar que estos hallazgos sugieren la existencia de un síndrome sistémico post-agudo caracterizado por daño microvascular persistente. La retina, por su lecho microvascular altamente especializado, con barrera endotelial estricta y autorregulación similar a la cerebral, podría constituir un modelo plausible para detectar biomarcadores accesibles de alteraciones vasculares sistémicas asociadas al *long* COVID (74).

1.2.3. Alteraciones neurológicas y neurocognitivas

La investigación sobre el impacto del COVID-19 en la conectividad cerebral sugiere la existencia de alteraciones funcionales en redes cerebrales en pacientes con síntomas persistentes, aunque los resultados siguen siendo heterogéneos y dependen de la metodología empleada (75). Estas alteraciones se han relacionado con síntomas neurocognitivos como dificultades de memoria, atención y función ejecutiva.

En grandes cohortes poblacionales, Taquet et al. observaron que el riesgo de ansiedad y trastornos del estado de ánimo tiende a disminuir con el tiempo, mientras que el riesgo de deterioro cognitivo, demencia, trastornos psicóticos y epilepsia o convulsiones puede mantenerse elevado hasta 2 años tras la infección, especialmente en pacientes con enfermedad aguda más grave (76).

No obstante, el síndrome *long* COVID no se limita a pacientes graves, ya que también se ha descrito tras infecciones leves o moderadas y en personas no hospitalizadas, aunque con efectos cognitivos generalmente más leves (77, 78). En los casos hospitalizados, estos déficits parecen asociarse con la gravedad de la afectación sistémica y respiratoria, incluyendo marcadores inflamatorios, alteraciones de coagulación y disfunción pulmonar residual (79). Además, su interpretación debe considerar la mayor carga de comorbilidades, como obesidad y diabetes, factores previamente asociados con deterioro cognitivo y que podrían actuar como variables de confusión o vulnerabilidad adicional.

1.3. Imagen retiniana

1.3.1. Retinografía

La retinografía, o fotografía de fondo de ojo, es una técnica de imagen no invasiva que permite obtener imágenes en color de la retina, el nervio óptico y la vasculatura retiniana, facilitando la evaluación morfológica del polo posterior del ojo. Se trata de una herramienta ampliamente utilizada tanto en la práctica clínica como en investigación para la detección y seguimiento de diversas enfermedades oculares.

Los sistemas tradicionales de retinografía de sobremesa permiten visualizar aproximadamente 50 grados del fondo ocular, lo que resulta suficiente para evaluar la región macular y el nervio óptico. Con el desarrollo de la imagen digital, estos dispositivos han evolucionado hacia sistemas completamente digitales, y en los últimos años han aparecido tecnologías de imagen de campo amplio capaces de captar áreas mayores de retina. Los sistemas de ultra-gran campo

pueden alcanzar hasta 200 grados de campo visual, permitiendo explorar regiones periféricas que no son visibles con las cámaras convencionales (80).

Durante la adquisición de las imágenes pueden aparecer distintos artefactos, como reflejos producidos por el iris en pupilas poco dilatadas, sombras generadas por pestañas o párpados, pérdida de definición cuando la distancia entre el ojo y la cámara no es adecuada o manchas fijas debidas a suciedad en el sistema óptico. No obstante, diversos estudios han demostrado que la fiabilidad en la evaluación de los cambios vasculares retinianos mediante técnicas de imagen estandarizadas es elevada, lo que respalda su utilidad como herramienta reproducible en investigación clínica (81).

1.3.2. OCT

La OCT es una técnica de imagen no invasiva que permite obtener imágenes transversales de alta resolución de las estructuras oculares mediante interferometría de baja coherencia. Esta tecnología fue descrita por primera vez en 1991 (82) y permite detectar estructuras tisulares a escala micrométrica. Desde su introducción, se ha consolidado como la modalidad de imagen estructural más utilizada en oftalmología clínica para el estudio de la retina y del nervio óptico (83).

Los primeros sistemas de OCT utilizaban tecnología *time-doma*in, con velocidades de adquisición de aproximadamente 400 A-*scans* por segundo y cortes radiales separados entre sí, lo que implicaba la posibilidad de no detectar pequeñas lesiones retinianas entre los escaneos.

Posteriormente, la OCT de dominio espectral (SD-OCT) permitió un incremento notable en la velocidad de adquisición, alcanzando aproximadamente 20.000–40.000 *A-scans* por segundo, lo que mejoró la resolución de las imágenes, redujo los artefactos de movimiento y permitió obtener escaneos continuos de áreas retinianas más amplias. Además, la resolución axial pasó de aproximadamente 10–15 µm en los sistemas *time-domain* a valores cercanos a 3 µm (84).

Posteriormente, la introducción de la técnica *enhanced depth imaging* (EDI) permitió mejorar la visualización de estructuras profundas como la coroides (85) y más recientemente, la tecnología *swept-source* OCT (SS-OCT). El SS-OCT emplea un láser de barrido con longitudes de onda más largas, generalmente alrededor de 1050 nm, lo que permite una mayor penetración en los tejidos y velocidades de adquisición superiores, que pueden alcanzar 100.000–400.000 *A-scans* por segundo. Esta tecnología facilita la visualización detallada de estructuras profundas como la coroides y la interfaz coroides-esclera, además de permitir una visualización simultánea del vítreo y de las capas retinianas (86).

En el presente estudio se utilizó un sistema DRI OCT Triton (Topcon) basado en tecnología *swept-source*, con una velocidad de adquisición aproximada de 100.000 *A-scans* por segundo, con una resolución axial óptica reportada en torno a 8 µm y resolución digital de aproximadamente 2,6 µm, según especificaciones del fabricante y una longitud de onda de 1050 nm. Este dispositivo permite una visualización detallada de las diferentes capas retinianas, incluyendo retina externa y coroides, y dispone de algoritmos automáticos de segmentación capaces de identificar múltiples interfaces anatómicas.

1.3.3. Angiografía por OCT

1.3.3.1. Anatomía vascular de la retina

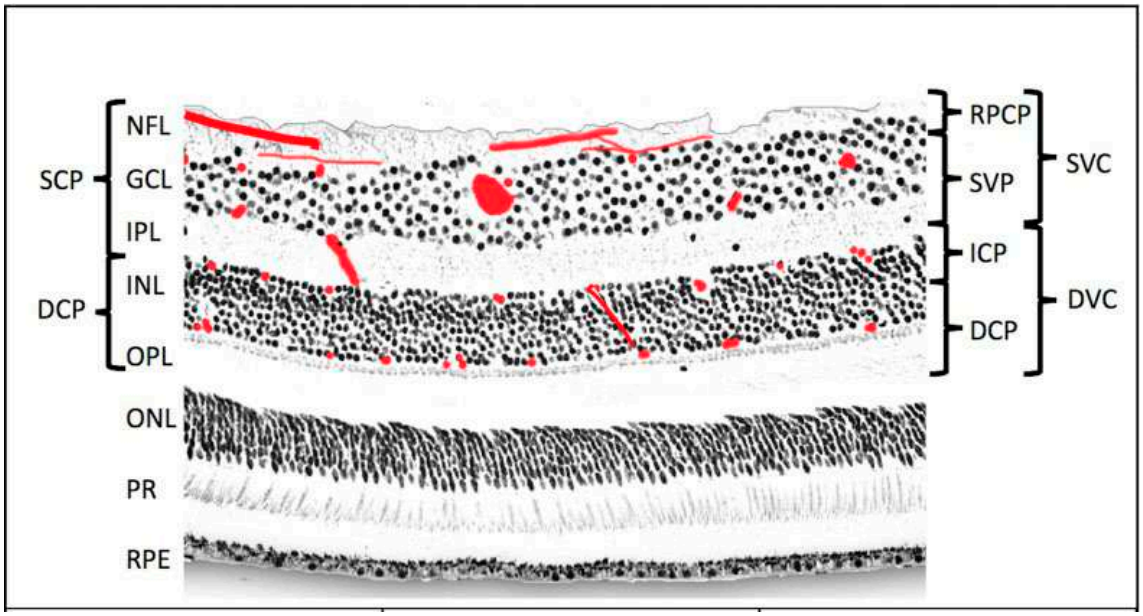
La circulación retiniana se organiza en varios plexos capilares intrarretinianos distribuidos a diferentes niveles de la retina, con el fin de satisfacer las elevadas demandas metabólicas de sus capas internas. La retina, como extensión del sistema nervioso central, comparte importantes similitudes anatómicas y fisiológicas con el tejido cerebral, y la microvasculatura retiniana presenta características comunes con la microvasculatura cerebral. Por ello, la retina se ha propuesto como un modelo accesible para estudiar alteraciones neurovasculares y microvasculares relacionadas con el sistema nervioso central (87, 88).

En este contexto, los cambios en la microvasculatura retiniana se han asociado con diversas enfermedades sistémicas. Entre los ejemplos más conocidos se incluyen el estrechamiento arteriolar en la hipertensión arterial, la presencia de microaneurismas y hemorragias en la retinopatía diabética, y las alteraciones microvasculares vinculadas a enfermedad de pequeño vaso cerebral y mayor riesgo de ictus (89).

Desde el punto de vista anatómico, la microvasculatura retiniana puede describirse como un sistema compuesto por varios plexos intrarretinianos: el plexo capilar radial peripapilar, el plexo vascular superficial (PVS), el plexo vascular intermedio (PVI) y el plexo vascular profundo (PVP), cuya presencia y distribución varían según la región retiniana analizada (90). El PVS se localiza principalmente en la capa de fibras nerviosas y la capa de células ganglionares, mientras que el PVI y el PVP se sitúan en niveles más profundos, principalmente en relación con la capa nuclear interna y la capa plexiforme externa. Aunque la OCTA permite diferenciar estos plexos con mayor detalle, en la práctica clínica y en muchos estudios de imagen se emplea una simplificación funcional basada en dos complejos vasculares principales: PVS y PVP. En el presente estudio se adoptó esta aproximación.

Figura 3. Distribución anatómica de los plexos vasculares retinianos mediante OCT y su correspondencia con OCTA. NFL: capa de fibras nerviosas; GCL: capa de células ganglionares; IPL: capa plexiforme interna; INL: capa nuclear interna; OPL: capa plexiforme externa y fibras de Henle; ONL: capa nuclear externa; PR: capa de fotorreceptores; RPE: epitelio pigmentario de la retina. RPCP: plexo capilar peripapilar radial; SVP: plexo vascular superficial; ICP: plexo

capilar intermedio; DCP: plexo capilar profundo. Extraído de la referencia 90.



Por debajo de la retina neurosensorial se encuentra la coroides, una estructura altamente vascularizada que puede dividirse en la coriocapilaris, la capa de Sattler y la capa de Haller. La coriocapilaris constituye la capa vascular más interna de la coroides y está formada por una red capilar fenestrada situada adyacente a la membrana de Bruch y al epitelio pigmentario de la retina. Esta red presenta una disposición lobular y un flujo sanguíneo elevado, y su función principal es proporcionar oxígeno y nutrientes a la retina externa, especialmente a los fotorreceptores y al epitelio pigmentario, así como contribuir a la eliminación de productos de desecho y al mantenimiento de la homeostasis metabólica y térmica de la retina externa (91, 92). Las capas más profundas de la coroides están formadas por la capa de Sattler, compuesta por vasos de calibre intermedio, y la capa de Haller, constituida por vasos de mayor calibre, responsables de la conducción del flujo sanguíneo coroideo y del drenaje hacia las venas vorticosas (92).

En conjunto, la retina presenta una doble irrigación: la retina interna depende principalmente de la circulación retiniana, mientras que la retina externa, relativamente avascular, recibe su aporte metabólico por difusión desde la circulación coroidea a través del epitelio pigmentario y la membrana de Bruch (89, 91).

1.3.3.2 Principios de la angiografía por tomografía de coherencia óptica.

La OCTA constituye una extensión funcional del OCT que permite visualizar la microvasculatura retiniana sin necesidad de contraste intravenoso. Esta técnica detecta el flujo sanguíneo analizando las variaciones en la señal de OCT generadas por el movimiento de los eritrocitos entre múltiples escaneos consecutivos del mismo punto retinal (93).

Mediante algoritmos de segmentación, las plataformas OCTA permiten separar la señal angiográfica correspondiente a diferentes capas retinianas y calcular parámetros cuantitativos como la densidad vascular, las áreas de no perfusión y las dimensiones de la zona avascular foveal (ZAF), así como detectar y cuantificar áreas de neovascularización retiniana o coroidea (94).

Entre las principales limitaciones de la OCTA se incluyen su sensibilidad a artefactos de movimiento, errores de segmentación, artefactos de proyección y la dependencia de la calidad de la señal. Además, las métricas derivadas de OCTA representan índices indirectos de perfusión, ya que la técnica no mide de forma directa la velocidad ni el volumen absoluto del flujo sanguíneo. Métodos complementarios, como el Doppler OCT, pueden estimar parámetros hemodinámicos adicionales, aunque su aplicación clínica rutinaria continúa siendo limitada (94, 95).

1.3.3.4. Densidad vascular y capilar.

La densidad vascular (DV) se cuantifica midiendo el porcentaje del área del plexo capilar retiniano ocupada por píxeles con señal de flujo en imágenes *en face* de OCTA, distinguiendo píxeles vasculares de no vasculares; esta es la métrica estándar en sistemas comerciales como Topcon (96).

Debe tenerse en cuenta que la resolución transversal de los sistemas comerciales de OCTA, situada aproximadamente en el rango de 15–20 µm, puede ser superior al diámetro real de los capilares retinianos, estimado en torno a 5–10 µm. Como consecuencia, los capilares pueden aparecer ensanchados en las imágenes OCTA, produciendo una sobreestimación aparente del calibre vascular respecto a la histología (97).

Una reducción de la DV indica generalmente menor área capilar perfundida, sugiriendo pérdida capilar o zonas de no perfusión; sin embargo, también puede deberse a flujo lento o calibre, baja calidad de señal, errores de segmentación o vasos por debajo del umbral de detección. Por ello, la VD debe considerarse un marcador indirecto de perfusión, más que una medida anatómica exacta de la red vascular (94, 96).

Además de la DV, alteraciones morfológicas como microaneurismas, zonas de no perfusión, capilares dilatados o neovascularización aportan información diagnóstica clave para distintas enfermedades retinianas (96, 98).

1.3.3.5. Visualización de la microvasculatura en OCTA

Para el análisis de la microvasculatura mediante OCTA, los plexos intrarretinianos se agrupan habitualmente en dos complejos vasculares principales: el PVS y el PVP. Esta simplificación responde a razones prácticas relacionadas con la segmentación automática de las imágenes (90). El límite entre ambos complejos se sitúa generalmente en la interfase entre la capa plexiforme interna y la capa nuclear interna, lo que permite obtener angiogramas independientes de cada red capilar.

En la fóvea, ambos plexos convergen en un anillo capilar que rodea la ZAF. La cuantificación de la ZAF mediante OCTA puede verse afectada por factores como la longitud axial, la escala de imagen y el método de segmentación, por lo que no existe una metodología completamente uniforme entre estudios (99). El ensanchamiento de la ZAF se interpreta habitualmente como un marcador indirecto de pérdida capilar (100). Por este motivo, y ante la variabilidad de los métodos automáticos de detección, en el presente estudio se optó por la delineación manual por evaluadores expertos

En OCTA, las imágenes en face de la coriocapilaris se generan habitualmente segmentando la membrana de Bruch y situando un segundo límite varios micrómetros por debajo de esta, creando un slab fino de aproximadamente 10–30 µm de espesor, lo que denominamos plexo vascular de la coriocapilar (PVC). A diferencia de los plexos retinianos, la coriocapilaris no se visualiza como vasos capilares individualizados, sino como un patrón granular de áreas hiper e hiporreflectivas alternantes. Las zonas hiperreflectivas se interpretan como regiones con flujo preservado, mientras que las áreas hiporreflectivas, denominadas flow voids, pueden reflejar reducción del flujo o pérdida capilar (94, 101).

La evaluación de la coriocapilaris puede verse afectada por artefactos de sombreado producidos por vasos retinianos suprayacentes o por estructuras patológicas, como drusas, alteraciones del epitelio pigmentario o neovascularización coroidea. Aunque los sistemas swept-source OCT y los algoritmos de reducción de artefactos de proyección han mejorado parcialmente estas limitaciones, la cuantificación de la coriocapilaris sigue dependiendo de la calidad de señal, la segmentación, la compensación de sombra y el método de umbralización utilizado (94, 102).

Desde el punto de vista fisiológico y clínico, la perfusión de la coriocapilaris puede variar con la edad y con factores sistémicos, y se ha relacionado con distintas patologías oculares. Por ejemplo, la miopía alta se ha asociado con reducción de la densidad capilar retiniana y aumento de déficits de flujo en la coriocapilaris, mientras que la degeneración macular asociada a la edad se ha relacionado histológicamente con pérdida de coriocapilaris, especialmente en fases avanzadas o en áreas de atrofia (103, 104).

1.4. La retina como biomarcador no invasivo de la salud vascular y cerebral

1.4.1. Retina como reflejo de la salud vascular

La retina constituye un modelo especialmente útil para evaluar la salud microvascular sistémica, ya que permite observar de forma directa y no invasiva arteriolas, vénulas y capilares mediante técnicas de imagen ocular gracias a la transparencia ocular.

1.4.1.1. Retinografía: evaluación estructural de la microvasculatura sistémica

Los cambios en el calibre de los vasos retinianos han sido ampliamente estudiados en relación con los factores de riesgo cardiovascular. En particular, el aumento de la presión arterial se ha asociado de forma consistente con el estrechamiento arteriolar retiniano, reflejando un estado de vasoconstricción periférica sistémica (105, 106).

Un ejemplo destacado es el estudio poblacional EPIC-Norfolk Eye Study, que analizó imágenes retinianas en 7.411 participantes con múltiples factores de riesgo cardiovascular. Este estudio mostró que los factores de riesgo cardiometabólico se asocian con cambios en la tortuosidad y el calibre venular, mientras que los factores de riesgo ateroscleróticos se relacionan principalmente con el calibre arteriolar (107).

Asimismo, distintos estudios han demostrado que marcadores de dislipidemia se asocian con dilatación venular retiniana (108). De forma similar, la obesidad se ha relacionado con un aumento del calibre venular y una reducción del calibre arteriolar retiniano (109, 110).

En la diabetes mellitus, los cambios en la microvasculatura retiniana reflejan la afectación microvascular sistémica. La dilatación venular se correlaciona con la gravedad de la retinopatía y puede predecir su progresión, probablemente en relación con fenómenos de hipoxia crónica y disfunción endotelial (111, 112). Además, alteraciones metabólicas como niveles elevados de colesterol, mayor índice de masa corporal o mal control glucémico se han asociado con vénulas más anchas y cambios en la arquitectura vascular retiniana (107).

En pacientes con enfermedad renal crónica, la retinopatía es más frecuente incluso tras ajustar por factores de riesgo tradicionales como diabetes o proteinuria. Además, su gravedad se ha relacionado con la disminución de la tasa de filtración glomerular y con la progresión de la enfermedad renal (113, 114).

En conjunto, estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la microvasculatura retiniana puede actuar como un biomarcador accesible de alteraciones vasculares sistémicas, reflejando procesos de disfunción endotelial y daño microvascular presentes en múltiples enfermedades cardiovasculares y metabólicas (115, 116).

La retinografía ha evolucionado desde un enfoque predominantemente descriptivo hacia un modelo cuantitativo apoyado en inteligencia artificial, capaz de identificar patrones vasculares no detectables mediante evaluación clínica convencional. Algoritmos de *deep learning* han demostrado una notable capacidad para predecir factores de riesgo cardiovascular y eventos sistémicos a partir de imágenes retinianas, integrando múltiples biomarcadores microvasculares en modelos predictivos complejos en varios ámbitos de la medicina (117-119)

En el contexto del COVID-19, algunos estudios describieron alteraciones retinianas mediante retinografía. Uno de los más citados es el estudio de Invernizzi et al., que analizó 54 pacientes aproximadamente 30 días tras el inicio de los síntomas. En este trabajo se observaron hemorragias retinianas en el 9,3% de los pacientes, exudados algodonosos en el 7,4% y drusas en el 11,1%. Además, en la exploración funduscópica se describieron venas dilatadas en el 27,7% de los casos y vasos tortuosos en el 12,9%. Asimismo, los pacientes con COVID-19 presentaron mayores diámetros arteriales y venosos medios en comparación con sujetos no expuestos (19).

No obstante, estos hallazgos deben interpretarse con cautela, ya que estudios posteriores no reprodujeron de forma consistente estos resultados. Además, el reducido tamaño muestral y la elevada prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en la cohorte, como hipertensión arterial y diabetes mellitus, pudieron actuar como factores de confusión.

1.4.4.1.2. Tomografía de coherencia óptica: caracterización estructural retiniana

En los últimos años, la OCT ha emergido como una herramienta relevante para la evaluación de alteraciones estructurales retinianas y coroideas asociadas a enfermedades vasculares sistémicas. En pacientes con hipertensión arterial se han descrito cambios en parámetros de OCT, incluyendo adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas retinianas, reducción del volumen macular y afectación del complejo de células ganglionares (120).

Más recientemente, se ha descrito una mayor prevalencia de lesiones isquémicas perivasculares retinianas compatibles con lesiones crónicas de PAMM (Maculopatía Media Aguda Paracentral) en pacientes con hipertensión, incluso en casos leves, lo que sugiere su posible utilidad como marcador precoz de afectación microvascular retiniana (121). Estas lesiones también se han asociado con ictus subcortical y mayor carga de enfermedad de pequeño vaso cerebral, reforzando la relación entre la microvasculatura retiniana y cerebral (122).

Además, factores de riesgo cardiovascular y la presencia de enfermedad cardiovascular subclínica se han relacionado con cambios en el grosor macular y en la capa de fibras nerviosas retiniana (123, 124). También se ha descrito una reducción del grosor coroideo en pacientes con enfermedad coronaria en comparación con sujetos sanos, lo que podría reflejar una afectación vascular sistémica con expresión en la circulación coroidea (125).

1.4.4.1.3. Angiografía por OCT: cuantificación de la microvasculatura retiniana

La OCTA se ha consolidado como una herramienta clave para la evaluación no invasiva de la microvasculatura retiniana en enfermedades sistémicas.

En el contexto de la diabetes, la OCTA reproduce hallazgos clásicos observados en la angiografía con fluoresceína, como microaneurismas, neovascularización, dilatación capilar y áreas de no perfusión. En fases tempranas, incluso antes de la aparición de retinopatía diabética clínica, se han descrito alteraciones cuantitativas en la región perifoveal. Ragkousis et al. observaron una reducción de la DV alrededor de la ZAF, especialmente en el área perifoveal, proponiéndola como posible biomarcador de retinopatía diabética preclínica (126). Fleissig et al. también describieron aumento del área de la ZAF y cambios de no perfusión foveal en pacientes con diabetes tipo 1 y tipo 2 sin signos clínicos de retinopatía diabética (127). De forma concordante, en individuos con prediabetes, un metaanálisis reciente observó un aumento del área de la ZAF en comparación con controles normoglucémicos (128). Además, métricas de la coriocapilaris, combinadas con parámetros retinianos, han mostrado mejorar la discriminación entre sujetos sin diabetes, pacientes diabéticos sin retinopatía y pacientes con retinopatía diabética, lo que sugiere una posible afectación coroidea temprana (129).

En pacientes con diabetes y afectación renal, las alteraciones en OCTA también parecen reflejar daño microvascular sistémico. En diabetes tipo 1, se han descrito asociaciones entre enfermedad renal diabética y parámetros OCTA como menor DV superficial, cambios en la ZAF y alteraciones en la densidad/perfusión capilar, en relación con marcadores renales como el filtrado glomerular estimado y la relación albúmina/creatinina (130, 131).

En otras patologías retinianas vasculares, como la oclusión de vena retiniana, el área de no perfusión medida mediante OCTA se correlaciona con la angiografía con fluoresceína y presenta valor pronóstico en la agudeza visual (132, 133).

En hipertensión arterial sistémica, un metaanálisis mostró una reducción de la DV tanto en el SCP como en el DCP, junto con cambios en parámetros de la ZAF, lo que apoya la existencia de afectación microvascular retiniana medible mediante OCTA (134). Además, estudios con swept-source OCTA han descrito cambios en la coriocapilaris en pacientes hipertensos, incluyendo alteraciones en déficits de flujo o perfusión coriocapilar (135, 136). De forma más

específica, Chua et al. observaron que una menor densidad capilar superficial se asociaba con marcadores de remodelado cardíaco adverso, incluyendo mayor masa ventricular izquierda y fibrosis miocárdica en pacientes con hipertensión (137).

En pacientes con enfermedad coronaria, diversos estudios han evidenciado una disminución significativa de la DV superficial y del flujo en la coriocapilar, asociándose estos cambios con un peor estado cardiovascular (137-139), si bien el papel del plexo profundo y de la ZAF en esta patología aún requiere mayor investigación.

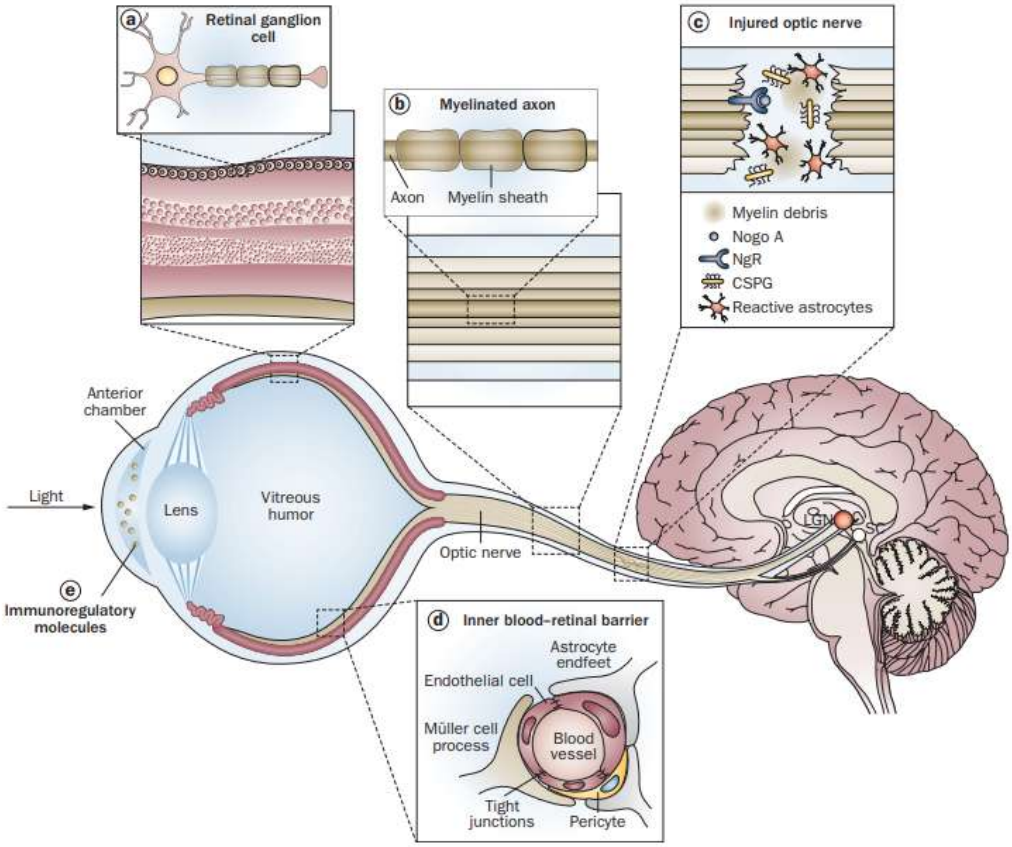
1.4.2. Retina como ventana al sistema nervioso central

La conocida expresión “los ojos son la ventana del alma” se ha relacionado tradicionalmente con ideas atribuidas a filósofos clásicos como Cicerón, quien describía los ojos como intérpretes del estado interior de la persona. Desde una perspectiva científica moderna, esta idea adquiere un significado diferente: la retina, que tapiza la superficie interna del ojo, constituye una extensión anatómica y embriológica del sistema nervioso central.

Las células ganglionares retinianas y sus axones, que forman el nervio óptico, comparten características estructurales, vasculares e inmunológicas con el cerebro. Por ello, la retina se ha considerado una “ventana al cerebro”, y su estudio mediante técnicas de imagen ocular se ha propuesto como un método no invasivo para investigar procesos neurológicos y neurodegenerativos (140).

Figura 4. Extraída de London et al (140). Cómo el ojo constituye una extensión del SNC. A: las células ganglionares retinianas, presentan características estructurales comparables a las neuronas del SNC. B: Los axones de estas células, mielinizados por oligodendrocitos tras atravesar el globo ocular, constituyen el nervio óptico, que proyecta hacia el núcleo geniculado lateral (LGN) y el colículo superior (SC). (c) El daño en el nervio óptico limita la regeneración axonal también de las células no afectadas. (d,e) La barrera hematorretiniana interna es equivalente a la barrera hematoencefálica (d), y existen moléculas con función inmunorreguladora equivalentes (e). Abreviaturas: CSPG, proteoglicano de sulfato de

condroitina; LGN, núcleo geniculado lateral; NgR, receptor Nogo; SC, colículo superior.



1.4.2.1. Retinografía y su uso en enfermedades neurológicas

Diversos estudios han sugerido que las alteraciones de la microvasculatura retiniana podrían reflejar procesos de enfermedad de pequeño vaso cerebral y relacionarse con el deterioro cognitivo, lo que apoya el uso potencial de la retinografía como biomarcador accesible de patología neurovascular.

En el seguimiento longitudinal del estudio ARIC, Lesage et al. analizaron 803 participantes con retinografía y cuatro evaluaciones cognitivas. La presencia de signos de retinopatía y de estrechamiento arteriolar focal se asoció con un mayor deterioro cognitivo, especialmente en el *Word Fluency test* y en el *Digit Symbol Substitution test*, pruebas relacionadas con función ejecutiva y velocidad de procesamiento, dominios sensibles a la enfermedad microvascular cerebral (141).

En la misma cohorte, Wong et al. mostraron que las anomalías microvasculares retinianas, incluyendo microaneurismas, hemorragias retinianas y exudados algodonosos, se asociaban con mayor riesgo de ictus incidente, apoyando la relación entre daño microvascular retiniano y enfermedad cerebrovascular (142). Asimismo, Kawasaki et al. observaron que la retinopatía y el cruce arteriovenoso patológico se asociaban con mayor riesgo de agrandamiento ventricular cerebral a 10 años, lo que sugiere enfermedad microvascular de localización subcortical (143).

No obstante, las medidas estructurales simples, como el calibre arteriolar o venular, han mostrado resultados menos consistentes. En el Rotterdam Study, de Jong et al. observaron

que el ensanchamiento venular se asociaba con mayor riesgo de demencia vascular, aunque no todos los parámetros de calibre mostraron asociaciones robustas con deterioro cognitivo o demencia (144). De forma similar, la revisión sistemática de McGrory et al. concluyó que la evidencia sobre retinografía y demencia es heterogénea, y que las medidas cuantitativas simples de la vasculatura retiniana no muestran una asociación consistente con los desenlaces cognitivos. En conjunto, estos hallazgos sugieren que los signos clínicos de retinopatía podrían reflejar daño microvascular cerebral de forma más directa que el calibre vascular aislado (145).

1.4.2.2. La tomografía de coherencia óptica y su uso en enfermedades neurológicas

En los últimos años, la OCT se ha consolidado como herramienta no invasiva clave para el análisis estructural de la retina, gracias a su capacidad para visualizar con precisión su organización laminar especializada y detectar alteraciones sutiles en las capas neuronales.

La OCT no solo identifica cambios cualitativos como hiperreflectividades en capas internas, desorganización arquitectural o daño axonal, sino que también permite mediciones cuantitativas objetivas del grosor y volumen de las capas retinianas mediante algoritmos de segmentación automatizada.

En la esclerosis múltiple, la OCT cuantifica con precisión el adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas retinianas peripapilar y del complejo ganglionar interno plexiforme, más marcado en ojos con historia de neuritis óptica, pero detectable incluso sin ella, lo que indica neurodegeneración subclínica (146-148). Además, la atrofia de capas retinianas se ha relacionado con medidas de atrofia cerebral por resonancia magnética y con la progresión de la enfermedad, reforzando el valor de la OCT como biomarcador estructural de neurodegeneración en esclerosis múltiple (147, 148).

En la enfermedad de Parkinson, incluso cuando la agudeza visual puede permanecer relativamente preservada, se han descrito alteraciones de la sensibilidad al contraste y otros parámetros de función visual (149). Estudios de OCT han observado adelgazamiento de la RNFL y de capas retinianas internas en comparación con controles sanos (150, 151). Estos hallazgos han sido respaldados por metaanálisis que muestran una reducción significativa del grosor medio de la RNFL en pacientes con Parkinson frente a controles (152).

En la enfermedad alzhéimer se ha identificado la acumulación anómala de β-amiloide y proteína tau fosforilada en tejido retiniano, reproduciendo parcialmente, el fenotipo neuropatológico (153). Asimismo, estudios con OCT han observado con pérdida de células ganglionares, adelgazamiento de la capa de fibras nerviosas retinianas (154, 155) y una reducción del volumen macular, que se correlaciona con tests que miden el deterioro cognitivo (154). Estos hallazgos han sido respaldados por un metaanálisis que incluyó 30 estudios, con 1257 pacientes con Alzheimer, 305 con deterioro cognitivo leve y 1460 controles, en el que se observó adelgazamiento significativo del complejo de células ganglionares, la capa GC-IPL y la RNFL peripapilar, así como reducción del volumen macular y menor grosor coroideo en comparación con controles sanos (156).

1.4.2.3. La angiografía por OCT y su uso en enfermedades neurológicas

Como se ha señalado previamente, las alteraciones de la microvasculatura retiniana se han relacionado con la presencia y progresión de enfermedad de pequeño vaso cerebral, pudiendo actuar como marcadores indirectos de daño neurovascular (157).

En este contexto, la OCTA ha permitido estudiar de forma no invasiva la microcirculación retiniana y su relación con el deterioro cognitivo. Un metaanálisis reciente mostró que los pacientes con enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo leve presentan una menor DV del PVS y un aumento del área de la ZAF en comparación con controles sanos (158). Estudios individuales en Alzheimer y deterioro cognitivo leve también han descrito reducción de la DV macular, alteraciones de la ZAF y cambios neurodegenerativos retinianos asociados a deterioro cognitivo (159-161).

En enfermedad de Parkinson, Kwapong et al. aplicaron OCTA en pacientes en fases iniciales y observaron una disminución de la densidad microvascular parafoveal en el PVS, asociada además con adelgazamiento del complejo de células ganglionares y plexiforme interno (162). Resultados posteriores han confirmado alteraciones de la microvasculatura macular en Parkinson, incluyendo reducción de la DV superficial y de la densidad de perfusión parafoveal en comparación con controles (163). Murueta-Goyena et al. describieron un remodelado foveal de la microvasculatura retiniana en Parkinson, con alteraciones del lecho vascular alrededor de la ZAF y cambios parafoveales relacionados con adelgazamiento de capas retinianas internas (164).

En la esclerosis múltiple, la OCTA también ha mostrado alteraciones microvasculares retinianas. Murphy et al. describieron una reducción de la DV del PVS en ojos con esclerosis múltiple, tanto con o sin antecedente de neuritis óptica. Además, una menor densidad del PVS se asoció con peor función visual, mayor duración de la enfermedad y mayor discapacidad neurológica (165). Otros estudios han descrito disminución de la DV peripapilar y alteraciones en el plexo capilar radial peripapilar, especialmente en formas remitente-recurrentes o en estadios más avanzados, aunque los resultados sobre la ZAF no han sido consistentes entre estudios.

En el contexto del síndrome post-COVID, esta evidencia resulta especialmente relevante, ya que las alteraciones microvasculares retinianas podrían reflejar mecanismos de disfunción microvascular implicados en las secuelas neurocognitivas descritas tras la infección por SARS-CoV-2.

2. JUSTIFICACIÓN

El ojo constituye una ventana única para el estudio de la salud sistémica, ya que permite la evaluación directa y no invasiva del sistema microvascular. En la última década, numerosos estudios han demostrado que muchas alteraciones estructurales de la retina reflejan procesos patológicos sistémicos (166). En este contexto, la retina ofrece una oportunidad especialmente relevante para explorar enfermedades con afectación endotelial y microvascular, como la enfermedad por Coronavirus 2019 (COVID-19).

El COVID-19, causada por el virus SARS-CoV-2 y descrita inicialmente en Wuhan (China) a finales de 2019, fue declarada pandemia por la Organización Mundial de la Salud en marzo de 2020 (167). Tras el impacto inicial de la fase aguda, la evolución temporal de la pandemia puso de manifiesto una nueva realidad clínica: el *long* COVID, cuyos mecanismos fisiopatológicos aún no se comprenden completamente (168).

Las manifestaciones sistémicas del COVID-19 van más allá del aparato respiratorio e incluyen complicaciones cardiovasculares (169), renales (170), hepáticas, gastrointestinales, neurológicas y microvasculares, con afectación de órganos como la piel y la retina (9, 171, 172). Un elemento central en su fisiopatología es la interacción con el receptor ACE2, ampliamente expresado en el endotelio vascular, y que genera un desequilibrio del eje renina-angiotensina, favoreciendo vasoconstricción, inflamación, estrés oxidativo y fibrosis (9, 10, 11, 30, 172). Paralelamente, la activación del sistema del complemento y la liberación de citocinas, especialmente la IL-6, contribuyen a un estado proinflamatorio, promoviendo la formación de microtrombos y daño microvascular difuso (173–175).

La disfunción endotelial y la afectación microvascular parecen ser elementos clave tanto en la fase aguda como en las manifestaciones persistentes de la enfermedad. El *long* COVID se asocia a síntomas como fatiga, disautonomía, y alteraciones neurocognitivas, vinculados a inflamación persistente y desregulación inmunitaria (176–179). Estudios de neuroimagen han descrito adelgazamiento cortical, alteraciones en la sustancia blanca y cambios en redes funcionales (180–181). Asimismo, factores como la gravedad de la infección o la hipoxia pueden contribuir al deterioro cognitivo observado en el *long* COVID (182–183).

En este escenario, las técnicas de imagen oftalmológica, como la retinografía, la OCT y la OCTA, son herramientas rápidas, reproducibles y no invasivas para el estudio *in vivo* de la microvasculatura retiniana, y potencialmente, de la microvasculatura cerebral y sistémica. En particular, la OCTA permite analizar en detalle los distintos plexos vasculares retinianos sin necesidad de contraste intravenoso, lo que la convierte en una técnica especialmente útil para el estudio de enfermedades sistémicas con afectación microvascular (184).

Este proyecto se inició durante la fase aguda de la pandemia, lo que permitió la inclusión de pacientes desde el momento temprano de la infección y su posterior seguimiento longitudinal. Mediante un enfoque combinado, integrando un estudio prospectivo con seguimiento longitudinal y un estudio transversal en una cohorte independiente de pacientes con *long* COVID, este trabajo analiza de forma integral la afectación microvascular retiniana asociada al COVID-19. Este diseño permite explorar tanto los cambios iniciales tras la infección como su persistencia en el tiempo y su posible relación con las manifestaciones clínicas prolongadas.

3. HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis principal

La infección por el virus SARS-CoV-2 induce un daño endotelial que se manifiesta como alteraciones microvasculares en la retina. Estas alteraciones son detectables y cuantificables de forma no invasiva mediante angiografía por tomografía de coherencia óptica, y su magnitud está asociada a la gravedad clínica de la enfermedad.

3.2. Hipótesis secundarias

1. Las técnicas de imagen oftalmológica convencional, como la retinografía y la tomografía de coherencia óptica, muestran alteraciones atribuibles a la infección por SARS-CoV-2.
2. Los pacientes que han sufrido la infección por SARS-CoV-2 presentan una mayor incidencia de eventos vasculares o manifestaciones oftalmológicas clínicamente relevantes a lo largo del seguimiento.
3. Las alteraciones microvasculares retinianas se asocian con la persistencia de síntomas en *long* COVID, existiendo un perfil de alteración microvascular diferencial entre aquellos pacientes con y sin deterioro cognitivo.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo principal

Evaluar los efectos a largo plazo de la infección por SARS-CoV-2 sobre la microvasculatura retiniana, mediante el análisis de la densidad vascular retiniana utilizando OCTA.

4.2. Objetivos secundarios

1. Evaluar la presencia de alteraciones macroscópicas en el fondo de ojo observadas en retinografía.
2. Analizar las alteraciones estructurales retinianas mediante OCT.
3. Determinar la incidencia de eventos vasculares o manifestaciones oftalmológicas clínicamente relevantes durante el seguimiento.
4. Explorar la asociación entre las alteraciones microvasculares retinianas y la presencia de síntomas persistentes compatibles con *long* COVID con o sin deterioro cognitivo.

5. MÉTODO

5.1. Comité ético

El presente estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki. Todos los participantes proporcionaron consentimiento informado por escrito antes de su inclusión. La cohorte de pacientes con COVID-19 en España fue aprobada por el Comité de Ética del Hospital Universitario Vall d'Hebron (código PR (AG) 337/2020) y por el Comité de Ética del Institut d'Investigació en Atenció Primària Jordi Gol (IDIAPJGol; referencia 21/220-P).

5.2. Inclusión y selección de pacientes

5.2.1. Cohorte COVID

Diseñamos un estudio de casos y controles. Los participantes del grupo de casos fueron pacientes de entre 18 y 55 años con infección por SARS-CoV-2 confirmada mediante PCR en los 3 meses previos al momento de la inclusión. El estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario Vall d'Hebron (VHUH) (Barcelona, España), un centro terciario docente de 1100 camas, entre el 3 de junio de 2020 y el 7 de julio de 2020.

Los casos se dividieron en tres grupos: (a) grupo 1 — enfermedad leve: pacientes asintomáticos o paucisintomáticos con infección por SARS-CoV-2 confirmada por laboratorio que recibieron atención ambulatoria; (b) grupo 2 — enfermedad moderada: pacientes que requirieron ingreso hospitalario por neumonía por SARS-CoV-2 pero que no desarrollaron síndrome de distrés respiratorio agudo ni insuficiencia respiratoria y presentaron valores de IL-6 inferiores a 40 pg/mL durante el ingreso; (c) grupo 3 — enfermedad grave: pacientes que desarrollaron síndrome de distrés respiratorio agudo y requirieron ingreso en la UCI, con valores de IL-6 superiores a 40 pg/mL en algún momento durante la hospitalización.

El grupo control estuvo formado por sujetos sanos con serología negativa para SARS-CoV-2 y ausencia de síntomas virales en las cuatro semanas previas a la inclusión. El grupo control y el grupo 1 se seleccionaron aleatoriamente entre trabajadores sanitarios del VHUH con serologías negativas y positivas, respectivamente, y se emparejaron 1:1 por edad y sexo.

Para la selección de los pacientes con enfermedad moderada y grave se realizó un proceso de cribado secuencial a partir de los pacientes hospitalizados por infección por SARS-CoV-2. Inicialmente se identificaron 848 pacientes hospitalizados. De ellos, 432 no presentaron distrés respiratorio, mientras que 295 desarrollaron distrés respiratorio o fallo respiratorio. Entre los pacientes que sobrevivieron al episodio agudo (409 en el grupo sin distrés respiratorio y 156 en el grupo con distrés respiratorio), se evaluaron los niveles de IL-6. En el grupo sin distrés respiratorio, 165 pacientes presentaban IL-6 <40 pg/mL, mientras que en el grupo con distrés respiratorio 94 pacientes presentaban IL-6 >40 pg/mL.

Posteriormente se aplicó el criterio de edad del estudio (18–55 años), lo que redujo la muestra a 95 pacientes en el grupo sin distrés respiratorio y 27 pacientes en el grupo con distrés respiratorio. Finalmente, tras aplicar los criterios de exclusión oftalmológicos y sistémicos y

obtener el consentimiento para participar en el estudio, 24 pacientes fueron incluidos en el grupo de enfermedad moderada y 21 pacientes en el grupo de enfermedad grave.

Se seleccionó una muestra de conveniencia de aproximadamente 20 participantes por grupo con el objetivo de realizar un estudio exploratorio.

5.2.1.1 Seguimiento

Esta cohorte se siguió hasta abril de 2023, realizándose una visita basal y dos visitas de seguimiento, la primera a los 8 meses de la infección y la segunda aproximadamente a los 3 años. El tiempo medio de seguimiento total fue de aproximadamente 32,6 meses (+/- 1,7 meses) desde la infección inicial.

5.2.2. Cohorte *long* COVID

Se estableció una colaboración con el estudio *The Aliança ProHEpiC-19 Cognitiu* (APC) (185), un estudio prospectivo y longitudinal diseñado para evaluar el impacto del *long* COVID sobre la función cognitiva y la estructura cerebral. Los participantes fueron reclutados entre enero de 2022 y marzo de 2023 en centros de atención primaria y hospitales del área norte de Barcelona (España), donde se cuentan con redes de investigación especializadas en condiciones post-COVID. La cohorte incluyó individuos con síntomas persistentes tras infección por SARS-CoV-2, sujetos recuperados sin secuelas y controles no infectados. Los controles se seleccionan para igualar al grupo de casos en edad, sexo y otros factores relevantes, cumpliendo además los criterios específicos de cada grupo.

Para el presente subestudio de diseño transversal, se incluyeron participantes previamente seleccionados de la cohorte APC con edades comprendidas entre 20 y 70 años. Los pacientes con *long* COVID fueron definidos según los criterios de la Organización Mundial de la Salud. Se excluyeron aquellos con antecedentes neurológicos o psiquiátricos relevantes, abuso de sustancias, contraindicación para resonancia magnética o enfermedades oculares que pudieran afectar a la microvasculatura retiniana, de acuerdo con los criterios de exclusión detallados posteriormente.

El análisis oftalmológico se realizó entre el 25 de enero de 2023 y el 31 de julio de 2024. Inicialmente, se incluyeron 73 participantes de la cohorte que aceptaron someterse a la exploración oftalmológica. Posteriormente, se excluyeron 8 sujetos por criterios predefinidos: 1 por cicatriz macular en el ojo izquierdo, 5 por miopía magna y 2 por mala calidad de las imágenes, resultando en una muestra final de 65 participantes.

Los participantes se distribuyeron en cuatro grupos: (1) controles sin antecedente de COVID-19 (n = 10), (2) sujetos con antecedente de COVID-19 sin *long* COVID (n = 14), (3) pacientes con *long* COVID y deterioro cognitivo (n = 31) y (4) pacientes con *long* COVID sin deterioro cognitivo (n = 10). Todos los participantes con antecedente de infección presentaban diagnóstico confirmado de COVID-19 mediante PCR u otros métodos validados.

5.2.3. Criterios de exclusión para ambas cohortes

Se excluyeron del estudio los participantes con miopía magna (definida como un error refractivo mayor de -6 dioptrías) debido a su posible impacto en la salud retiniana y en las

imágenes. Asimismo, se excluyeron aquellos con patologías retinianas preexistentes, como retinopatía diabética o hipertensiva, para evitar efectos de confusión relacionados con estas enfermedades. Además, los participantes con trastornos vasculares sistémicos activos, como hipertensión maligna, mieloma múltiple o hiperglobulinemia, también fueron excluidos por su posible influencia significativa en la salud ocular y por comprometer los resultados del estudi*o.*

5.2.4. Integración de cohortes para análisis comparativ*o*

En el apartado 6.7 se realiza un análisis comparativo entre la cohorte COVID-19 evaluada en la visita basal, y la cohorte independiente *long* COVID. El objetivo de este análisis es explorar posibles diferencias entre los distintos grupos en relación con los parámetros oftalmológicos y microvasculares evaluados.

Con fines prácticos y con el objetivo de mantener tamaños muestrales comparables entre grupos, se procedió a una reorganización de las cohortes en tres categorías analíticas. Esta decisión se fundamenta además en los resultados obtenidos en los análisis longitudinales previos.

De este modo, se definieron tres grupos de análisis:

- Grupo 1: sujetos control y pacientes con infección leve por SARS-CoV-2 pertenecientes a la cohorte COVID (visita basal). En adelante, grupo 1 – Control/COVID leve.
- Grupo 2: pacientes con infección moderada o grave por SARS-CoV-2 de la cohorte COVID (visita basal). En adelante, grupo 2 – COVID severo.
- Grupo 3: pacientes pertenecientes a la cohorte *long* COVID, incluyendo casos con *long* COVID con y sin deterioro cognitivo. En adelante, grupo 3 – *Long* COVID

Finalmente, el tamaño muestral quedó constituido por 57 participantes en el grupo 1, 46 en el grupo 2 y 41 en el grupo 3.

5.3. Exámenes realizados

En la cohorte COVID, las imágenes correspondientes a la visita basal fueron evaluadas por tres examinadores entrenados y certificados de forma ciega, MAZ, DAR y SBG, mientras que en la primera visita de seguimiento por SBG, DAR y MAZ, y finalmente, en la segunda visita de seguimiento fueron analizadas por SBG, XGS y ERS.

En la cohorte de pacientes *long* COVID, las imágenes fueron evaluadas por SBG, AGG y MCC.

Las retinografías de ambas cohortes fueron analizadas mediante el *software* descrito a continuación, por JVQ, experto en inteligencia artificial aplicada a la vasculatura retiniana (Erasmus Medical Center, Erasmus MC; investigador postdoctoral en Oftalmología).

5.4. Retinografía

En cada exploración oftalmológica se obtuvo una retinografía en color centrada en la mácula con un campo de 50°, utilizando una cámara de fondo de ojo (Topcon Optical Company, Tokio, Japón), sin dilatación pupilar farmacológica.

5.4.1. Análisis cuantitativo

La segmentación y clasificación de los vasos retinianos a nivel píxel se realizó utilizando el modelo LWNET (186), una red neuronal profunda diseñada para la detección automática de la vasculatura retiniana en imágenes de fondo de ojo. La identificación de los segmentos vasculares se llevó a cabo mediante el *software* ARIA (187), que permite detectar y definir objetos vasculares individuales para su posterior análisis morfométrico. Asimismo, la localización del disco óptico se determinó mediante una red de *deep learning* basada en arquitecturas tipo U-Net (188), lo que permite una detección precisa de su posición y tamaño en la imagen.

Los diámetros arteriolares y venulares retinianos se cuantificaron mediante una técnica asistida por ordenador a partir de retinografías digitalizadas. Se midieron los calibres de los vasos que discurren en una zona anular definida alrededor del disco óptico. A partir de estas mediciones, se calcularon el *Central Retinal Artery Equivalent* (CRAE) y el *Central Retinal Vein Equivalent* (CRVE), que constituyen estimaciones estandarizadas del calibre medio de las arterias y venas retinianas principales.

Para su cálculo, en primer lugar, se determina la posición y el diámetro del disco óptico. Posteriormente, en una región comprendida entre 0,5 y 1 diámetros del disco óptico, se identifican los principales vasos retinianos y se seleccionan hasta seis arteriolas y seis vénulas. Para cada vaso, se calcula el diámetro medio a lo largo del segmento analizado. Finalmente, estos valores se combinan mediante fórmulas estandarizadas para obtener el CRAE y el CRVE, expresados en micrómetros. Este procedimiento ha sido ampliamente utilizado en estudios epidemiológicos de gran escala y ha sido adaptado para el análisis automatizado de imágenes retinianas en cohortes poblacionales como UK Biobank (189).

La tortuosidad vascular, que describe el grado de curvatura o sinuocidad de los vasos sanguíneos, se evaluó utilizando el *software* ARIA. Para cada segmento vascular se calculó el denominado *Distance Factor* (DF), definido como el cociente entre la longitud real del vaso siguiendo su trayectoria (s(C)) y la distancia lineal entre sus extremos (chord(C)).

$$DF = \frac{s(C)}{chord(C)}$$

Una vez obtenido este parámetro para cada vaso, se calculó la mediana de todos los segmentos presentes en la imagen como medida representativa de la tortuosidad retiniana global. Valores de DF cercanos a 1 indican vasos prácticamente rectos, mientras que valores más elevados reflejan un mayor grado de tortuosidad vascular. Este enfoque ha sido utilizado en estudios genómicos y epidemiológicos recientes para caracterizar la morfología vascular retiniana y su asociación con enfermedades oculares y cardiometabólicas (190).

5.4.2. Análisis cualitativo

Las imágenes de fondo de ojo tipo fueron revisadas por los observadores expertos descritos para cada cohorte y se anotó cualquier signo patológico o sugestivo de retinopatía.

5.5. OCT

Las exploraciones de OCT se realizaron utilizando un equipo *Swept-Source* OCT Triton (Topcon Corporation, Tokio, Japón) en condiciones fisiológicas pupilares, sin dilatación farmacológica.

Se adquirieron imágenes OCT de alta definición centradas en la mácula mediante un protocolo radial de 12 mm, así como un escaneo automático centrado en la fóvea que permitía incluir en una misma adquisición la región macular y el disco óptico.

Adicionalmente, se empleó el protocolo *Macular Cube*, que consiste en la adquisición de 256 cortes horizontales compuestos por 512 A-scans, generando un volumen tridimensional de 7 × 7 mm centrado en la fóvea. Este modo de adquisición permite cuantificar el volumen total de la región macular, denominado *Total Volume*, que representa el volumen de la retina neurosensorial dentro del área definida por el mapa ETDRS.

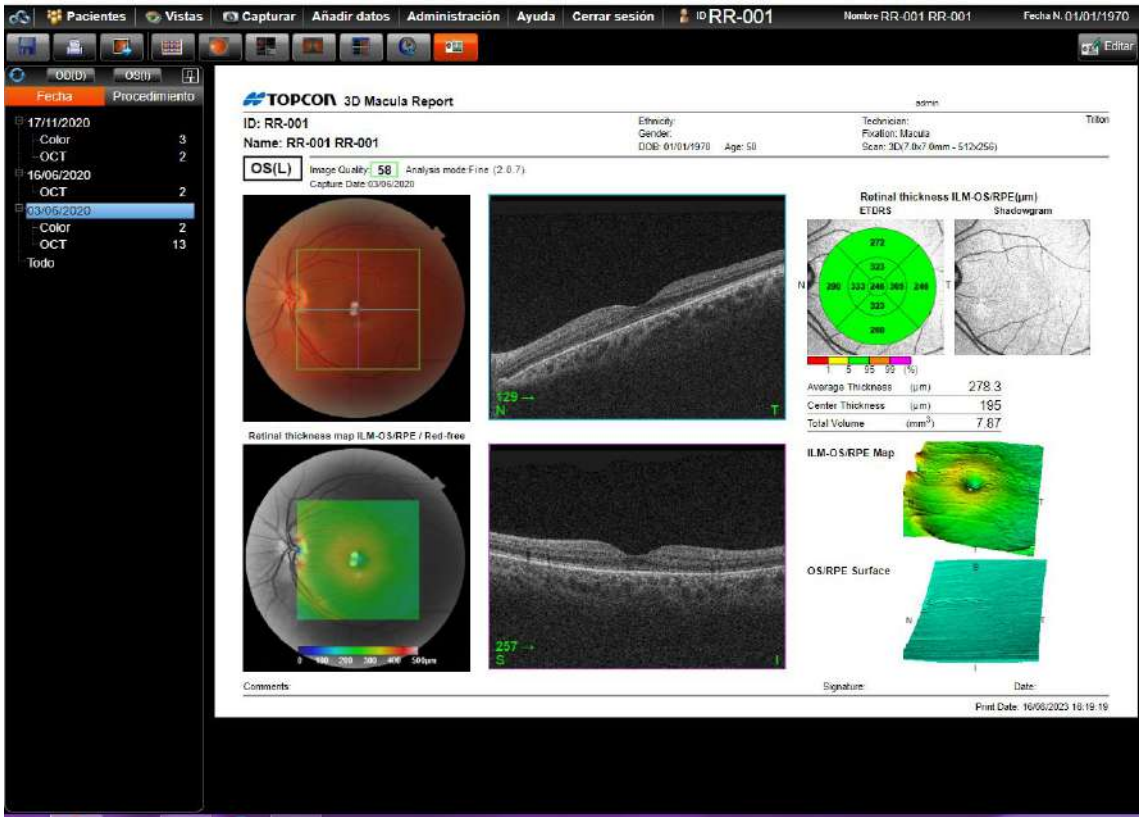
El *software* del equipo proporciona un mapa de grosor retiniano segmentado según los sectores del esquema ETDRS, acompañado de un código de colores que refleja la desviación respecto a la base de datos normativa integrada del dispositivo.

Las imágenes con artefactos de movimiento, segmentación o señal menor a 40 fueron excluidas.

5.5.1. Análisis cualitativo

A nivel cualitativo, todas las imágenes OCT fueron revisadas sistemáticamente en busca de alteraciones estructurales retinianas, incluyendo la presencia de bandas hiperreflectivas compatibles con procesos inflamatorios o isquémicos, hemorragias, así como alteraciones en la morfología o integridad de las distintas capas retinianas. Asimismo, se evaluó el mapa de grosor retiniano del ETDRS para identificar posibles desviaciones respecto a los valores de referencia de la base normativa, determinando si algún paciente presentaba valores fuera del rango considerado normal.

Figura 5. Ejemplo de OCT en un paciente del grupo de COVID severo. Se muestra el mapa de grosor retiniano, en el que predomina la codificación en color verde, indicativa de valores dentro del rango de referencia de la base normativa.



5.6. Angiografía por OCT

5.6.1. Mapas de densidad vascular

Recopilamos datos de la segmentación automática del PVS, el PVP y la DV del PVC en la región macular.

La capa del PVS fue automáticamente segmentada por el *software*: de la membrana limitante interna (ILM) a una profundidad de 2,6 µm hasta la capa plexiforme interna (IPL).

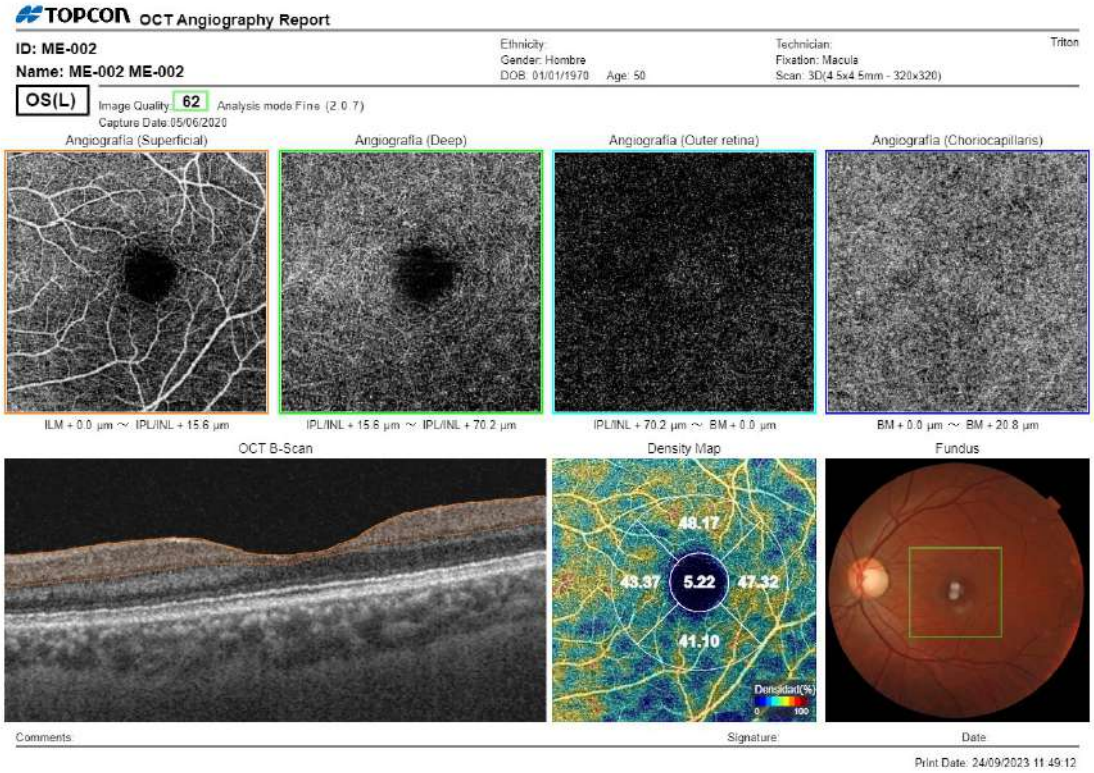


Figura 6. Esta es la imagen correspondiente de la DV del PVS de un participante del grupo COVID moderado.

La capa del PVP fue segmentada automáticamente por el *software* pero los datos para su delimitación fueron introducidos de forma manual: de la capa nuclear interna (INL) a una profundidad de 15,6 µm. IPL/INL a 15,6 µm a INL/capa plexiforme exterior a 70,2 µm.

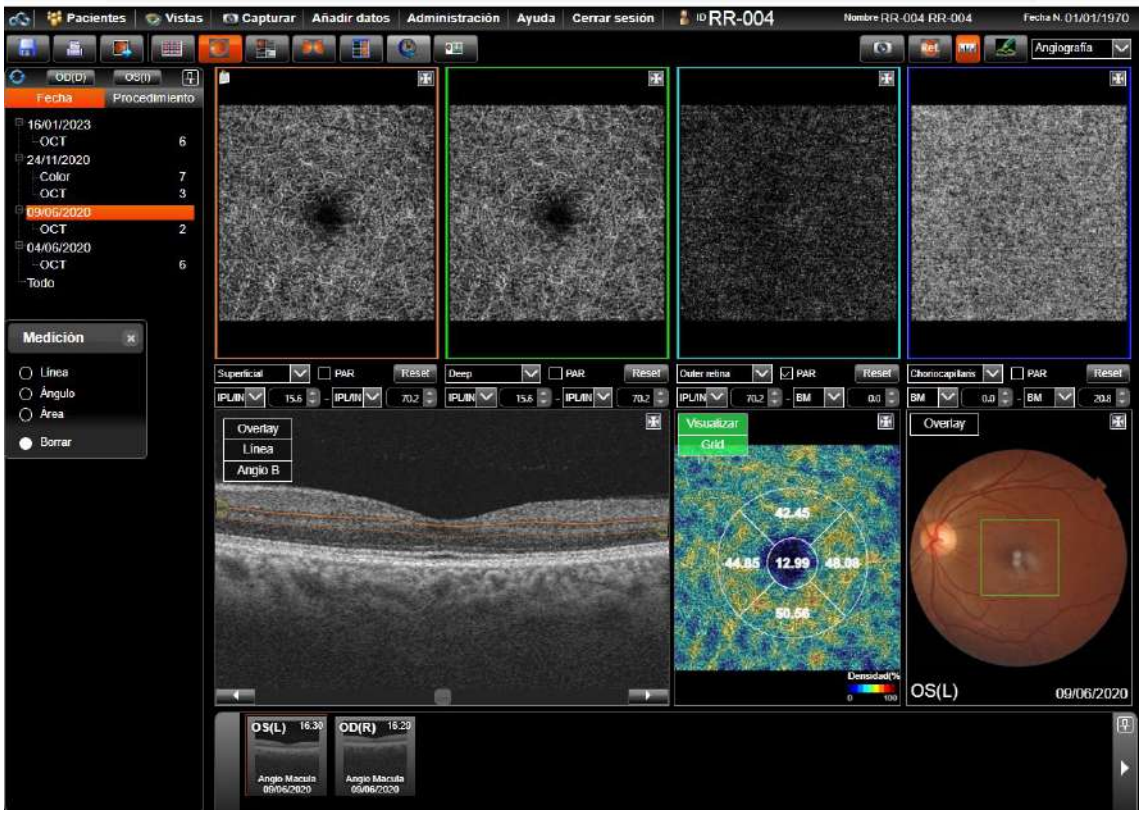


Figura 7. Esta es la imagen correspondiente de la DV del plexo profundo de un participante del grupo COVID severo.

Por último, el PVC: desde la membrana de Bruch hasta 20 µm en el espesor de la coroides.

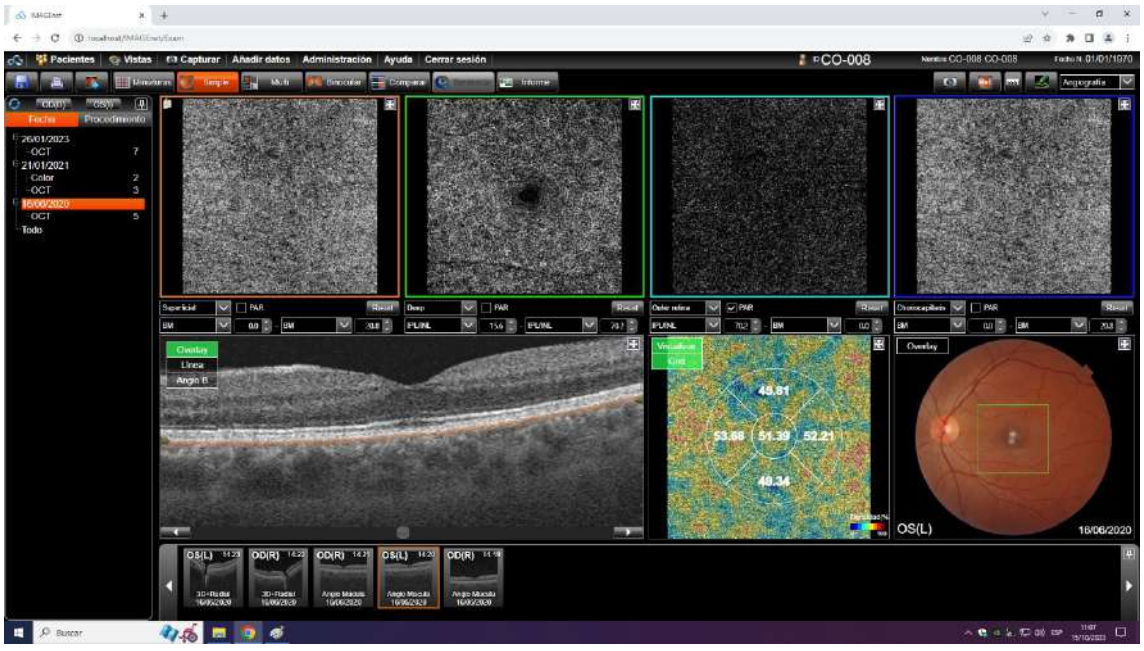


Figura 8. Esta es la imagen correspondiente de la DV del PVC de un participante del grupo control de la cohorte COVID.

El *software* calculó la DV proveyendo un mapa de áreas superior, inferior, nasal, temporal y central. Todas las capturas con un índice de intensidad de señal inferior a 40, incorrecta segmentación o movimiento se excluyeron.

5.6.2. Zona avascular foveal

5.6.2.1. Análisis cualitativo

Las imágenes de la ZAF se analizaron en busca de alteraciones anatómicas, tales como la presencia de muescas que interrumpieran su circularidad, así como de áreas avasculares perifoveales adyacentes a la ZAF ("zonas avasculares").

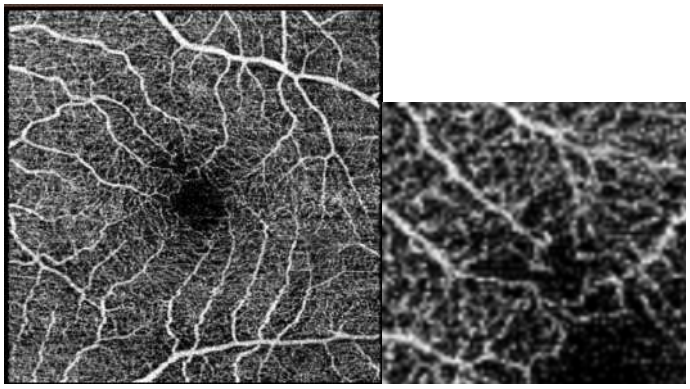


Figura 9. Paciente del grupo 3 (enfermedad severa) en el primer corte temporal. Se observa un área avascular en la región superonasal, adyacente a la zona avascular foveal.

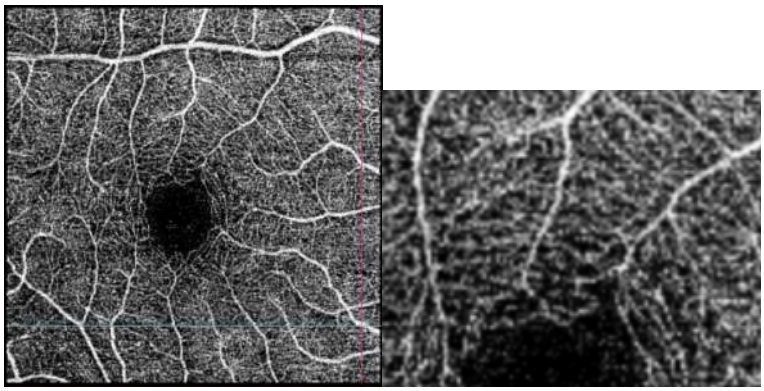


Figura 10. Paciente del grupo 3 (enfermedad severa) en el primer corte temporal. Se observa una irregularidad o "muesca" en el borde superior de la zona avascular foveal.

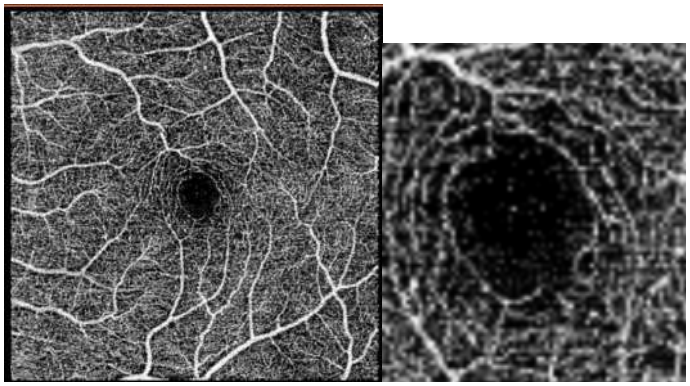


Figura 11. Paciente del grupo control en el tercer seguimiento. Exploración clasificada como sin hallazgos patológicos.

5.6.2.2. Análisis cuantitativo

El área de la zona avascular foveal se analizó mediante delineación manual de imágenes numeradas aleatoriamente mediante la herramienta *Calliper* del Triton *software* por los tres observadores ciegos en cada visita de seguimiento.

El área de la superficie se midió en µm cuadrados. No se realizó ninguna modificación de la imagen para aumentar el contraste o cambiar los colores antes de la delineación manual.

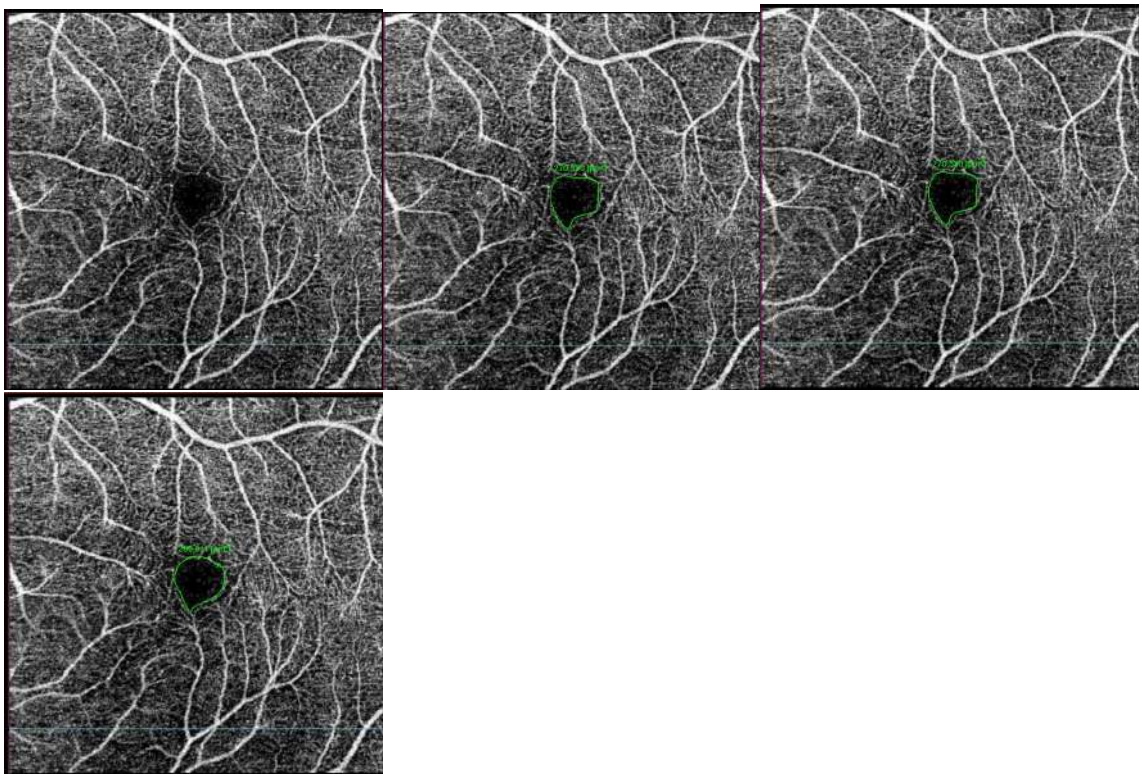


Figura 12. Ejemplo de medición manual del área de la zona avascular foveal en un sujeto de la cohorte COVID perteneciente a enfermedad leve. Se muestran las tres delineaciones independientes realizadas por observadores enmascarados utilizando la herramienta *Calliper* del *software* Triton. Las mediciones se efectuaron sobre imágenes sin modificaciones de contraste ni color, y el área se expresó en µm².

5.7. Entrevista

En la segunda y última visita de seguimiento de la cohorte COVID se incorporó una entrevista estructurada con el objetivo de identificar la presencia de síntomas persistentes compatibles con condición post-COVID-19 en los distintos grupos del estudio. Esta evaluación se diseñó tomando como referencia los criterios de la Organización Mundial de la Salud, que define la condición post-COVID-19 como la presencia de síntomas que aparecen habitualmente dentro de los tres meses posteriores al inicio de la infección por SARS-CoV-2, persisten durante al menos dos meses y no pueden explicarse por un diagnóstico alternativo (62).

El cuestionario fue administrado por el oftalmólogo encargado de la exploración oftalmológica, después de la realización de estas pruebas. Los investigadores (SBG, XGS y ERS) leyeron el cuestionario a los pacientes y registraron una o múltiples respuestas para cada una de las variables evaluadas.

Su inclusión respondió a la necesidad de caracterizar clínicamente la cohorte en el seguimiento y explorar si las posibles alteraciones retinianas observadas podían relacionarse con manifestaciones persistentes del COVID-19.

5.8. Estadística

5.8.1. Cálculo de la muestra

Cohorte COVID

No se realizó un cálculo formal del tamaño muestral, ya que el estudio tuvo un carácter exploratorio y estuvo orientado a generar evidencia preliminar sobre los cambios microvasculares retinianos tras la infección por SARS-CoV-2. Por ello, el tamaño de la muestra se determinó en función de la factibilidad y la disponibilidad de pacientes. El reclutamiento se llevó a cabo durante la fase inicial de la pandemia y en contexto de confinamiento, en un periodo marcado por importantes restricciones asistenciales y logísticas, con pacientes hospitalizados en UCI, una elevada presión sobre los profesionales sanitarios y una actividad clínica no urgente parcialmente limitada o suspendida. Estas circunstancias condicionaron de forma relevante la capacidad de reclutamiento y la realización de exploraciones oftalmológicas completas.

Cohorte long COVID

El tamaño muestral del nuevo estudio se estimó a partir de los datos obtenidos en el estudio previo, en el que se observaron diferencias en densidad capilar media entre los grupos de estudio. A partir de estas medias y desviaciones estándar se calculó un tamaño del efecto global para ANOVA de un factor de Cohen's f = 0,43. Asumiendo un nivel de significación de 0,05, una potencia del 90%, el tamaño muestral estimado fue de aproximadamente 81 participantes en total (lo que equivale a unos 20 por grupo). No obstante, dado el carácter exploratorio del estudio y consideraciones de factibilidad, se consideró adecuado un tamaño muestral aproximado de 17–20 sujetos por grupo.

5.8.2. Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa SPSS (versión 23.0).
La normalidad de las variables cuantitativas se evaluó mediante la prueba de Kolmogorov–Smirnov.

Las diferencias intra-cohorte de tipo transversal se analizaron en la cohorte COVID en cada una de las visitas (basal, primer seguimiento y segundo seguimiento), así como en la cohorte *long* COVID. Las variables cuantitativas con distribución normal se analizaron mediante análisis de la varianza (ANOVA) con corrección de Bonferroni, mientras que aquellas que no siguieron una

distribución normal se compararon utilizando la prueba de Kruskal–Wallis. De la misma manera, estos análisis se aplicaron en las comparaciones inter-cohorte.

Las variables cualitativas se analizaron mediante la prueba de χ^2. En aquellas tablas con frecuencias esperadas bajas o categorías con recuentos reducidos, especialmente en el análisis de los hallazgos cualitativos de la ZAF y de los síntomas recogidos mediante entrevista, se utilizó la prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.

Para el análisis longitudinal (comparaciones intragrupo), se utilizó la prueba t de Student para muestras apareadas en variables con distribución normal y la prueba de rangos con signo de Wilcoxon para aquellas que no siguieron una distribución normal.

El nivel de significación estadística se estableció en $p < 0,05$.

6. RESULTADOS

6.1. Visita basal de la cohorte COVID.

6.1.1. Características demográficas

6.1.1.1 Edad, sexo y raza

Fueron estudiados 103 ojos izquierdos de 103 pacientes entre el 3 de Junio de 2020 al 7 de Julio de 2020. El tiempo medio desde el diagnóstico confirmatorio mediante PCR hasta el examen oftalmológico fue de 72 días para el Grupo 2 - Enfermedad moderada y 70 días para el Grupo 3- Enfermedad Severa.

El Grupo Control contaba con 27 pacientes, el Grupo 1 - Enfermedad leve con 30, el Grupo 2 – Enfermedad Moderada con 24 y por último, el Grupo 3 – Enfermedad severa con 22 casos.

Tabla 1. Distribución de las variables demográficas según grupos

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermeda d severa	Significación
Edad (años)	Media (DE)	40,78 (11,23)	43,33 (11,19)	42,17 (9,50)	44,55 (7,41)	0,598[+]
Sexo	Masculino	11	10	10	13	0,315[*]
	Femenino	16	20	14	9	
Raza	Caucásico	27	29	18	11	**<0,000**[*]
	Latino	0	1	6	10	
	Otros	0	0	0	1	
[+]ANOVA de un factor [*]χ^2						

No se encontraron diferencias entre grupos en relación a la edad o al sexo. La proporción de pacientes con origen latino en los grupos 2 y 3 era mayor con una diferencia estadísticamente significativa.

6.1.1.2. Comorbilidades y medicación

En este apartado examinamos las comorbilidades de los pacientes de nuestra cohorte COVID. Se realizó una entrevista médica a la inclusión donde se recogieron los antecedentes patológicos de cada paciente. No hubo pacientes diabéticos en el grupo control, tampoco en el Grupo 1. En el Grupo 2, encontramos 2 (8,33%) pacientes diabéticos y 3 (13,63%) en el grupo 3.

En cuanto al hábito tabáquico, encontramos 6 pacientes (22,22%) del Grupo Control, 5 (16,67%) del Grupo 1, ninguno en el Grupo 2 y 3 (13,63%) en el Grupo 3.

En cuanto a otras enfermedades o antecedentes patológicos, no hubo casos en el Grupo Control y Grupo 1. En el Grupo 2, dos pacientes (8,33%) sufrían de asma. En el Grupo 3, de nuevo, 2 pacientes (9,09%) se encontraban afectos de patología médica: un caso estaba

diagnosticado de hepatitis C, hipotiroidismo y síndrome de apnea obstructiva del sueño y el otro de asma.

No existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos en relación a sus comorbilidades ni toma de inhibidores de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II).

Tabla 2. Distribución de las comorbilidades según grupos

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermeda d severa	Significación
Diabetes	Sí	0	0	2	3	0,065*
Fumador	Sí	6	5	0	3	0,126*
Comorbilidades	Sí	0	0	2	2	0,159*
Toma de IECA	Sí	1	0	0	1	0,514*
+ANOVA de un factor *χ^2						

6.1.2. Retinografías

6.1.2.1. Hallazgos cualitativos

No se identificaron lesiones oculares atribuibles a una retinopatía secundaria a la infección por SARS-CoV-2. Únicamente un paciente presentó una pequeña hemorragia en el polo posterior sin otras alteraciones asociadas. Los autores sugieren que este hallazgo podría explicarse por una maniobra de Valsalva o por el tratamiento anticoagulante con heparina que el paciente estaba recibiendo tras haber presentado un episodio tromboembólico durante su estancia en la UCI.

6.1.2.2. Hallazgos cuantitativos

En el primer punto temporal de seguimiento no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los grupos con enfermedad leve, moderada y severa en ninguno de los parámetros analizados. Tanto el calibre arterial y venoso retiniano equivalente (CRE) como la tortuosidad arterial y venosa mostraron valores comparables entre los grupos (ANOVA de un factor; p=0,065; p=0,723; p=0,592 y p=0,535, respectivamente). No obstante, el calibre arterial retiniano mostró una tendencia hacia valores ligeramente mayores en el grupo con enfermedad moderada, aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística.

Tabla 3. Análisis comparativo de los parámetros de la retinografía en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermeda d leve	Grupo 2 – Enfermeda d moderada	Grupo 3 – Enfermeda d severa	Significación
CRAE	Media (DE)	10,45 (1,14)	10,44 (1,07)	11,25 (0,88)	10,59 (1,64)	0,065+
CRVE	Media (DE)	15,22 (1,97)	15,19 (1,01)	15,78 (2,14)	15,38 (2,77)	0,723+
Tortuosidad arterial	Media (DE)	1,021 (0,009)	1,019 (0,007)	1,019 (0,006)	1,019 (0,007)	0,592+

Tortuosidad venosa	Media (DE)	1,021 (0,005)	1,020 (0,003)	1,022 (0,005)	1,021 (0,006)	0,535[+]
[+]ANOVA de un factor						

6.1.3. OCT

6.1.3.1. Hallazgos cualitativos

No se identificaron alteraciones estructurales en OCT atribuibles a la infección por SARS-CoV-2. Únicamente se observaron dos casos con pequeños desprendimientos asintomáticos del epitelio pigmentario, hallazgos que los autores consideraron probablemente no relacionados con la infección viral.

6.1.3.2. Hallazgos cuantitativos

Si bien no se llevó a cabo un análisis estadístico de las diferencias en el grosor macular entre los distintos grupos, la evaluación cualitativa del mapa de grosor macular total no mostró desviaciones de la normalidad en ningún caso.

6.1.4. Angiografía por OCT

6.1.4.1. Densidad vascular en los plexos vasculares

6.1.4.1.1 Densidad vascular en los plexos vascular superficial

La media, desviación estándar (DE) y significación estadística de los valores del PVS se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 4. Análisis comparativo de la DV del PVS en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	16,59 (3,77)	17,23 (3,29)	13,59 (4,87)	13,49 (3,90)	**0,001**[+]
Superior	Media (DE)	49,99 (2,67)	49,08 (3,66)	49,12 (2,711)	49,38 (3,18)	0,613[&]
Inferior	Media (DE)	50,03 (3,77)	50,37 (2,60)	49,60 (4,89)	46,77 (9,76)	0,115[+]
Nasal	Media (DE)	44,33 (2,26)	43,90 (4,67)	43,83 (2,80)	44,80 (3,70)	0,763[+]
Temporal	Media (DE)	47,91 (1,70)	46,83 (3,20)	48,40 (4,19)	47,70 (3,96)	0,166[&]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-Wallis						

En el análisis ANOVA, después de corrección Bonferroni para múltiples medidas, se obtuvo, una diferencia estadísticamente significativa para la DV del PVS, siendo mayor en el Grupo Control y Grupo 1 - Enfermedad Leve que en el Grupo 2 y 3 (Grupo Control vs. Grupo 1, p=1; Grupo Control vs. Grupo 2, p=0,04; Grupo Control vs. Grupo 3, p=0,04; Grupo 1 vs. Grupo 2; p<0,00: Grupo 1 vs. Grupo 3; p<0,00 y Grupo 2 vs. Grupo 3, p=1).

Figura 13. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS en la región central según grupos

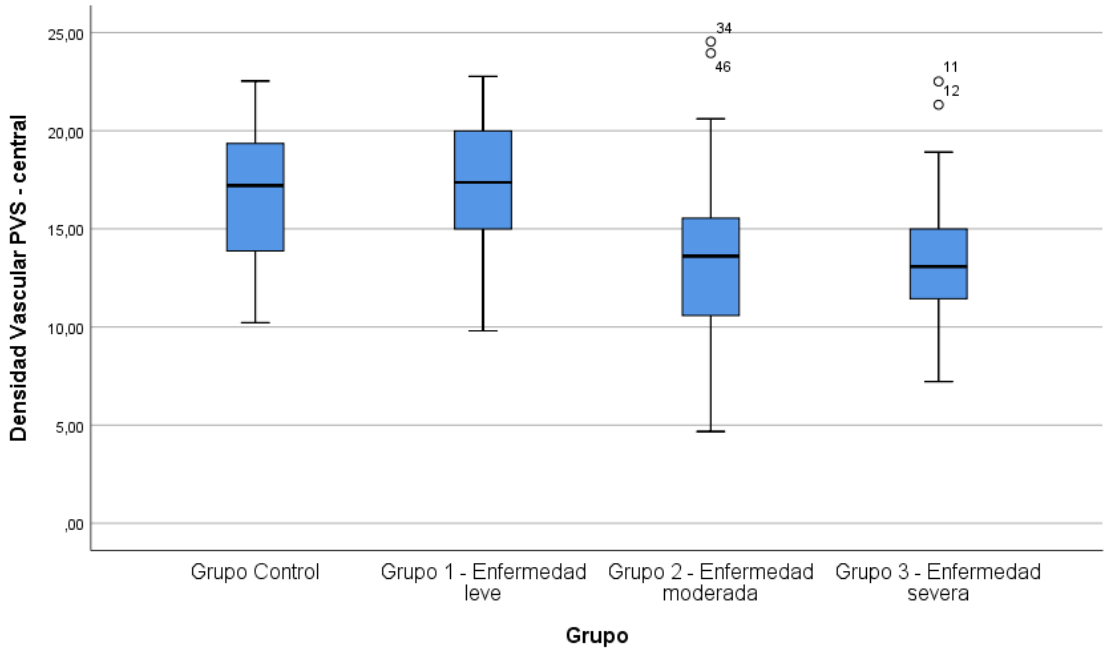
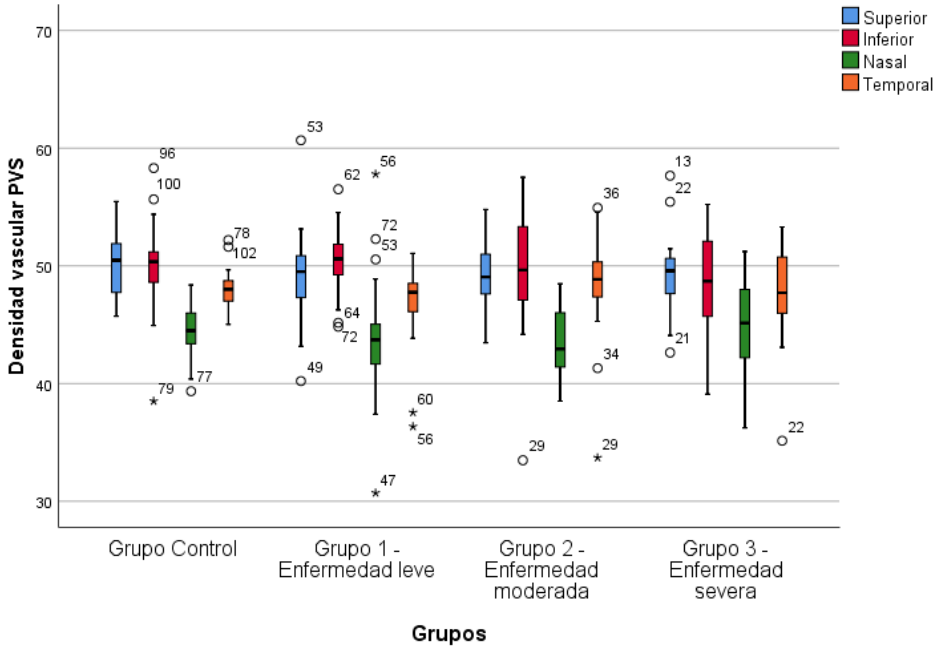


Figura 14. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS en el resto de regiones según grupos



6.1.4.1.2. Densidad vascular en el plexo vascular profundo

La **Tabla 5** recoge los resultados obtenidos en las diferentes regiones analizadas. De forma global, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la

mayoría de los sectores evaluados (superior, inferior, nasal y temporal). Sin embargo, en la región central se identificaron diferencias significativas en la DV del PVP (p < 0,001), con valores más elevados en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos de enfermedad moderada y severa.

Tabla 5. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVP en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	14,86 (4,79)	16,56 (3,71)	10,95 (5,23)	11,36 (4,09)	**<0,000**[+]
Superior	Media (DE)	45,23 (4,54)	45,66 (3,01)	45,45 (4,69)	46,47 (4,28)	0,753[+]
Inferior	Media (DE)	46,11 (4,92)	46,67 (3,83)	45,30 (5,77)	45,23 (4,74)	0,860[&]
Nasal	Media (DE)	46,01 (3,38)	45,88 (3,13)	46,31 (5,06)	46,91 (4,00)	0,243[+]
Temporal	Media (DE)	44,62 (4,15)	44,87 (3,58)	46,49 (3,10)	45,09 (2,89)	0,789[+]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-Wallis						

En el análisis ANOVA, después de corrección Bonferroni para múltiples medidas, se obtuvo, una diferencia estadísticamente significativa para la DV del PVP, siendo mayor en el Grupo Control y Grupo 1 que en el Grupo 2 y 3 (Grupo Control vs. Grupo 1, p=0,92; Grupo Control vs. Grupo 2, p=0,01; Grupo Control vs. Grupo 3, p=0,04; Grupo 1 vs. Grupo 2; p<0,00: Grupo 1 vs. Grupo 3; p<0,00 y Grupo 2 vs. Grupo 3, p=1).

Figura 15. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en la región central según grupos

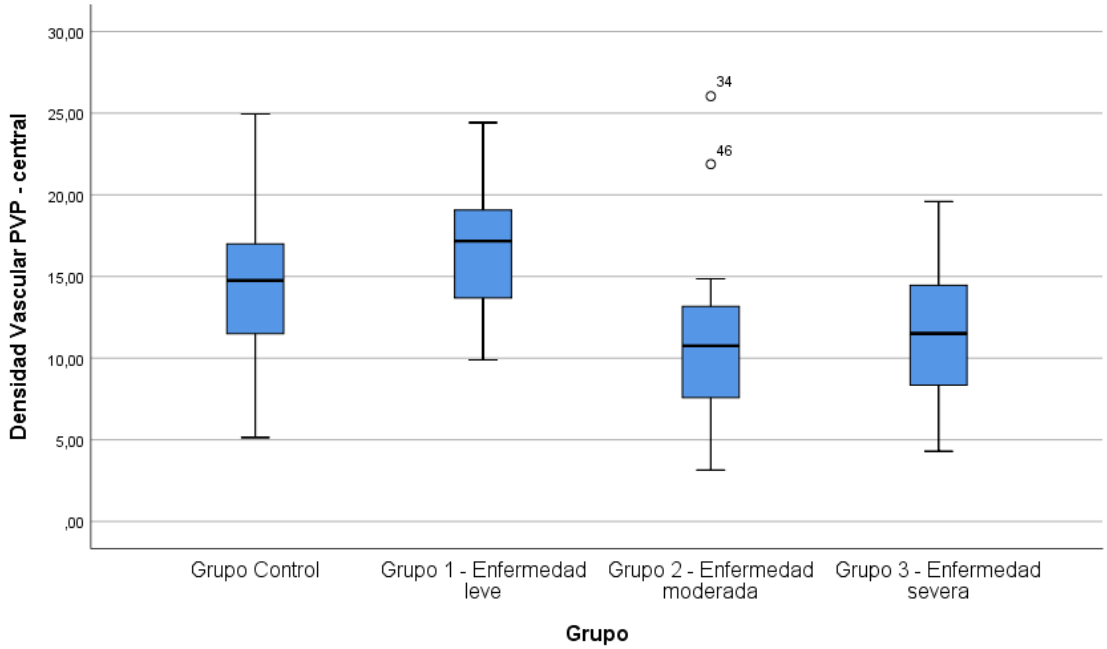
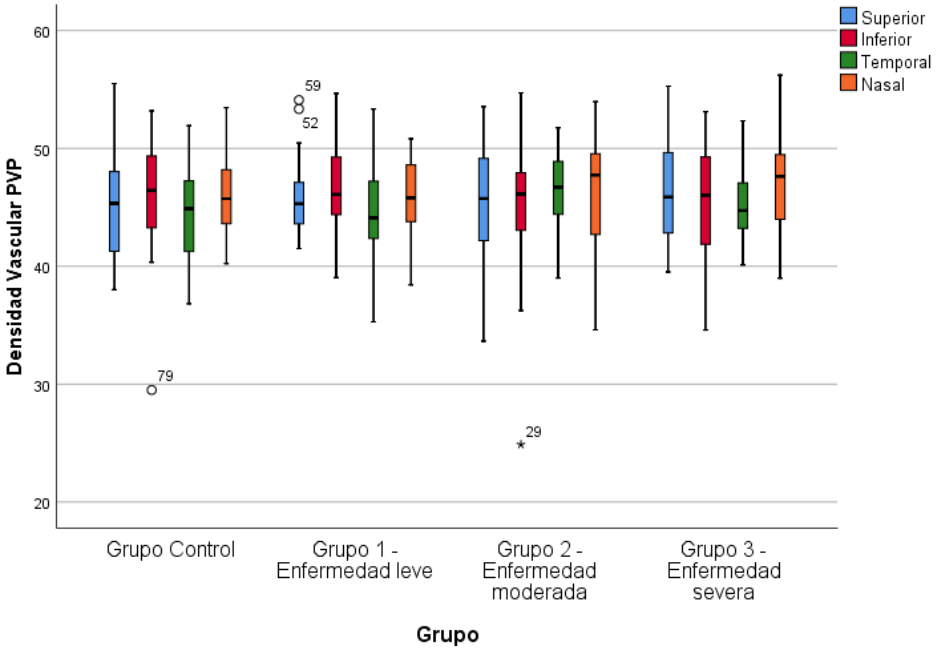


Figura 16. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en el resto de regiones según grupos



6.1.4.1.3. Densidad vascular en el plexo vascular de la coriocapilar

La **Tabla 6** resume los resultados obtenidos en las diferentes regiones maculares. De forma global, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la mayoría de los sectores analizados (central, inferior, nasal y temporal). No obstante, en la región superior se identificaron diferencias significativas (p = 0,030).

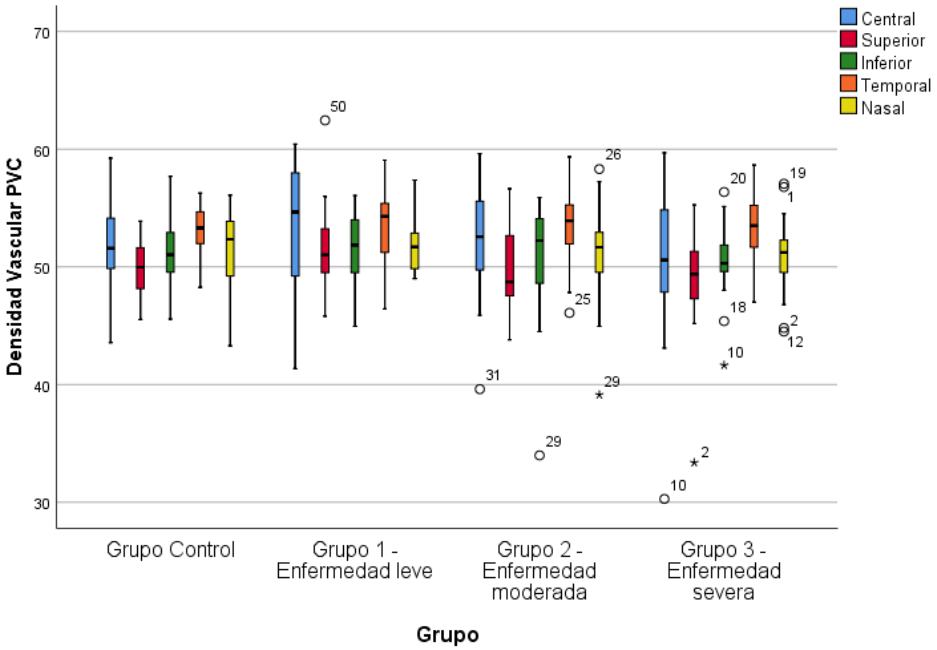
Tabla 6. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVC en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	51,81 (3,82)	53,39 (4,69)	52,41 (4,47)	50,68 (6,38)	0,253[+]
Superior	Media (DE)	49,90 (2,31)	51,54 (3,22)	49,87 (3,21)	48,81 (4,33)	**0,030**[+]
Inferior	Media (DE)	51,08 (2,92)	51,82 (2,64)	50,88 (4,70)	50,69 (3,25)	0,637[+]
Nasal	Media (DE)	51,53 (3,18)	51,83 (2,32)	51,10 (4,05)	51,00 (3,14)	0,790[&]
Temporal	Media (DE)	53,08 (3,21)	53,41 (3,21)	53,38 (3,04)	53,29 (2,90)	0,974[+]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-Wallis						

En el análisis ANOVA, después de corrección Bonferroni para múltiples medidas, se obtuvo, una diferencia estadísticamente significativa para la DV del PVC, siendo la diferencia estadísticamente significativa solo entre el Grupo 1 vs. Grupo 3 con una **p=0,024**. En el resto de

comparaciones no existen diferencias en la comparación de medias: Grupo Control vs. Grupo 1, p=0,377; Grupo Control vs. Grupo 2, p=1; Grupo Control vs. Grupo 3, p=1; y, Grupo 2 vs. Grupo 3, p=1.

Figura 17. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVC según grupos



6.1.4.2. Calidad de las imágenes

La siguiente tabla muestra los valores de calidad medios y su desviación standard obtenidos en los distintos grupos de estudio. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,829), siendo comparables en todos ellos.

Tabla 7. Análisis comparativo de la calidad de las imágenes en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Calidad de imagen	Media (DE)	66,03 (5,32)	65,16 (5,37)	66,75 (4,26)	65,81 (4,64)	0,829[&]
[&]Kruskal-Wallis						

6.1.4.3 Zona avascular foveal

6.1.4.3.1 Análisis cuantitativo

El análisis mediante la prueba de Kruskal–Wallis mostró diferencias estadísticamente significativas en el área de la ZAF entre los grupos (p < 0,001). Los valores medios de ZAF fueron menores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa.

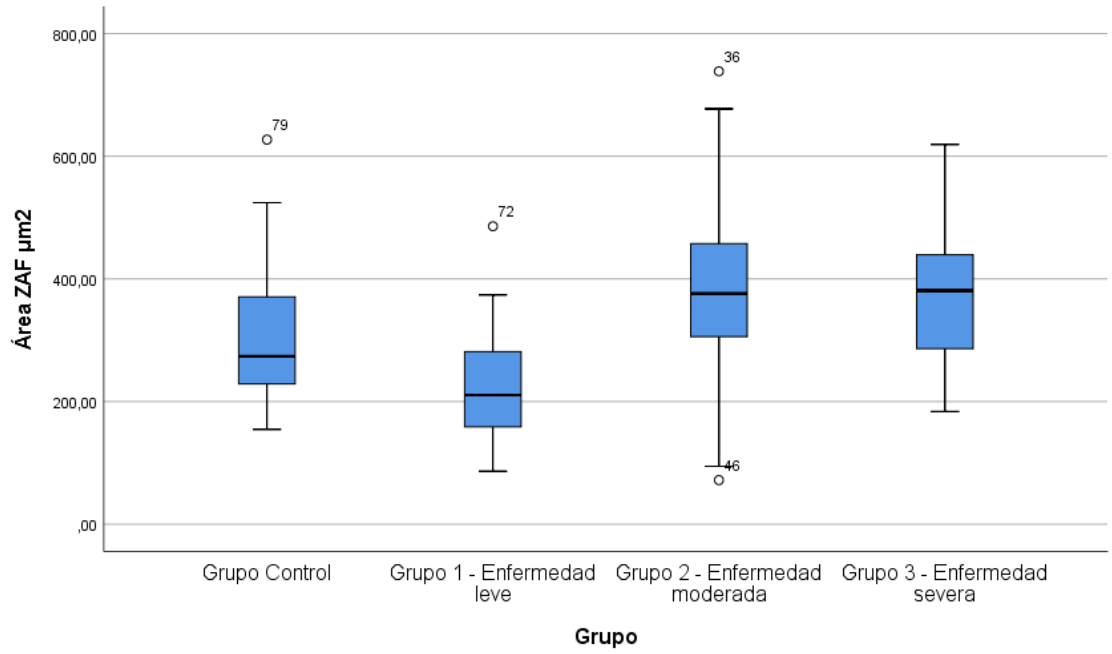
Tabla 8. Análisis comparativo del área de la ZAF según grupos en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
ZAF	Media (DE)	306,522 (118,69)	225,49 (88,21)	380,85 (156,23)	375,03 (120,15)	**<0,000[&]**
[&]Kruskal-Wallis						

En el análisis *post hoc* (U de Mann–Whitney con corrección por comparaciones múltiples), se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 2 (p = 0,036), así como entre el grupo control y el grupo 3 (p = 0,031). Del mismo modo, el grupo 1 presentó valores significativamente menores de ZAF en comparación con el grupo 2 (p < 0,001) y el grupo 3 (p < 0,001).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos con enfermedad moderada y severa (p = 0,852).

Figura 18. Diagramas de cajas del área de la ZAF según grupos



6.1.4.3.2 Análisis cualitativo

El análisis mediante la prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton mostró diferencias estadísticamente significativas en la presencia de muescas entre los grupos (p = 0,009). Estas alteraciones estuvieron ausentes en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve, mientras que se observaron con mayor frecuencia en los grupos con enfermedad moderada (n = 2) y severa (n = 4).

De forma similar, se identificaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de zonas avasculares adicionales (p = 0,016), las cuales no se detectaron en el grupo control ni en

el grupo con enfermedad leve, pero estuvieron presentes en los grupos con enfermedad moderada (n = 3) y severa (n = 3), evidenciando una tendencia a mayor alteración microvascular en los grupos de mayor gravedad.

Tabla 9. Análisis comparativo de los hallazgos en la ZAF según grupos en la visita basal

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Muescas	N (%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (8,33%)	4 (18,18%)	**0,009**[f]
Zonas avasculares	N (%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (12,50%)	3 (13,64%)	**0,016**[f]
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.						

6.2. Primer seguimiento de la cohorte COVID

Se realizó una nueva exploración oftalmológica a los 8 meses de la evaluación basal, entre el 17 de noviembre de 2020 y el 29 de enero de 2021.

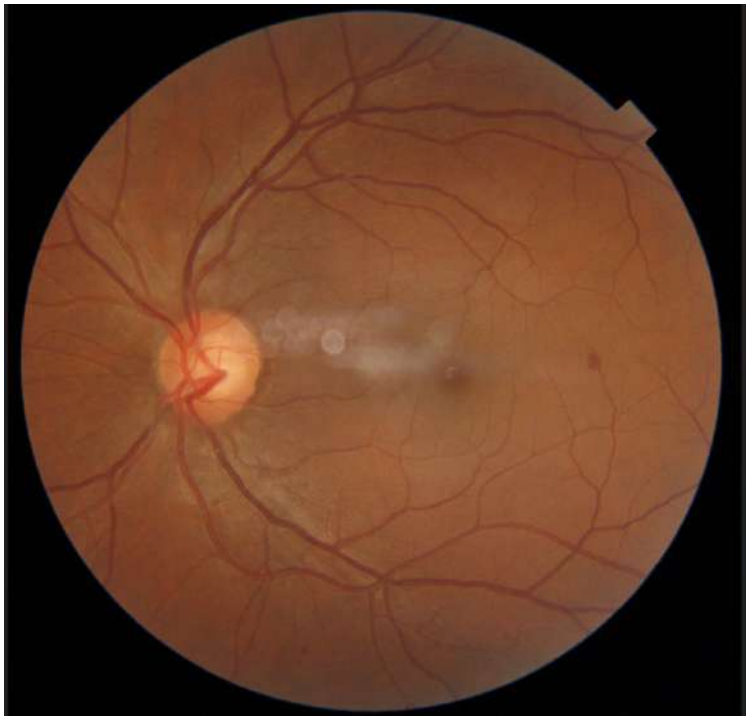
En este seguimiento participaron 23 pacientes del grupo control, 21 del grupo 1, 20 del grupo 2 y 18 del grupo 3. En comparación con la cohorte inicial, se registraron pérdidas de seguimiento de 4, 9, 4 y 2 pacientes en cada grupo, respectivamente, debido a la imposibilidad de contactar con ellos para su reevaluación.

6.2.1. Retinografías

6.2.1.1. Hallazgos cualitativos

No se encontraron pacientes con hallazgos compatibles con signos de retinopatía en la retinografía. El único hallazgo fue un caso de un paciente del grupo 2 con una hemorragia intrarretiniana bajo la membrana limitante interna en el polo posterior sugestiva de una maniobra Valsalva u otra etiología no relacionada con la infección (Figura 19).

Figura 19. Retinografía del ojo izquierdo mostrando una hemorragia intrarretiniana puntiforme en la mácula temporal, sin otros hallazgos patológicos.



6.2.1.2. Hallazgos cuantitativos

En el primer seguimiento, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguno de los parámetros analizados.

Tabla 10. Análisis comparativo de los parámetros de la retinografía en el primer seguimiento.

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
CRAE	Media (DE)	10,45 (1,21)	10,68 (0,94)	10,73 (0,25)	10,61 (1,01)	0,831[+]
CRVE	Media (DE)	15,41 (1,43)	15,50 (1,50)	15,62 (2,16)	15,40 (2,00)	0,979[+]
Tortuosidad arterial	Media (DE)	1,022 (0,007)	1,017 (0,009)	1,018 (0,006)	1,019 (0,007)	0,140[+]
Tortuosidad venosa	Media (DE)	1,019 (0,004)	1,019 (0,003)	1,021 (0,004)	1,021 (0,005)	0,470[+]
[+]ANOVA de un factor						

El calibre arteriolar mostró valores similares entre los grupos (p = 0,831), al igual que el calibre venular (p = 0,979).

En cuanto a la tortuosidad vascular, tanto la tortuosidad arterial (p = 0,140) como la tortuosidad venosa (p = 0,470) no presentaron diferencias significativas entre los grupos.

Estos resultados indican que, en el primer seguimiento, no se evidencian cambios relevantes en los parámetros cuantitativos de la microvasculatura retiniana en función de la gravedad de la enfermedad

6.2.2. OCT

6.2.2.1. Hallazgos cualitativos

No se identificaron alteraciones estructurales en OCT atribuibles a la infección por SARS-CoV-2. En línea con las observaciones previas, se observaron dos casos con pequeños desprendimientos asintomáticos del epitelio pigmentario.

6.2.2.2. Hallazgos cuantitativos

No se realizó un análisis estadístico del grosor macular entre grupos; sin embargo, el mapa de grosor macular total no mostró alteraciones respecto a la normalidad en ningún caso.

6.2.3. Angiografía por OCT

6.2.3.1. Densidad vascular en los plexos vasculares

6.2.3.1.1 Densidad vascular en el plexo vascular superficial

El análisis mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV en la región central entre los grupos (p = 0,001). Los valores fueron mayores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa, evidenciando una disminución de la DV central asociada a mayor gravedad de la enfermedad.

Tabla 11. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVS en el primer seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	16,41 (3,30)	17,17 (4,03)	13,55 (4,90)	12,90 (3,53)	**0,001**[+]
Superior	Media (DE)	49,44 (2,67)	48,60 (2,40)	48,69 (3,27)	48,04 (3,86)	0,509[+]
Inferior	Media (DE)	49,86 (3,69)	50,49 (3,34)	51,59 (8,76)	48,53 (3,45)	0,264[&]
Nasal	Media (DE)	43,35 (2,35)	42,77 (3,18)	44,42 (2,73)	44,70 (2,57)	0,083[+]
Temporal	Media (DE)	48,54 (2,97)	46,27 (3,00)	49,47 (2,57)	48,32 (2,76)	**0,005**[+]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-wallis						

El análisis mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV en la región central entre los grupos (p = 0,001). Los valores fueron mayores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa, evidenciando una disminución de la DV central asociada a mayor gravedad de la enfermedad.

En el análisis *post hoc* (ANOVA con corrección de Bonferroni), se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 3 (p = 0,027), así como entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,025) y entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,006). No se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 2 (p = 0,110), ni entre el grupo control y el grupo 1 (p = 1,000), ni entre los grupos 2 y 3 (p = 1,000).

En el sector temporal también se observaron diferencias estadísticamente significativas (p = 0,005). Sin embargo, dado que este hallazgo no se reproduce en el resto de sectores analizados: superior (p = 0,509), inferior (p = 0,264) y nasal (p = 0,083). Su interpretación debe realizarse con cautela, pudiendo estar influido por la variabilidad muestral o por el efecto de comparaciones múltiples.

Figura 20. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS en la región central según grupos

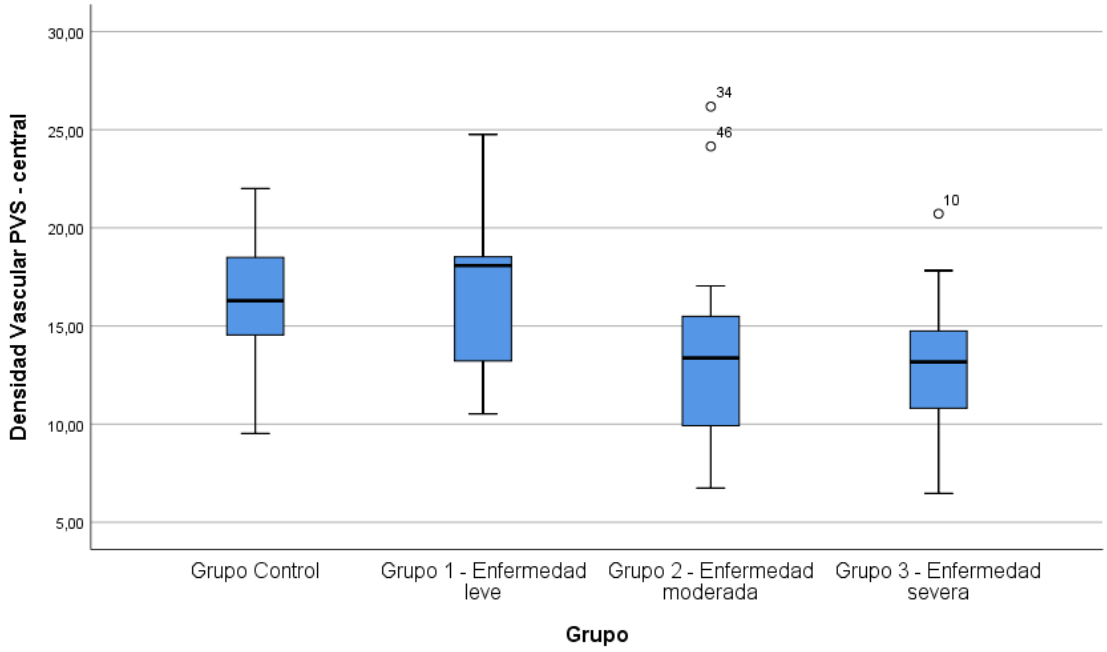
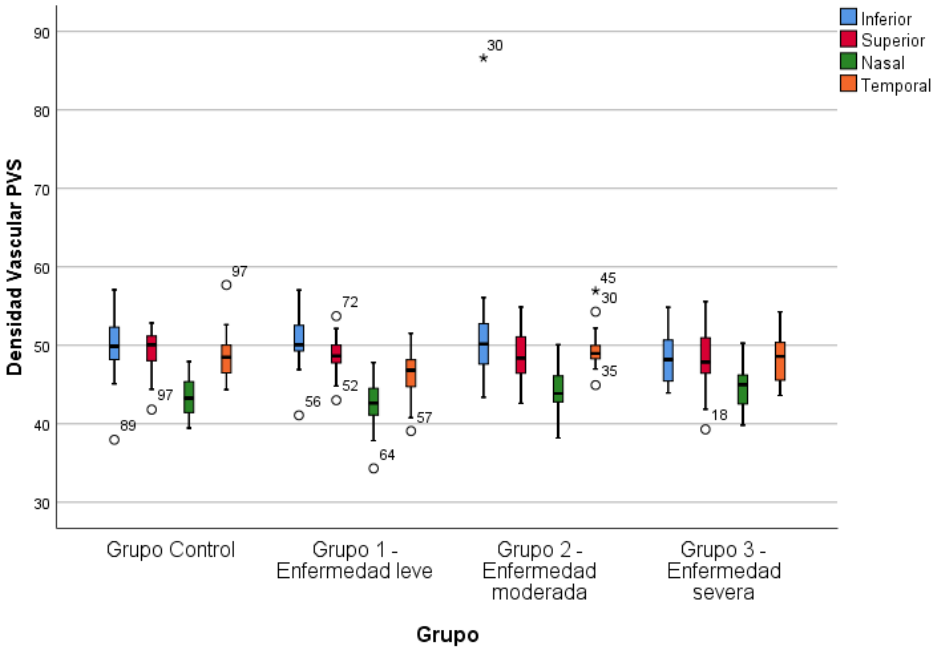


Figura 21. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS en el resto de regiones según grupos



6.2.3.1.2 Densidad vascular en el plexo vascular profundo

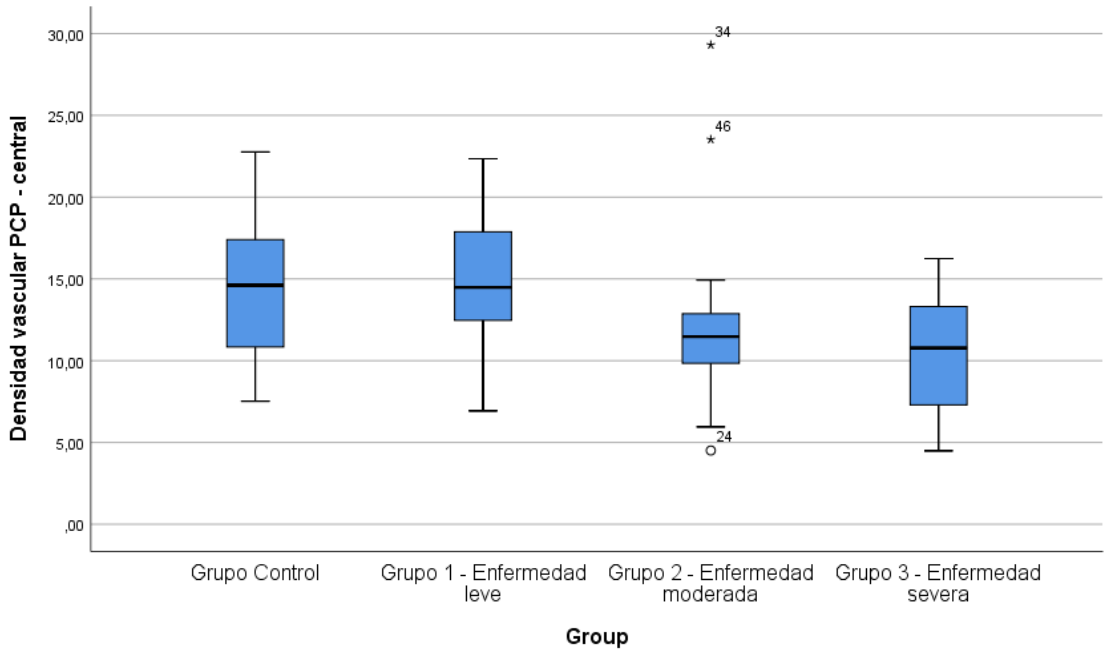
El análisis mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV en la región central entre los grupos (p = 0,006). Los valores fueron mayores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa, lo que sugiere una disminución progresiva de la DV central asociada a mayor gravedad de la enfermedad.

Tabla 12. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVP en el primer seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	14,29 (4,45)	14,90 (3,88)	12,11 (5,43)	10,46 (3,58)	**0,006**[+]
Superior	Media (DE)	47,70 (4,77)	49,00 (4,76)	50,03 (4,38)	49,03 (4,79)	0,250[+]
Inferior	Media (DE)	48,54 (6,13)	51,68 (5,20)	50,95 (5,25)	49,57 (5,45)	0,425[+]
Nasal	Media (DE)	47,46 (3,66)	45,40 (2,95)	50,29 (3,93)	49,02 (4,02)	**0,000**[+]
Temporal	Media (DE)	46,80 (3,91)	47,42 (3,24)	48,48 (3,66)	46,69 (3,31)	0,343[+]
[+]ANOVA de un factor						

En el análisis *post hoc* (ANOVA con corrección de Bonferroni), se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 3 (p = 0,031), así como entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,012). No se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 1 (p = 1,000), ni entre el grupo control y el grupo 2 (p = 0,609), ni entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,278), ni entre el grupo 2 y el grupo 3 (p = 1,000).

Figura 22. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en la región central según grupo



En el sector nasal también se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,001$). En el análisis por pares (U de Mann–Whitney), se identificaron diferencias entre el grupo control y el grupo 2 ($p = 0,013$), así como entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p < 0,001$) y entre el grupo 1 y el grupo 3 ($p = 0,001$). No se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 1 ($p = 0,063$), ni entre el grupo control y el grupo 3 ($p = 0,114$), ni entre los grupos 2 y 3 ($p = 0,375$).

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los sectores superior ($p = 0,250$), inferior ($p = 0,425$) ni temporal ($p = 0,343$).

Figura 23. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en la región nasal según grupo

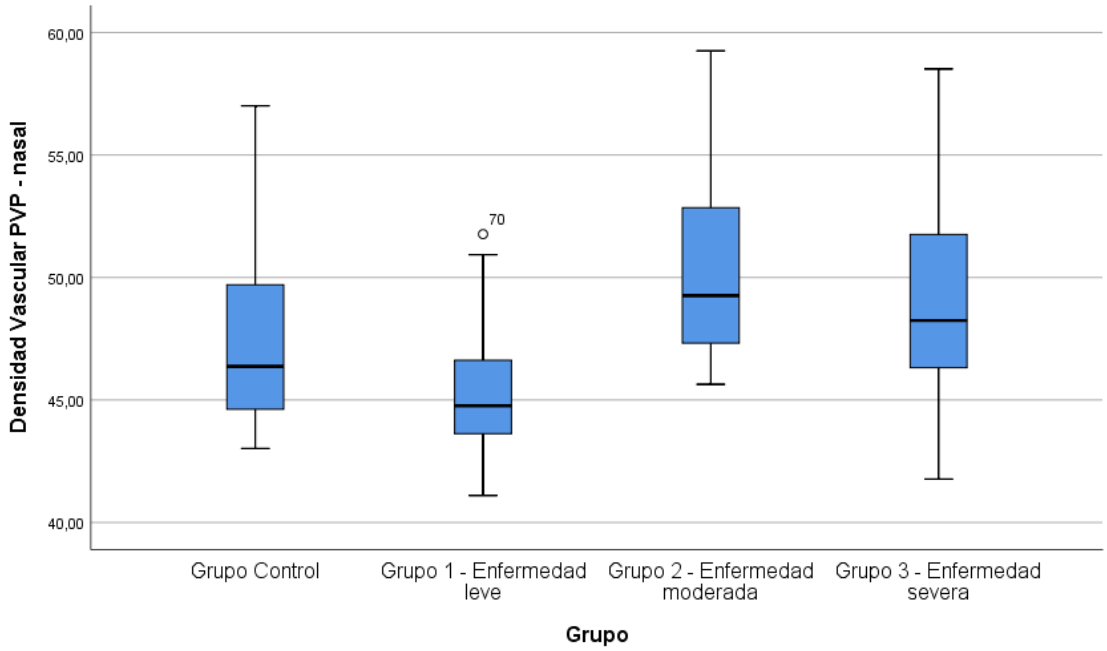
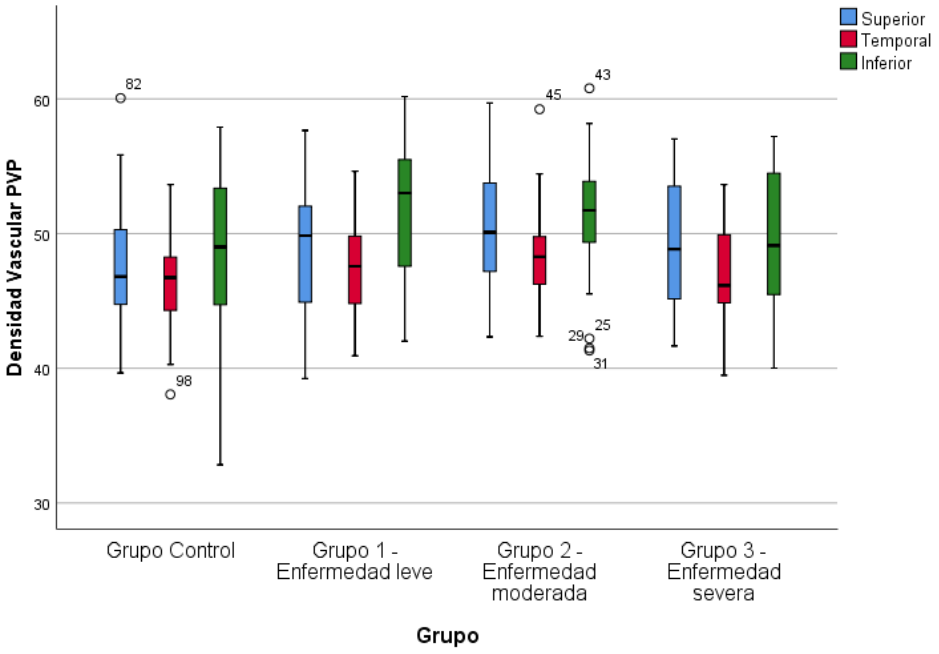


Figura 24. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en el resto de regiones maculares según grupo



6.2.3.1.3 Densidad vascular en el plexo vascular de la coriocapilar

El análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV en la región central (p = 0,874), ni en los sectores inferior (p = 0,110), nasal (p = 0,604) o temporal (p = 0,695). Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el sector superior (p = 0,014). En el análisis por pares (U de Mann–Whitney), estas diferencias se explican principalmente por valores más elevados en el grupo con enfermedad leve en comparación con el grupo control (p = 0,010), el grupo con enfermedad moderada (p = 0,014) y el grupo con enfermedad severa (p = 0,033).

Tabla 13. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVC en el primer seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	50,83 (4,44)	51,21 (5,27)	50,81 (4,75)	51,94 (5,50)	0,874[+]
Superior	Media (DE)	49,15 (3,79)	52,50 (3,75)	49,83 (2,39)	49,96 (3,14)	**0,014**[+]
Inferior	Media (DE)	50,25 (4,00)	52,46 (2,36)	50,93 (2,52)	51,45 (2,04)	0,110[+]
Nasal	Media (DE)	52,23 (2,45)	51,63 (3,83)	51,18 (3,04)	51,14 (2,80)	0,604[+]
Temporal	Media (DE)	53,07 (3,18)	53,55 (2,41)	52,60 (3,49)	54,01 (2,48)	0,695[&]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-wallis						

Figura 25. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVC en la región superior según grupo

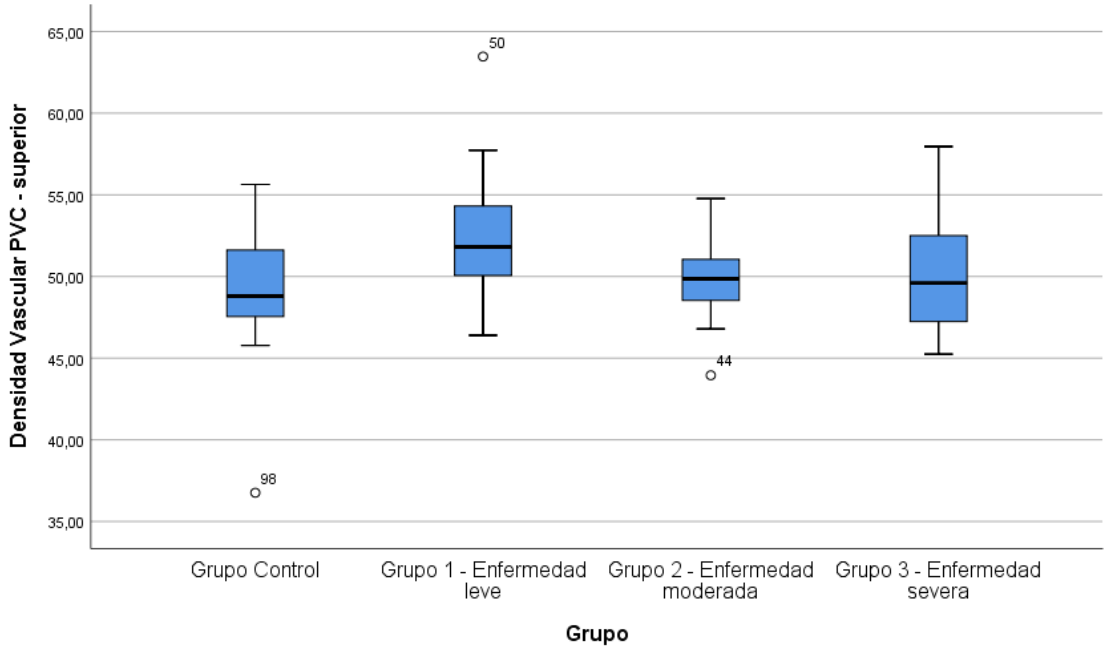
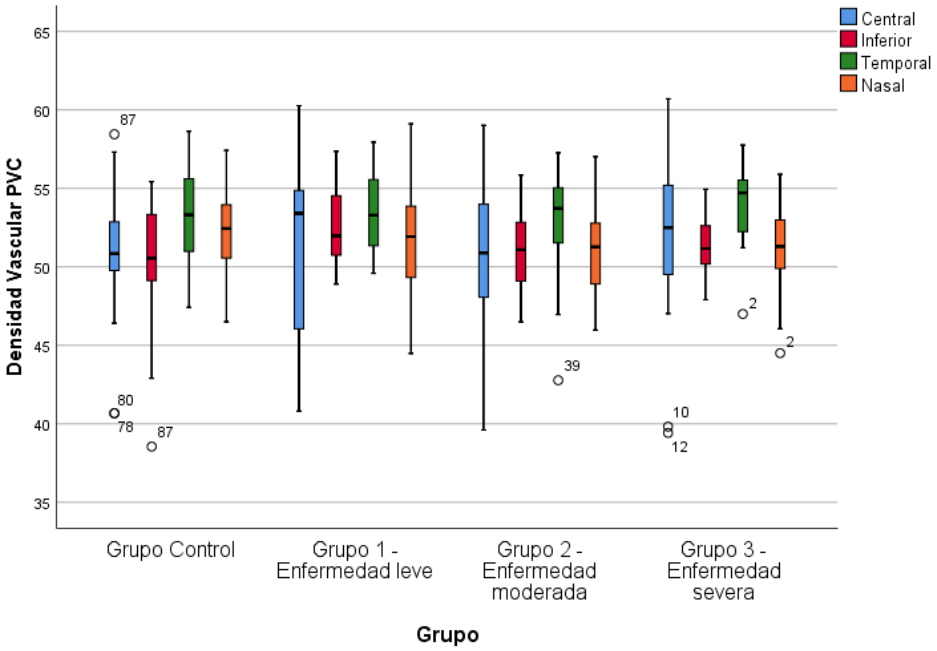


Figura 26. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVC en el resto de regiones maculares según grupo



6.2.3.2. Calidad de las imágenes

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la calidad de imagen entre los grupos (p = 0,596). Los valores medios fueron comparables en todos los grupos.

Tabla 14. Análisis comparativo de la calidad de las imágenes en el primer seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Calidad de imagen	Media (DE)	62,67 (4,92)	62,29 (5,39)	61,90 (5,17)	64,45 (3,03)	0,596[&]
[&]Kruskal-Wallis						

6.2.3.3 Zona avascular foveal

6.2.3.3.1 Análisis cuantitativo

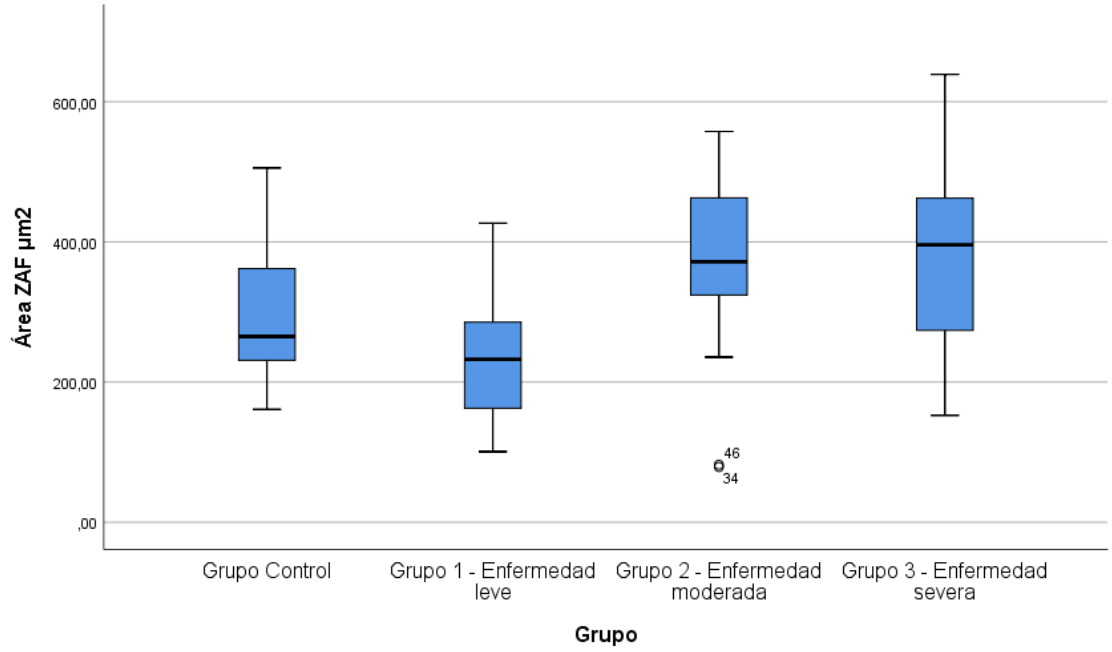
El análisis mostró diferencias estadísticamente significativas en el área de la ZAF entre los grupos (p < 0,001). Los valores medios fueron menores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa.

Tabla 15. Análisis comparativo del área de la ZAF según grupos en el primer seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
ZAF	Media (DE)	277,19 (79,62)	233,17 (87,94)	366,67 (125,36)	375,42 (128,88)	**p<0,001**[&]
[&]Kruskal-Wallis						

En el análisis *post hoc* (ANOVA con corrección de Bonferroni), se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 2 (p = 0,038), así como entre el grupo control y el grupo 3 (p = 0,019). Del mismo modo, el grupo con enfermedad leve presentó valores significativamente menores que el grupo 2 (p = 0,001) y el grupo 3 (p < 0,001). No se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 1 (p = 1,000).

Figura 27. Diagramas de cajas del área de la ZAF según grupo



6.2.3.3.2 Análisis cualitativo

El análisis mediante la prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton no mostró diferencias estadísticamente significativas en la presencia de muescas entre los grupos (p = 0,059). No obstante, se observa una tendencia a un aumento progresivo de la frecuencia de muescas del grupo control (n = 0) hacia los grupos con enfermedad leve (n = 1), moderada (n = 4) y severa (n = 3), lo que podría sugerir una mayor afectación estructural de la microvasculatura en los estadios más avanzados de la enfermedad, aunque sin alcanzar significación estadística.

En cuanto a la presencia de zonas avasculares adicionales, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,463).

Tabla 16. Análisis comparativo de los hallazgos en la ZAF según grupos en el primer seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Muescas	N (%)	0 (0%)	1 (4,76%)	4 (20%)	3 (16,67%)	0,059[f]
Zonas avasculares	N (%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (5%)	0 (0%)	0,463[f]
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.						

6.3. Segundo seguimiento de la cohorte COVID

Se realizó una nueva exploración oftalmológica final aproximadamente pasados 3 años del inicio de la pandemia por COVID-19, entre el 16 de enero de 2023 y el 18 de abril de 2023.

En este segundo seguimiento se incluyeron 16 pacientes del grupo control, 16 del grupo 1 (enfermedad leve), 13 del grupo 2 (enfermedad moderada) y 15 del grupo 3 (enfermedad severa).

En comparación con el primer seguimiento, se registraron pérdidas de seguimiento de 7, 5, 7 y 3 pacientes en cada grupo, respectivamente. Estas pérdidas se debieron principalmente a la falta de respuesta al contacto o a la no asistencia a la visita de seguimiento.

6.3.1. Retinografías

6.3.1.1. Hallazgos cualitativos

No se identificaron hallazgos compatibles con retinopatía en ninguno de los casos analizados.

6.3.1.2. Hallazgos cuantitativos

En el segundo seguimiento no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y los grupos con enfermedad leve, moderada y severa en ninguno de los parámetros analizados. Tanto el calibre arterial y venoso retiniano como la tortuosidad arterial mostraron valores similares entre los grupos (ANOVA de un factor; p=0,240; p=0,286 y p=0,355, respectivamente). La tortuosidad venosa tampoco alcanzó significación estadística (p=0,051), aunque mostró una tendencia hacia valores ligeramente mayores en los grupos con enfermedad más grave.

Tabla 17. Análisis comparativo de los parámetros de la retinografía en el segundo seguimiento.

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
CRAE	Media (DE)	10,74 (1,27)	10,24 (1,05)	10,93 (0,85)	10,93 (0,89)	0,240[+]
CRVE	Media (DE)	16,07 (1,37)	14,91 (1,86)	15,67 (2,45)	16,01 (1,60)	0,286[+]
Tortuosidad arterial	Media (DE)	1,020 (0,006)	1,019 (0,006)	1,017 (0,006)	1,022 (0,009)	0,355[+]
Tortuosidad venosa	Media (DE)	1,019 (0,004)	1,019 (0,003)	1,021 (0,002)	1,022 (0,006)	0,051[+]
[+]ANOVA de un factor						

6.3.2. OCT

6.3.2.1. Hallazgos cualitativos

No se identificaron alteraciones estructurales patológicas en las exploraciones de OCT realizadas, salvo en dos pacientes en los que se observó un pequeño desprendimiento del epitelio pigmentario de la retina.

6.3.2.2. Hallazgos cuantitativos

Los mapas de grosor retiniano no evidenciaron cambios relevantes respecto a los valores de referencia.

6.3.3. Angiografía por OCT

6.3.3.1. Densidad vascular en los plexos vasculares

6.3.3.1.1 Densidad vascular en el plexo vascular superficial

En el segundo seguimiento, el análisis mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV en la región central entre los grupos ($p < 0,001$). Los valores fueron mayores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa, lo que confirma una disminución de la DV central asociada a mayor gravedad de la enfermedad.

Tabla 18. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVS en el segundo seguimiento.

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	**18,02 (2,81)**	**18,79 (3,31)**	**13,85 (5,34)**	**12,93 (4,40)**	**<0,001**$^{+}$
Superior	Media (DE)	50,60 (3,41)	50,41 (3,21)	51,74 (2,83)	51,90 (3,00)	0,447^{+}
Inferior	Media (DE)	50,90 (4,03)	49,79 (3,24)	51,76 (2,44)	51,03 (4,65)	0,554^{+}
Nasal	Media (DE)	45,19 (2,40)	43,44 (2,95)	45,30 (3,45)	45,57 (3,25)	0,192^{+}
Temporal	Media (DE)	**48,94 (2,75)**	**47,03 (2,23)**	**49,98 (2,98)**	**49,16 (2,89)**	**0,032**$^{+}$
$^{+}$ANOVA de un factor						

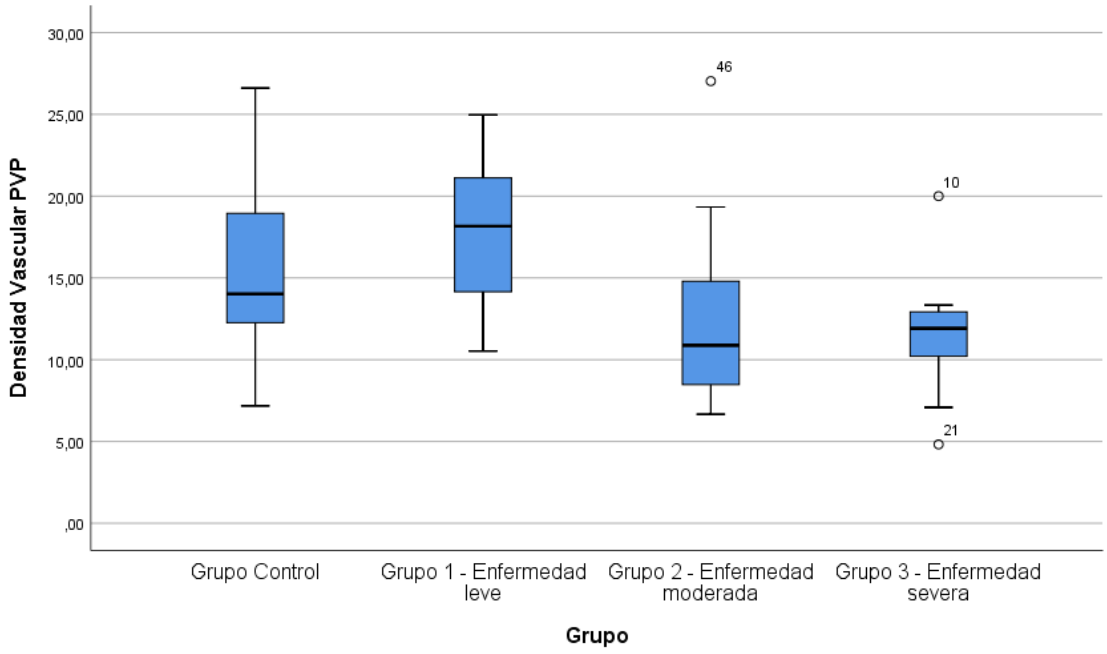
En el análisis *post hoc* (ANOVA con corrección de Bonferroni), se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 2 ($p = 0,038$), así como entre el grupo control y el grupo 3 ($p = 0,004$). Del mismo modo, el grupo con enfermedad leve presentó valores significativamente mayores que el grupo 2 ($p = 0,009$) y el grupo 3 ($p = 0,001$). No se observaron diferencias entre el grupo control y el grupo 1 ($p = 1,000$).

En el sector temporal también se identificaron diferencias estadísticamente significativas en el análisis global (p = 0,032). Sin embargo, en el análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni, únicamente se observaron diferencias significativas entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,032).

No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo 1 (p = 0,294), ni entre el grupo control y los grupos 2 (p = 1) y 3 (p = 1), ni entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,202), ni entre los grupos 2 y 3 (p = 1).

No se identificaron diferencias estadísticamente significativas en el resto de sectores: superior (p = 0,447), inferior (p = 0,554) y nasal (p = 0,192).

Figura 28. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS en la región central según grupos



6.3.3.1.2 Densidad vascular en el plexo vascular profundo

El análisis mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV en la región central entre los grupos (p = 0,001). Se observó un patrón caracterizado por valores más elevados en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve, seguido de una disminución en los grupos con enfermedad moderada y severa.

Tabla 19. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVP en el segundo seguimiento.

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	15,74 (5,08)	17,90 (4,36)	12,59 (5,87)	11,59 (3,34)	**0,001**[&]
Superior	Media (DE)	51,41 (5,20)	52,24 (4,83)	54,07 (2,65)	53,92 (4,15)	0,265[+]

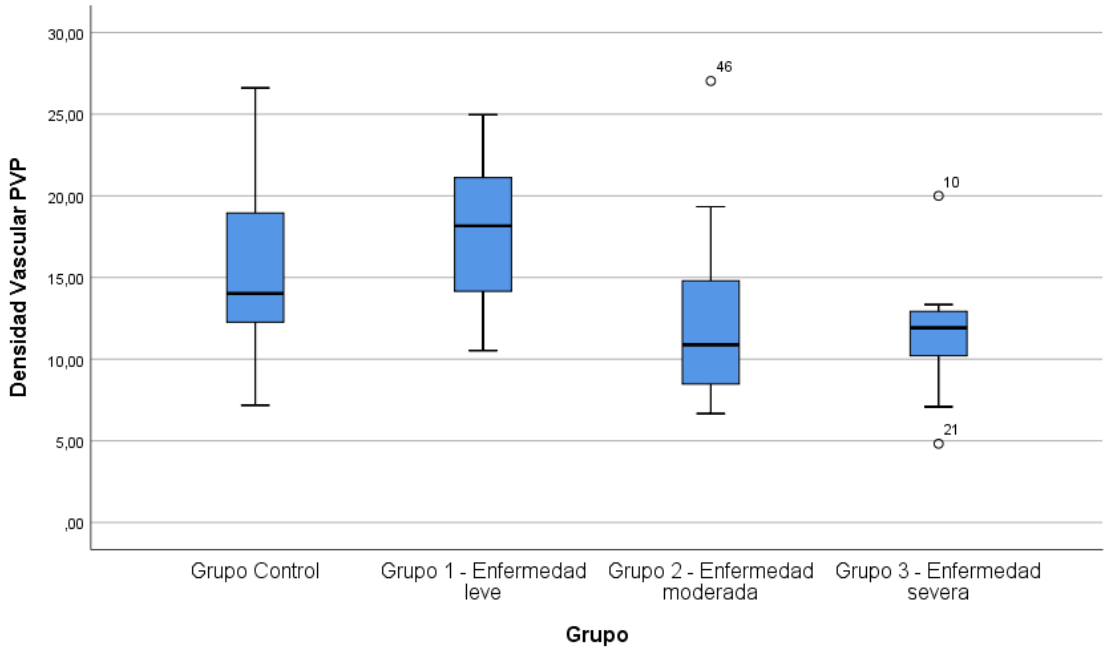
Inferior	Media (DE)	54,28 (5,80)	54,11 (5,96)	51,77 (5,45)	52,04 (3,28)	0,415[+]
Nasal	Media (DE)	48,78 (4,00)	49,68 (3,41)	50,51 (3,77)	50,03 (4,34)	0,465[+]
Temporal	Media (DE)	48,95 (3,66)	48,88 (2,81)	50,13 (2,44)	48,26 (2,94)	0,450[+]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-wallis						

En el análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni, se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,024), así como entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,003).

No se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 1 (p = 1), ni entre el grupo control y los grupos 2 (p = 0,437) y 3 (p = 0,089). Asimismo, tampoco se evidenciaron diferencias entre los grupos con mayor grado de afectación (grupos 2 y 3; p = 1).

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en los sectores superior (p = 0,265), inferior (p = 0,415), nasal (p = 0,465) ni temporal (p = 0,450), sin evidenciarse un patrón consistente en estos territorios.

Figura 29. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en la región central según grupo



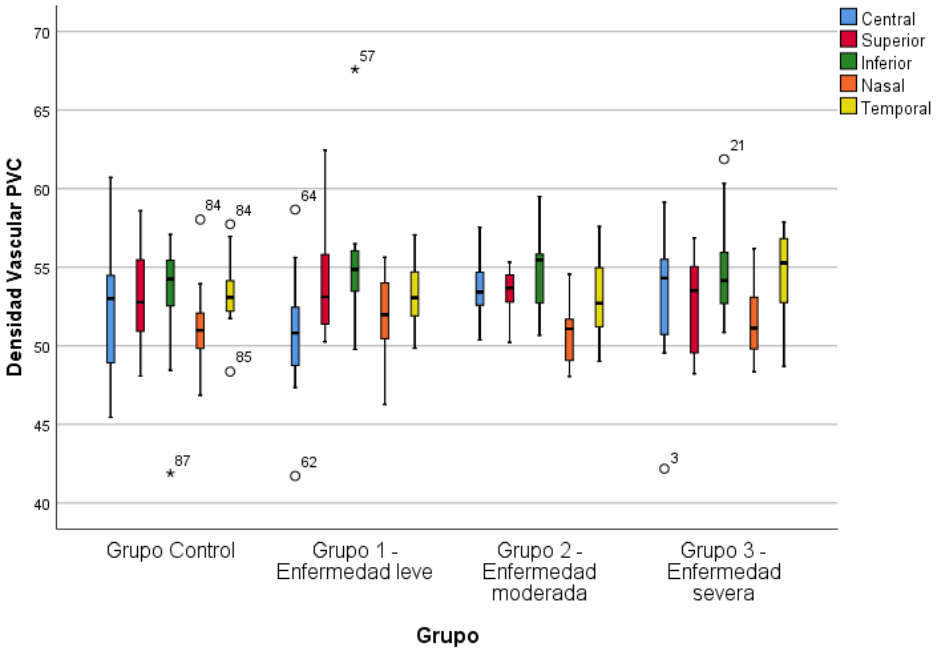
6.3.3.1.3 Densidad vascular en el plexo vascular de la coriocapilar

El análisis no mostró diferencias estadísticamente significativas en la DV del PVC entre los grupos en ninguno de los sectores evaluados. No se observaron diferencias en la región central (p = 0,195), ni en los sectores superior (p = 0,690), inferior (p = 0,402), nasal (p = 0,518) o temporal (p = 0,370).

Tabla 20. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVC en el segundo seguimiento.

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Central	Media (DE)	52,55 (3,94)	50,76 (3,91)	53,61 (2,26)	53,04 (4,05)	0,195[+]
Superior	Media (DE)	53,27 (2,69)	54,03 (3,56)	53,54 (1,46)	52,81 (3,08)	0,690[+]
Inferior	Media (DE)	53,31 (3,55)	55,25 (3,91)	54,60 (2,54)	54,78 (3,33)	0,402[+]
Nasal	Media (DE)	51,18 (2,49)	51,94 (2,69)	50,69 (1,86)	51,73 (2,44)	0,518[+]
Temporal	Media (DE)	53,34 (2,06)	53,27 (2,05)	53,20 (2,63)	54,52 (2,65)	0,370[+]
[+] ANOVA de un factor						

Figura 30. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVC en todas las regiones maculares según grupo



6.3.3.2. Calidad de las imágenes

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la calidad de imagen entre los grupos (p = 0,235). Los valores medios fueron comparables en todos los grupos, lo que sugiere una adecuada homogeneidad en la calidad de las adquisiciones.

Tabla 21. Análisis comparativo de la calidad de las imágenes en el segundo seguimiento.

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación

Calidad de imagen	Media (DE)	72,25 (4,87)	69,62 (4,30)	73,30 (3,32)	69,06 (4,68)	0,235[&]
[&]Kruskal-wallis						

6.3.3.3. Zona avascular foveal

6.3.3.3.1. Análisis cuantitativo

El análisis mediante la prueba de Kruskal–Wallis mostró diferencias estadísticamente significativas en el área de la ZAF entre los grupos ($p < 0,001$). Los valores medios fueron menores en el grupo control y en el grupo con enfermedad leve en comparación con los grupos con enfermedad moderada y severa, evidenciando un aumento del área de la ZAF asociado a mayor gravedad de la enfermedad.

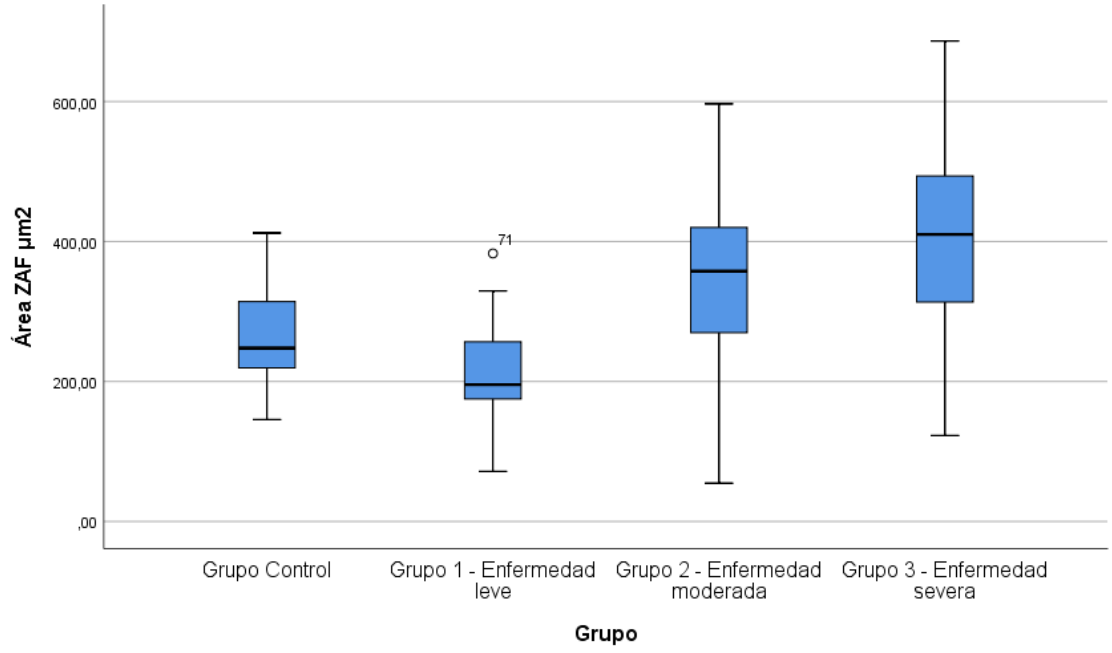
Tabla 22. Análisis comparativo del área de la ZAF según grupos en el segundo seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
ZAF	Media (DE)	263,29 (73,85)	212,25 (78,56)	338,18 (143,80)	413,90 (149,44)	**<0,001[&]**
[&]Kruskal-wallis						

En el análisis *post hoc* (U de Mann–Whitney con corrección por comparaciones múltiples), se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 3 ($p = 0,001$), así como entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p = 0,007$) y entre el grupo 1 y el grupo 3 ($p < 0,001$).

No se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 2 ($p = 0,056$), ni entre los grupos 2 y 3 ($p = 0,235$).

Figura 31. Diagramas de cajas del área de la ZAF según grupo



6.3.3.3.1. Análisis cualitativo

En el análisis de la presencia de muescas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,089), aunque se aprecia una mayor frecuencia en los grupos con mayor gravedad de la enfermedad, especialmente en el grupo severo (26,67%).

En cuanto a la presencia de zonas avasculares, su frecuencia fue baja y no se identificaron diferencias entre los grupos (p = 0,217).

Tabla 23. Análisis comparativo de los hallazgos en la ZAF según grupos en el segundo seguimiento

		Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Muescas	N (%)	0 (0%)	1 (6,25%)	1 (7,69%)	4 (26,67%)	0,089[f]
Zonas avasculares	N (%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7,69%)	0(0%)	0,217[f]
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.						

6.4. *Long* COVID en la cohorte COVID

6.4.1. Revisión de historia clínica

En todos los pacientes pertenecientes a los grupos 2 (enfermedad moderada) y 3 (enfermedad severa) se realizó una revisión de la historia clínica. Se analizaron los cursos clínicos y se recogió información relativa a la presencia de secuelas post-COVID a nivel pulmonar, así como al diagnóstico de síndrome post-COVID en el momento del segundo seguimiento.

6.4.1.1. Secuelas funcionales y radiológicas a nivel pulmonar

Los datos analizados proceden del seguimiento clínico realizado por el servicio de Neumología en relación con la afectación pulmonar. Se recogieron variables radiológicas y de función pulmonar a partir de los informes clínicos del neumólogo, incluyendo los resultados de la tomografía computerizada de tórax y de las pruebas funcionales respiratorias, como la espirometría y la capacidad de difusión.

Se consideraron como secuelas radiológicas aquellos casos en los que se describían hallazgos como opacidades en vidrio deslustrado persistentes. Por otro lado, se definieron como secuelas funcionales aquellos casos en los que se documentaba una disminución de la capacidad funcional respiratoria.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de secuelas pulmonares entre los grupos (p < 0,001). En el grupo 2 (enfermedad moderada), la totalidad de los pacientes no presentó secuelas, mientras que en el grupo 3 (enfermedad severa) se identificaron casos con secuelas radiológicas (n = 4), funcionales (n = 2) y combinadas (n = 3).

Tabla 24. Distribución de las secuelas pulmonares según grupo

	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Sin secuelas	24	13	**<0,001**[f]
Secuelas radiológicas	0	4	
Secuelas funcionales	0	2	
Ambas	0	3	
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton			

6.4.1.2. Diagnóstico de *long* COVID

De la misma manera, se recogieron datos clínicos en relación con el diagnóstico de síndrome *long* COVID y su evolución en el momento del segundo seguimiento.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,466). En el grupo 2 (enfermedad moderada), la mayoría de los pacientes no presentó secuelas (n = 20), mientras que un caso presentó *long* COVID resuelto (n = 1) y tres pacientes mostraron *long* COVID persistente (n = 3).

En el grupo 3 (enfermedad severa), 15 pacientes no presentaron secuelas, tres presentaron *long* COVID resuelto (n = 3) y cuatro pacientes mostraron *long* COVID persistente (n = 4).

Tabla 25. Distribución del diagnóstico de *long* COVID

	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
Sin secuelas	20	15	0,466[f]
Long COVID resuelto	1	3	
Long COVID persistente	3	4	
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton			

6.4.2. Entrevista

En la cohorte estudiada, todos los pacientes, excepto uno del grupo control, habían presentado infección por SARS-CoV-2, con una media de 1,15 episodios (DE 0,56), sin observarse diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p=0,565).

6.4.2.1. Síntomas neurológicos

En relación con los síntomas neurológicos persistentes, no se registraron síntomas en el grupo control. En el grupo de enfermedad leve, 12 pacientes no refirieron síntomas neurológicos,

mientras que se registraron 1 caso de migraña, 2 casos de anosmia y 1 caso de ageusia. En el grupo de enfermedad moderada, 8 pacientes no presentaron síntomas, mientras que se observaron 3 casos de migraña y 2 casos de anosmia. En el grupo de enfermedad severa, 14 pacientes no refirieron síntomas neurológicos y se identificó 1 caso de anosmia.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de síntomas neurológicos persistentes entre los grupos (p = 0,013), aunque se aprecia una tendencia hacia una menor proporción de pacientes sin síntomas en los grupos con mayor gravedad de la enfermedad.

Tabla 26. Presencia de los síntomas neurológicos según grupo

Síntomas neurológicos persistentes	Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
No	15	12	8	14	**0,013**[f]
Sí	0	4	5	1	
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.					

6.4.2.2. Síntomas neuropsicológicos

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia de síntomas neuropsicológicos persistentes entre los grupos (p = 0,012).

En el grupo control y en el grupo 1 (enfermedad leve), la mayoría de los pacientes no presentó síntomas (n = 15 y n = 13, respectivamente). En el grupo de enfermedad leve se observaron 2 casos de alteración de memoria y 1 de dificultad de concentración. En el grupo de enfermedad moderada, 11 pacientes no presentaron síntomas, con 1 caso de alteración de memoria y 1 de dificultad de concentración. En el grupo de enfermedad severa, 8 pacientes no presentaron síntomas, mientras que se registraron 4 casos de alteración de memoria, 4 de dificultad de concentración y 1 de insomnio.

Tabla 27. Presencia de síntomas neuropsicológicos persistentes según grupo

Síntomas neuropsicológicos persistentes	Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
No	15	13	11	8	**0,012**[f]
Sí	0	3	2	7	
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.					

6.4.2.3. Síntomas psicológicos

En relación con los síntomas psicológicos persistentes, no se registraron síntomas en el grupo control ni en el grupo de enfermedad leve. En el grupo de enfermedad moderada, 12 pacientes no presentaron síntomas y se registró 1 caso de depresión. En el grupo de enfermedad severa, 14 pacientes no presentaron síntomas y se registró 1 caso de depresión y 1 caso de ansiedad. La presencia global de síntomas psicológicos persistentes no mostró

diferencias estadísticamente significativas entre los grupos mediante la prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton (p = 0,466)

Tabla 28. Presencia de los síntomas psicológicos según grupo

Síntomas psicológicos persistentes	Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
No	15	16	12	14	0,466[f]
Sí	0	0	1	2	
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.					

6.4.2.4. Otros síntomas sistémicos persistentes

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la presencia global de síntomas sistémicos persistentes entre los grupos mediante la prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton (p = 0,001).

No presentaron síntomas sistémicos 13 pacientes del grupo control, 14 del grupo de enfermedad leve, 6 del grupo de enfermedad moderada y 5 del grupo de enfermedad severa. En cuanto a los síntomas específicos, se registró tos en 1 paciente del grupo control, 1 paciente del grupo de enfermedad moderada y 1 paciente del grupo de enfermedad severa. La fatiga, siendo el síntoma más frecuente de los reportados, se observó en 1 paciente del grupo control, 1 paciente del grupo leve, 4 pacientes del grupo moderado y 7 pacientes del grupo severo. El dolor muscular se registró en 1 paciente del grupo leve, 3 pacientes del grupo moderado y 5 pacientes del grupo severo. La disnea se observó en 2 pacientes del grupo moderado y 3 pacientes del grupo severo. Finalmente, el dolor torácico se registró en 1 paciente del grupo moderado y 1 paciente del grupo severo.

Tabla 29. Presencia de los síntomas sistémicos según grupo

Síntomas sistémicos persistentes	Grupo Control	Grupo 1 – Enfermedad leve	Grupo 2 – Enfermedad moderada	Grupo 3 – Enfermedad severa	Significación
No	13	14	6	5	**0,001**[f]
Sí	2	2	7	10	
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.					

6.5. Análisis prospectivo de la cohorte COVID

6.5.1. Visita basal y primer seguimiento

Los resultados correspondientes al análisis longitudinal entre la visita basal y el primer seguimiento fueron previamente analizados y publicados en *BMJ Open Ophthalmology* (Anexo, 11.1.2. Publicación 2). En dicha publicación se describió un aumento del área de la ZAF y una reducción de la DV en el PVS central en pacientes con enfermedad moderada y grave,

hallazgos que se mantuvieron estables durante el seguimiento temprano, sin evidencia de recuperación. Por este motivo, y con el objetivo de evitar redundancias, en el presente trabajo estos resultados se presentan de forma resumida, remitiendo al lector al artículo original incluido en el anexo.

6.5.2. Visita basal y segundo seguimiento

El análisis longitudinal entre la visita basal y el segundo seguimiento no mostró cambios significativos en el área de la ZAF ni en la DV del sector central, tanto del PVS como del PVP (PVS central: Δ −0,38; p=0,366; PVP central: Δ 0,89; p=0,136). Los valores detallados y su descripción gráfica se encuentran más abajo.

En el PVS, se detectó un modesto aumento de la DV a lo largo del tiempo en los grupos con enfermedad moderada y severa, especialmente en el sector superior (grupo moderado: Δ −2,09; p=0,017; grupo severo: Δ −2,68; p=0,022). En el sector temporal del grupo moderado se observa una disminución discreta (Δ = 1,72; p = 0,028).

En el PVP se observaron cambios estadísticamente significativos en varias regiones maculares, con una tendencia general al aumento de la DV en el seguimiento a los 3 años en todos los grupos, incluido el grupo control, particularmente en los sectores inferior, superior, nasal y temporal (p<0,05 en todos los casos). En contraste, el sector central no mostró cambios significativos en el análisis global (Δ 0,89; p=0,136). No obstante, en este mismo sector se observó un aumento estadísticamente significativo en el grupo con enfermedad severa (Δ 1,36; p=0,041).

Tabla 30. Análisis longitudinal de los cambios en la densidad vascular macular entre la visita basal y el segundo seguimiento en los plexos superficial y profundo

Región macular	Global	Grupo 1 (leve)	Grupo 2 (moderado)	Grupo 3 (severo)	Grupo control
PVS					
Δ (DE) Central	-0,38 (3,25) p=0,366†	-0,73 (4,16) p=0,493+	0,53 (3,69) p=0,610+	-0,92 (2,89) p=0,236+	-0,26 (2,19) p=0,619+
Δ (DE) Inferior	1,25 (6,92) p=0,122*	0,06 (5,47) p=0,100*	2,06 (4,73) p=0,100*	4,10 (12,84) p=0,281*	1,57 (5,77) p=0,356*
Δ (DE) **Superior**	**-1,46 (3,83)** **p=0,004+**	-1,09 (4,29) p=0,323+	**-2,09 (2,74)** **p=0,017+**	**-2,68 (4,03)** **p=0,022+**	-0,26 (3,80) p=0,781+
Δ (DE)	-0,89 (4,63)	-0,33 (6,70)	-1,38 (2,96)	-1,15 (5,04)	-0,82 (3,00)

Nasal	p=0,137[+]	p=0,846[+]	p=0,119[+]	p=0,391[+]	p=0,276[+]
Δ (DE) **Temporal**	**1,15 (3,55)** **p=0,009[*]**	-0,14 (3,44) p=0,756[*]	**1,72 (2,39)** **p=0,028[*]**	0,90 (5,96) p=0,173[*]	1,18 (3,32) p=0,084[*]
Δ (DE) Área ZAF	-1,92 (50,25) p=0,764[+]	-9,88 (25,26) p=0,139[+]	-5,37 (41,94) p=0,652[+]	-6,51 (87,70) p=0,778[+]	11,48 (25,36) p=0,072[+]
Región macular	Global	Grupo 1 (leve)	Grupo 2 (moderado)	Grupo 3 (severo)	Grupo control
PVP					
Δ (DE) Central	0,89 (4,42) p=0,136[*]	1,97 (5,75) p=0,807[*]	0,23 (3,17) p=0,807[*]	**1,36 (4,57)** **p=0,041[*]**	-1,24 (4,98) p=0,500[*]
Δ (DE) **Inferior**	**-7,17 (5,49)** **p<0,001[+]**	**-7,28 (3,91)** **p<0,001[+]**	**-6,18 (7,35)** **p=0,010[+]**	**-6,83 (5,45)** **p<0,001[+]**	**-8,07 (5,51)** **p<0,001[+]**
Δ (DE) **Superior**	**-6,48 (4,87)** **p<0,001[+]**	**-6,26 (6,11)** **p=0,001[+]**	**-7,20 (3,64)** **p<0,001[+]**	**-6,88 (4,48)** **p<0,001[+]**	**-5,82 (5,03)** **p<0,001[+]**
Δ (DE) **Nasal**	**-2,93 (3,89)** **p<0,001[+]**	**-3,75 (3,14)** **p<0,001[+]**	**-3,03 (4,23)** **p=0,024[+]**	**-2,96 (4,59)** **p=0,025[+]**	**-2.08 (3,77)** **p=0,031[+]**
Δ (DE) **Temporal**	**-3,48 (3,73)** **p<0,001[+]**	**-3,52 (3,02)** **p<0,001[+]**	**-3,93 (3,94)** **p=0,004[+]**	**-3,02 (4,72)** **p=0,027[+]**	**-3.52 (3,50)** **p=0,001[+]**

Δ: diferencia de medias (basal-segundo seguimiento)

[*]Test de rangos con signo de Wilcoxon

[†]t de Student pareada

Con el fin de representar la distribución de los parámetros analizados, se incluyen diagramas de cajas. En la leyenda, los valores basales se identifican mediante la etiqueta “1”, mientras que los correspondientes al segundo seguimiento se muestran con el mismo color, pero con un patrón de sombreado (barras ralladas), generalmente etiquetados como “3”.

Figura 32. Comparación del PVS central entre la visita basal y el segundo seguimiento según grupo clínico

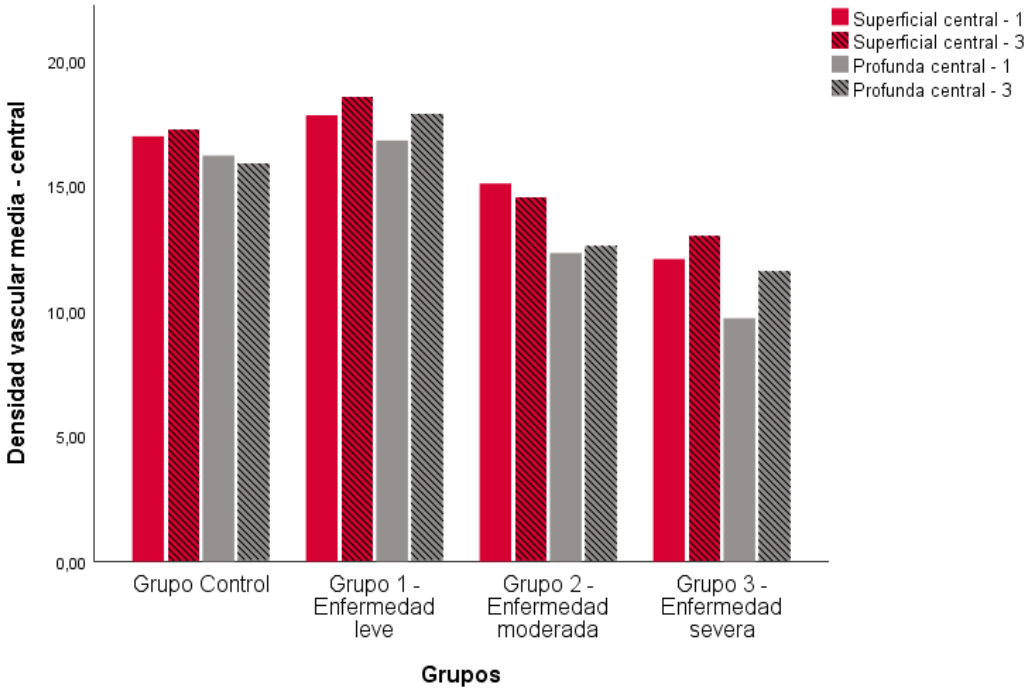


Figura 33. Comparación de los cuadrantes del PVS entre la visita basal y el segundo seguimiento según grupo clínico.

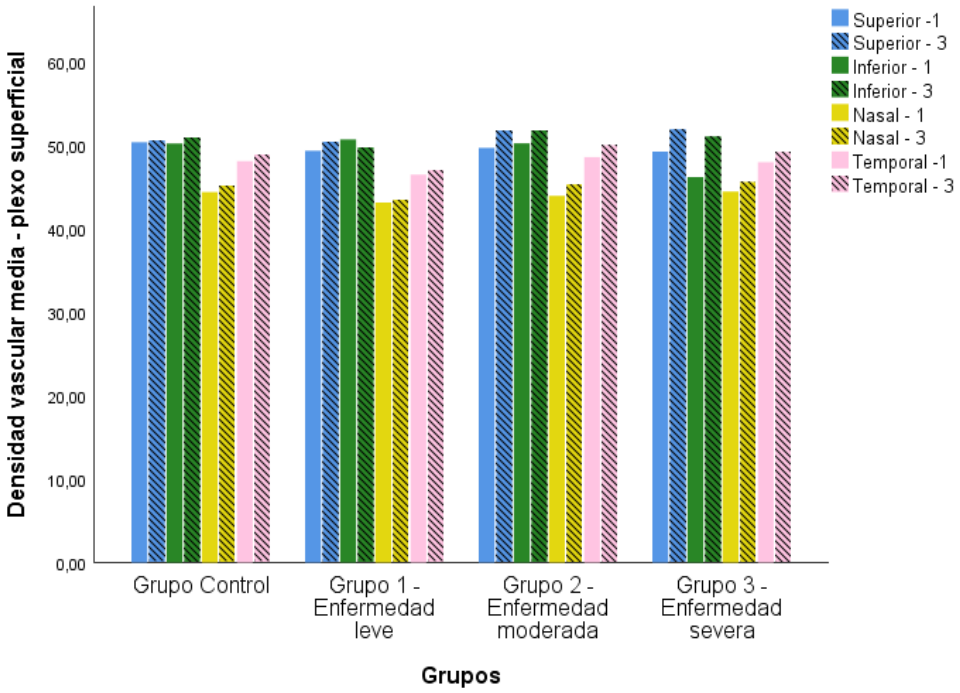


Figura 34. Comparación de los cuadrantes del PVP entre la visita basal y el segundo seguimiento según grupo clínico.

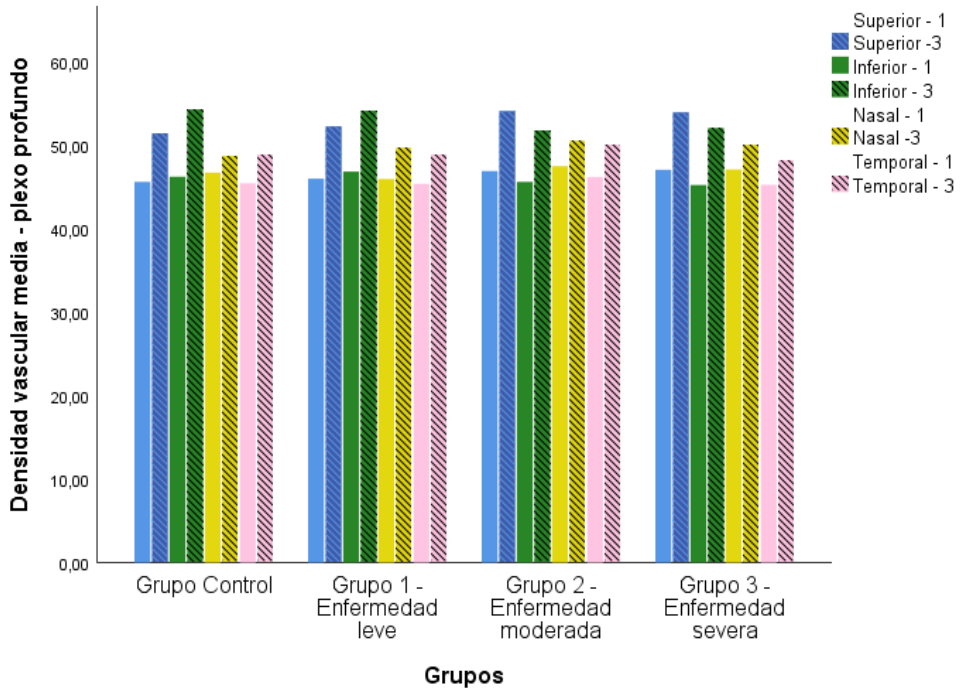
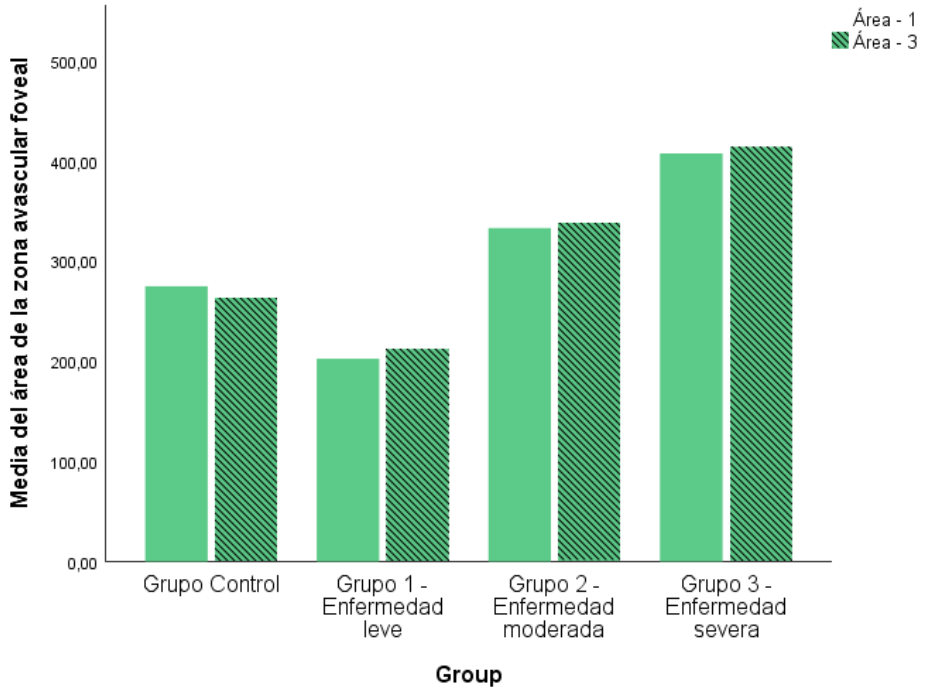


Figura 35. Comparación del área de la ZAF entre la visita basal y el segundo seguimiento según grupo clínico.



En relación con el PVC, los cambios longitudinales observados entre el seguimiento a los 3 meses y a los 3 años fueron en general heterogéneos y de pequeña magnitud. En el sector central no se observaron cambios significativos en el análisis global (Δ −0,01; p=0,988) ni en los distintos grupos clínicos. En contraste, el sector inferior mostró una disminución significativa de la DV en el análisis global (Δ 2,66; p<0,001), hallazgo que se reprodujo de forma consistente

en todos los subgrupos analizados (grupo leve: Δ 3,63; p=0,009; grupo moderado: Δ 3,41; p=0,011; grupo severo: Δ 3,60; p=0,002; grupo control: Δ 1,95; p=0,035), indicando por tanto un incremento de la DV a lo largo del tiempo en todos los grupos.

En el sector superior, el análisis mostró diferencias significativas en el análisis global (Δ −3,12; p<0,001), especialmente en los grupos moderado (Δ −3,76; p<0,001), severo (Δ −4,18; p=0,002) y control (Δ −3,18; p<0,001). Los valores negativos observados indican en realidad un aumento de la DVr, mientras que en el grupo leve esta tendencia no alcanzó significación estadística. Finalmente, en los sectores nasal y temporal no se observaron cambios significativos en ninguno de los grupos analizados.

Tabla 31. Análisis longitudinal de los cambios en la densidad vascular macular entre la visita basal y el segundo seguimiento en el plexo coriocapilar

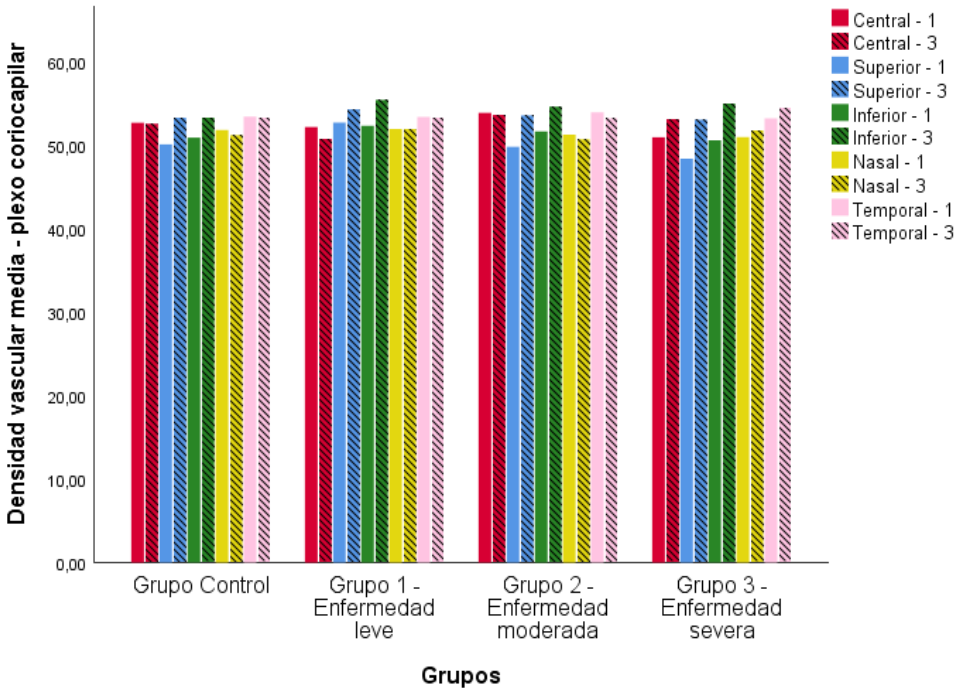
Región macular	Global	Grupo 1 (leve)	Grupo 2 (moderado)	Grupo 3 (severo)	Grupo control
PVC					
Δ (DE) Central	-0,01 (5,15) p=0,988[+]	1,83 (4,70) p= 0,154[+]	0,23 (3,20) p=0,799[+]	-2,20 (7,61) p=0,280[+]	0,11 (3,63) p=0,896[+]
Δ (DE) Inferior	**2,66 (4,89)** **p<0,001[*]**	**3,63 (4,42)** **p=0,009[*]**	**3,41 (5,43)** **p=0,011[*]**	**3,60 (5,59)** **p=0,002[*]**	**1,95 (6,49)** **p=0,035[*]**
Δ (DE) Superior	**-3,12 (3,51)** **p<0,001[+]**	-1,44 (3,65) p=0,149[+]	**-3,76 (2,08)** **p<0,001[+]**	**-4,18 (4,41)** **p=0,002[+]**	**-3,18 (3,10)** **p<0,001[+]**
Δ (DE) Nasal	0,10 (3,54) p=0,814[+]	0,02 (3,58) p=0,975[+]	0,55 (3,46) p=0,572[+]	-0,81 (4,16) p=0,457[+]	0,61 (3,19) p=0,426[+]
Δ (DE) Temporal	-0,08 (3,31) p=0,850[+]	0,27 (3,53) p=0,765[+]	0,71 (2,64) p=0,352[+]	-1,29 (4,16) p=0,250[+]	0,05 (2,71) p=0,932[+]

Δ: diferencia de medias (basal-segundo seguimiento)

[*]Test de rangos con signo de Wilcoxon

[†]t de Student pareada

Figura 36. Comparación de la densidad vascular del PVC entre la visita basal y el seguimiento según grupo clínico



6.6. Cohorte *long* COVID

6.6.1. Características demográficas

Para la cohorte de *long* COVID, el análisis oftalmológico se realizó entre el 25 de enero de 2023 y el 31 de julio de 2024, incluyendo un total de 73 participantes que accedieron a someterse a la exploración oftalmológica.

Se excluyeron 8 pacientes del análisis por no cumplir los criterios de inclusión, resultando en un total final de 65 sujetos evaluados.

Los participantes se distribuyeron en cuatro grupos: grupo control sin antecedente de COVID-19 (n = 10), grupo 1 con antecedente de COVID-19 sin *long* COVID (n = 14), grupo 2 con *long* COVID y deterioro cognitivo (n = 31) y grupo 3 con *long* COVID sin deterioro cognitivo (n = 10).

Tabla 32. Características demográficas

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *Long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación
Número de individuos (n)		10	14	31	10	

Sexo	Hombre	3	2	2	1	0,263*
	Mujer	7	12	29	9	
Edad	Media	52,97	46,23	47,06	47,63	0,630+
Área profesional	Servicios sanitarios	0	1	1	0	0,717*
	Médico	3	2	3	1	
	Enfermero/a	0	2	7	2	
	Auxiliar sanitario	0	0	3	1	
	Otros	7	9	17	6	
Nivel educativo	Primaria	0	0	1	0	0,090*
	Universidad	3	5	14	3	
	Máster	2	5	2	4	
	Bachillerato	2	0	11	2	
	Secundaria	0	0	2	0	
	Doctorado	3	4	1	1	
Hipertensión	Sí	1	2	4	2	0,926*
	No	9	12	27	8	
Colesterol	Sí	2	1	7	1	0,559*
	No	8	13	24	9	
Diabetes	Sí	0	0	0	0	
	No	10	14	31	10	
Alcohol	Sí	4	7	11	4	0,871*
	No	6	7	19	6	
Tabaco	Exfumador	6	5	12	1	0,203*
	Nunca	4	9	16	7	
	Fumador	0	0	3	2	
*χ^2						

[+]ANOVA de un factor

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los cuatro grupos en ninguna de las variables categóricas analizadas (sexo, área profesional, nivel educativo, hipertensión, colesterol, alcohol y tabaco), ya que en todos los casos el valor de p fue superior a 0,05.

La variable con mayor tendencia a diferencia fue el nivel educativo (p = 0,09), aunque no alcanzó significación estadística. No hubo ningún paciente diabético en la cohorte.

6.6.2. Retinografías

6.6.2.1. Hallazgos cualitativos

En las retinografías únicamente se identificaron dos hallazgos. Un paciente del grupo *long* COVID con deterioro cognitivo, mostró una hemorragia intrarretiniana aislada, sin otros signos asociados de retinopatía hipertensiva u otras alteraciones microvasculares. Asimismo, en otro paciente del mismo grupo se observó la persistencia de fibras nerviosas mielinizadas, sin otros hallazgos patológicos asociados.

6.6.2.2. Hallazgos cuantitativos

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el calibre de las arterias retinianas entre los grupos (p = 0,008). Los valores medios fueron menores en el grupo control en comparación con los grupos con antecedente de COVID-19, especialmente en el grupo 2 (*long* COVID con deterioro cognitivo), que presentó los valores más elevados.

Tabla 33. Análisis comparativo de los parámetros de la retinografía.

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *Long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación
CRAE	Media (DE)	8,49 (2,77)	10,07 (1,00)	10,71 (1,09)	10,48 (1,25)	**0,008**[+]
CRVE	Media (DE)	12,56 (4,94)	14,60 (2,24)	15,30 (1,40)	15,02 (1,07)	0,063[+]
Tortuosidad arterial	Media (DE)	1,015 (0,007)	1,018 (0,007)	1,018 (0,008)	1,014 (0,004)	0,559[+]
Tortuosidad venosa	Media (DE)	1,018 (0,002)	1,019 (0,008)	1,019 (0,007)	1,020 (0,003)	0,678[+]
[+]ANOVA de un factor						

En el análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni, se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo 2 (p = 0,005). No se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 1 (p = 0,206) ni el grupo 3 (p = 0,078), ni entre el resto de comparaciones entre grupos.

En cuanto al calibre venoso, no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,063), aunque se observó una tendencia hacia valores más elevados en los grupos con *long* COVID.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la tortuosidad arterial (p = 0,559) ni venosa (p = 0,678) entre los grupos.

6.6.3. OCT

6.6.3.1. Hallazgos cualitativos

Se identificó un único hallazgo patológico en el grupo 1, correspondiente a un paciente con un agujero macular lamelar, con preservación de las capas externas foveales.

6.6.3.2. Hallazgos cuantitativos

No se realizó un análisis estadístico de los grosores maculares. No obstante, en todos los casos, los mapas de grosor macular se encontraban dentro de los valores de referencia de la base normativa.

6.6.4. Angiografía por OCT

6.6.4.1. Densidad vascular en los plexos vasculares

6.6.4.1.1. Densidad vascular en los plexos vascular superficial

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la DV entre los grupos en ninguna de las regiones analizadas: central (p = 0,268), superior (p = 0,402), inferior (p = 0,403), nasal (p = 0,221) ni temporal (p = 0,213).

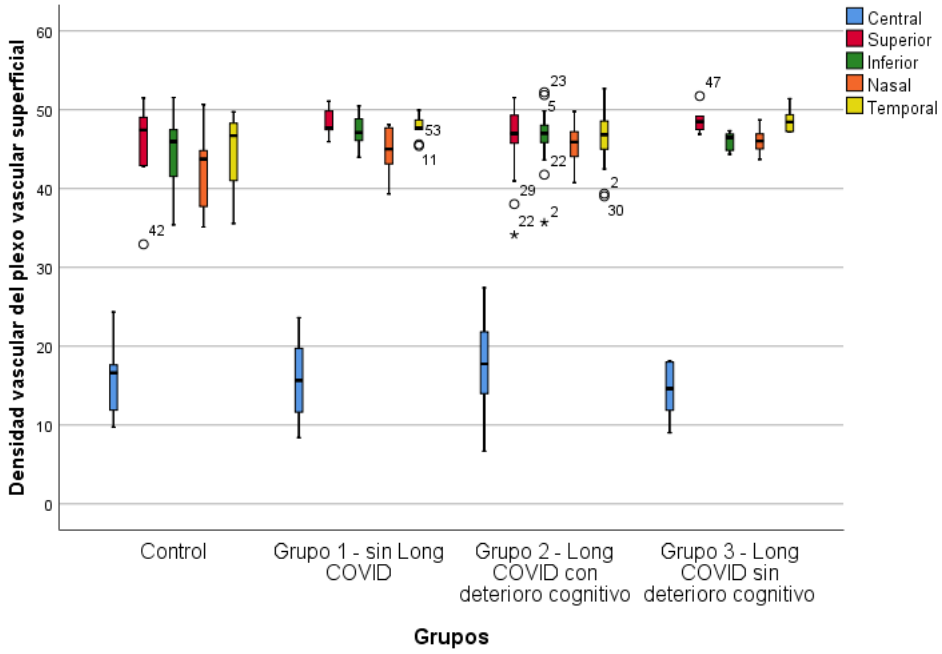
Los valores medios fueron comparables entre los distintos grupos, sin evidenciarse un patrón consistente en relación con la presencia de *long* COVID o el deterioro cognitivo. Estos resultados se representan de forma visual mediante un diagrama de cajas, que ilustra la distribución de los valores en cada grupo.

Tabla 34. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVS

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación
Central	Media (DE)	15,79 (1,63)	15,58 (4,49)	17,78 (4,69)	14,37 (3,52)	0,268[+]
Superior	Media (DE)	45,39 (5,86)	48,43 (1,64)	46,74 (3,85)	48,71 (1,69)	0,402[&]
Inferior	Media (DE)	44,61 (5,05)	47,23 (1,87)	46,81 (3,05)	46,06 (1,21)	0,403[&]
Nasal	Media (DE)	42,30 (5,19)	44,99 (2,88)	45,48 (2,32)	46,08 (1,71)	0,221[&]

Temporal	Media (DE)	44,66 (5,20)	47,68 (1,37)	46,52 (3,08)	48,67 (1,57)	0,213[&]
[+]ANOVA de un factor [&] Kruskal-Wallis						

Figura 37. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS en todas las regiones maculares según grupo



6.6.4.1.2. Densidad vascular en el plexo vascular profundo

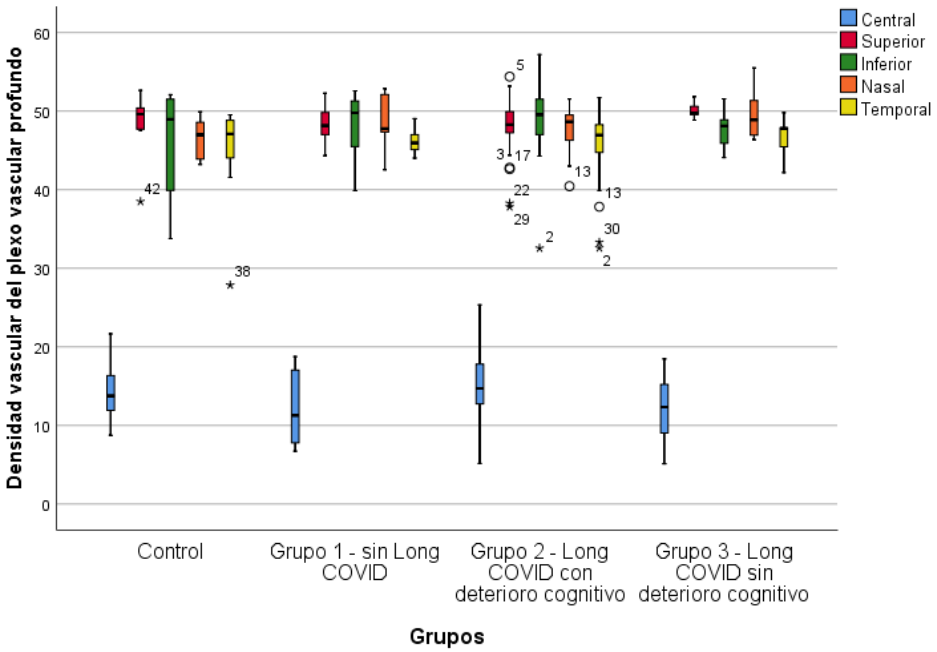
No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la DV entre los grupos en ninguna de las regiones analizadas: central (p = 0,184), superior (p = 0,288), inferior (p = 0,606), nasal (p = 0,370) ni temporal (p = 0,755).

Tabla 35. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVP

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación
Central	Media (DE)	14,30 (4,09)	12,05 (4,35)	15,10 (4,36)	12,08 (4,98)	0,184[+]
Superior	Media (DE)	48,32 (4,28)	48,42 (2,46)	47,97 (3,84)	50,07 (1,03)	0,288[&]
Inferior	Media (DE)	45,83 (7,66)	48,54 (4,00)	49,21 (4,30)	47,77 (2,57)	0,606[&]
Nasal	Media (DE)	46,50 (2,56)	48,59 (3,50)	46,71 (6,33)	49,66 (3,35)	0,370[&]

Temporal	Media (DE)	44,66 (7,23)	46,08 (1,50)	45,60 (4,53)	46,82 (2,66)	0,755[&]
[+]ANOVA de un factor [&] Kruskal-Wallis						

Figura 38. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP en todas las regiones maculares según grupo



6.6.4.1.3. Densidad vascular en el plexo vascular de la coriocapilar

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las regiones central (p = 0,836), superior (p = 0,919), nasal (p = 0,381) ni temporal (p = 0,087), con valores medios comparables entre los distintos grupos.

Sin embargo, se identificaron diferencias estadísticamente significativas en la región inferior (p = 0,021). En el análisis *post hoc* mediante U de Mann–Whitney, se observaron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 2 (p = 0,023), así como entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,010). No se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo 1 (p = 0,829), ni entre el grupo control y el grupo 3 (p = 0,220), ni entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,159), ni entre los grupos 2 y 3 (p = 0,702).

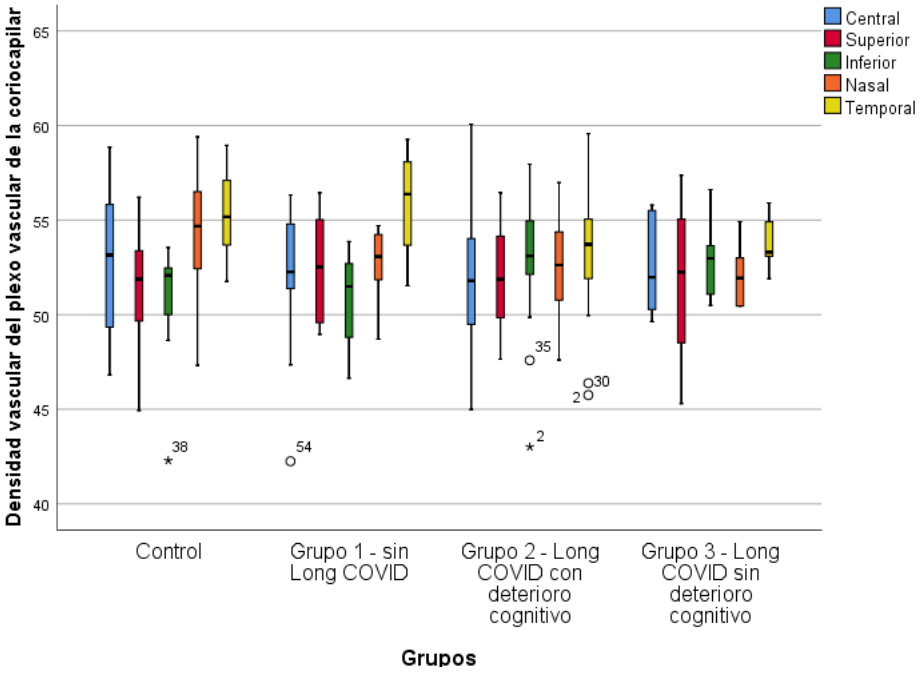
Estos resultados indican que los valores más elevados observados en la región inferior se concentran principalmente en el grupo 2 y menos marcadamente en el grupo 3.

Tabla 36. Análisis comparativo de la densidad vascular del PVC

		Grupo Control	Grupo 1 – sin l*ong* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación

Central	Media (DE)	52,79 (4,30)	51,62 (4,11)	51,62 (3,57)	52,52 (2,59)	0,836[+]
Superior	Media (DE)	51,37 (3,45)	52,53 (2,65)	52,07 (2,50)	51,79 (4,65)	0,919[&]
Inferior	Media (DE)	**50,61 (3,65)**	**50,85 (2,32)**	**53,04 (2,19)**	**52,26 (2,96)**	**0,021[&]**
Nasal	Media (DE)	54,24 (3,72)	52,69 (2,03)	52,52 (2,63)	52,11 (1,71)	0,381[+]
Temporal	Media (DE)	55,42 (2,41)	55,76 (2,57)	53,44 (3,06)	53,73 (1,43)	0,087[+]
[+]ANOVA de un factor [&] Kruskal-Wallis						

Figura 39. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVC en todas las regiones maculares según grupo



6.6.4.1.4. Calidad de las imágenes

La siguiente tabla muestra los valores medios de calidad de imagen obtenidos en los distintos grupos de la cohorte de *long* COVID. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,558).

Tabla 37. Análisis comparativo de la calidad de las imágenes

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación

Calidad de imagen	Media (DE)	68,50 (8,76)	72,30 (3,12)	72,37 (5,68)	73,00 (4,69)	0,558[&]
[&] Kruskal-wallis						

6.6.4.2 Zona avascular foveal

6.6.4.2.1 Análisis cuantitativo del Área de la Zona Avascular Foveal

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (p = 0,388)

Tabla 38. Análisis comparativo del área de la zona avascular foveal en la cohorte *long* COVID

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación
Área de la ZAF	Media (DE)	261,82 (140,30)	327,01 (130,16)	250,90 (105,87)	247,74 (160,30)	0,388[+]
[+]ANOVA de un factor						

6.6.4.2.2 Análisis cualitativo

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en cuanto a muescas o a zonas de pérdida vascular perifoveal.

Tabla 39. Análisis de los hallazgos patológicos a nivel de la zona avascular foveal

		Grupo Control	Grupo 1 – sin *long* COVID	Grupo 2 – *Long* COVID con deterioro cognitivo	Grupo 3 – *Long* COVID sin deterioro cognitivo	Significación
Muescas	N (%)	0 (0%)	2 (14,28%)	1 (3,23%)	1 (10%)	0,340[f]
Zonas avasculares	N (%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3,23%)	0 (0%)	1,000[f]
[f]Prueba exacta de Fisher-Freeman-Halton.						

6.7. Análisis comparativo entre la cohorte COVID y la cohorte *long* COVID

En este apartado se realiza un análisis comparativo entre la cohorte COVID y la cohorte *long* COVID. El objetivo de este análisis es explorar posibles diferencias entre grupos en los parámetros clínicos y microvasculares evaluados.

6.7.1. Plexo vascular superficial

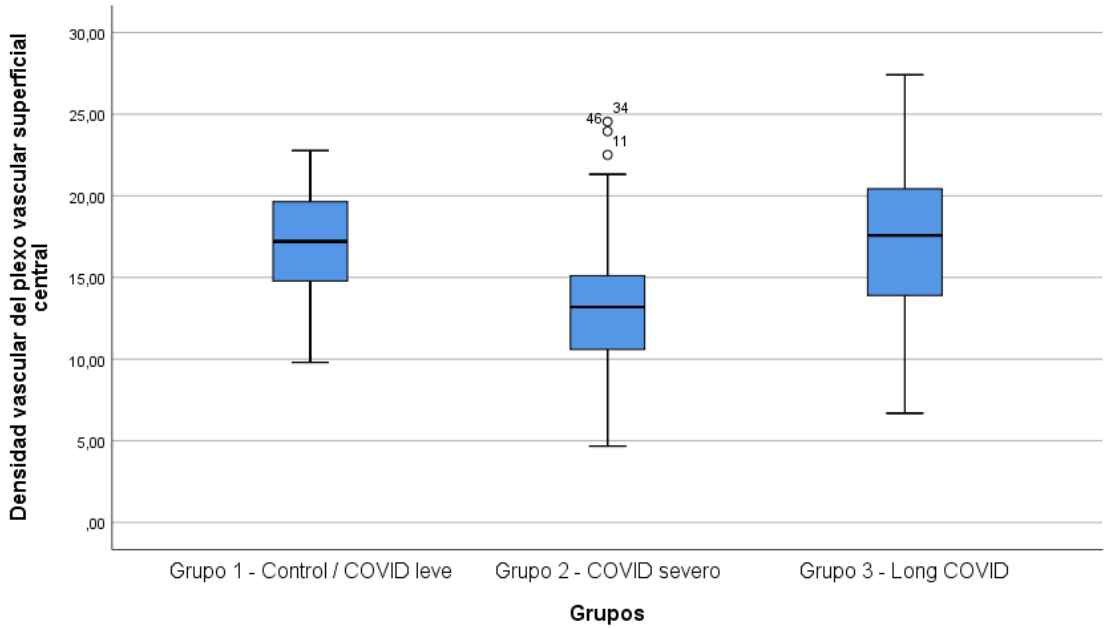
Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las regiones central ($p < 0,001$), superior ($p < 0,001$) e inferior ($p < 0,001$), mientras que no se identificaron diferencias en las regiones nasal ($p = 0,085$) ni temporal ($p = 0,090$).

En la región central, el grupo 2 (COVID severo) presentó valores inferiores en comparación con el grupo 1 (control/COVID leve) y el grupo 3 (*long* COVID). En el análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni, se observaron diferencias significativas entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p < 0,001$), así como entre el grupo 2 y el grupo 3 ($p < 0,001$), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 3 ($p = 1$).

Tabla 40. Análisis comparativo a nivel del plexo vascular superficial

		Grupo 1 - Control / COVID leve	Grupo 2 - COVID severo	Grupo 3 - *Long* COVID	Significación
Central	Media (DE)	**16,93 (3,51)**	**13,54 (4,38)**	**17,21 (4,65)**	**<0,001**[+]
Superior	Media (DE)	**49,52 (3,24)**	**49,25 (2,91)**	**46,69 (2,83)**	**<0,001**[+]
Inferior	Media (DE)	**50,21 (3,18)**	**49,11 (4,65)**	**47,07 (3,64)**	**<0,001**[&]
Nasal	Media (DE)	44,10 (3,70)	44,30 (3,26)	45,58 (2,22)	0,085[+]
Temporal	Media (DE)	47,34 (2,63)	48,06 (4,05)	46,88 (2,98)	0,090[&]
[+]ANOVA de un factor [&] Kruskal-Wallis					

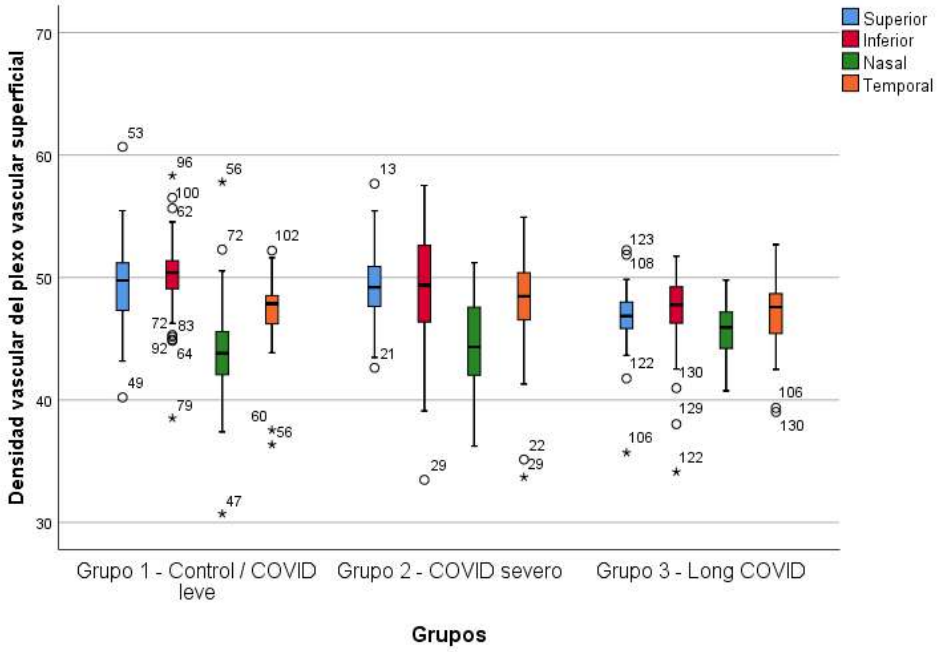
Figura 40. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVS central según grupo



En la región superior, el grupo 3 (*long* COVID) presentó valores inferiores respecto a los otros grupos. El análisis *post hoc* Bonferroni mostró diferencias significativas entre el grupo 1 y el grupo 3 ($p < 0,001$), así como entre el grupo 2 y el grupo 3 ($p = 0,001$), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p = 1$).

En la misma línea, en la región inferior, el análisis *post hoc* mediante test de Mann-Whitney mostró diferencias significativas entre el grupo 1 y el grupo 3 ($p < 0,001$), así como entre el grupo 2 y el grupo 3 ($p = 0,017$), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p = 0,310$).

Figura 41. Diagramas de cajas de la densidad vascular del resto de regiones maculares del PVS según grupo



6.7.2. Plexo vascular profundo

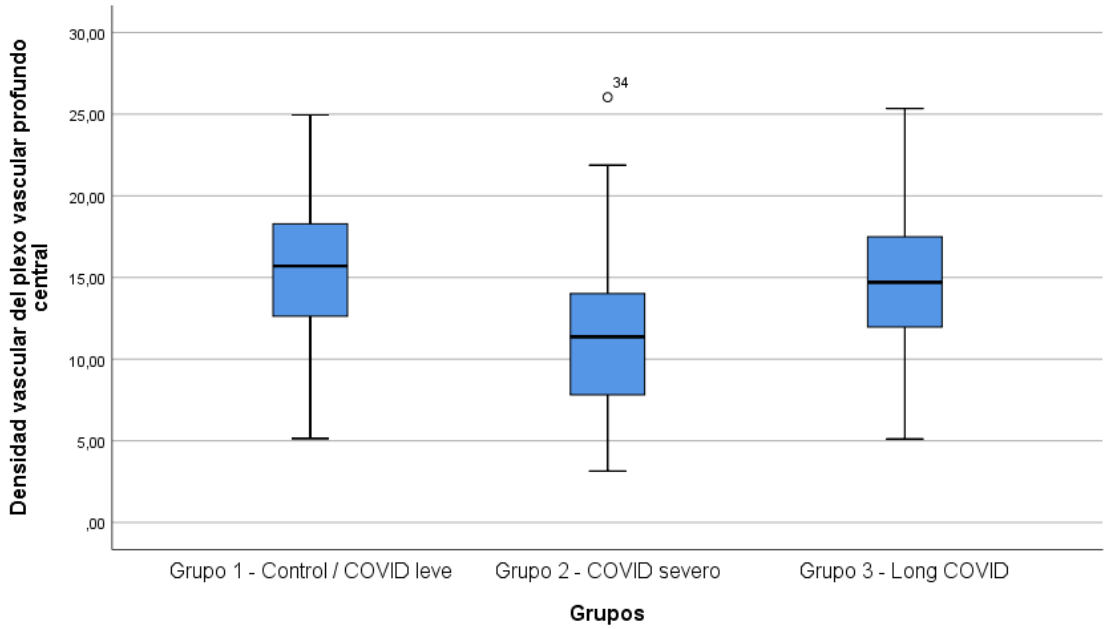
La siguiente tabla muestra los valores de DV en el PVP para los tres grupos analizados. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en las regiones central ($p < 0,001$), superior ($p < 0,001$), inferior ($p < 0,001$) y temporal ($p = 0,008$), mientras que no se identificaron diferencias en la región nasal ($p = 0,425$).

Tabla 41. Análisis comparativo a nivel del plexo vascular profundo

		Grupo 1 - Control / COVID leve	Grupo 2 - COVID severo	Grupo 3 - *Long* COVID	Significación
Central	Media (DE)	**15,76 (4,30)**	**11,15 (4,54)**	**14,60 (4,54)**	**<0,001**[+]
Superior	Media (DE)	**45,46 (3,79)**	**45,94 (4,47)**	**48,32 (3,60)**	**<0,001**[&]
Inferior	Media (DE)	**46,40 (4,35)**	**45,27 (5,24)**	**48,97 (4,07)**	**<0,001**[&]
Nasal	Media (DE)	45,94 (3,22)	46,60 (4,54)	45,80 (4,26)	0,425[&]
Temporal	Media (DE)	**44,75 (3,83)**	**45,82 (3,05)**	**48,03 (2,85)**	**0,008**[+]
[+]ANOVA de un factor [&]Kruskal-Wallis					

En la región central, el grupo 2 (COVID severo) presentó valores significativamente inferiores en comparación con el grupo 1 y el grupo 3. El análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni confirmó diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p < 0,001$) y entre el grupo 2 y el grupo 3 ($p = 0,002$), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 3 ($p = 0,679$).

Figura 42. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVP central según grupo

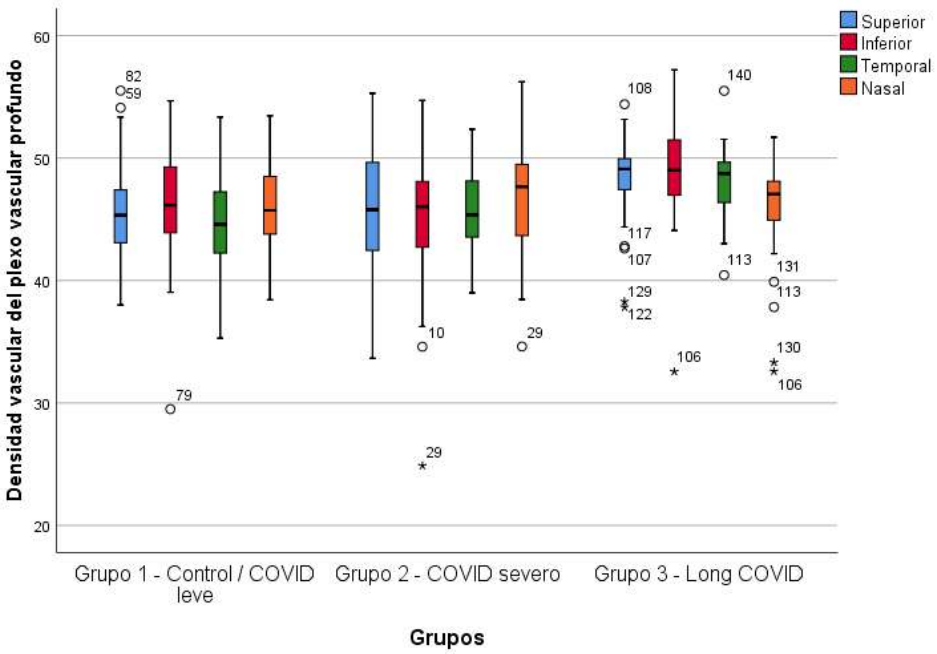


En la región superior, el análisis *post hoc* mediante test de Mann-Whitney mostró que el grupo 3 (*long* COVID) presentó valores significativamente más elevados en comparación con el grupo 1 ($p < 0,001$) y el grupo 2 ($p = 0,008$), sin diferencias entre los grupos 1 y 2 ($p = 0,462$).

De forma similar, en la región inferior, el análisis *post hoc* con Mann-Whitney evidenció valores superiores en el grupo 3 respecto al grupo 1 ($p = 0,001$) y al grupo 2 ($p < 0,001$), sin diferencias entre estos últimos ($p = 0,405$).

En la región temporal, el análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni mostró que el grupo 3 presentó valores más elevados en comparación con el grupo 1 ($p < 0,001$) y el grupo 2 ($p = 0,011$), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 ($p = 0,332$).

Figura 43. Diagramas de cajas de la densidad vascular del resto de regiones maculares del PVP según grupo



6.7.3. Plexo vascular de la coriocapilar

La siguiente tabla muestra los valores de densidad en el PVC para los tres grupos analizados. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en la región central (p = 0,454) ni en la región temporal (p = 0,284).

Sin embargo, se identificaron diferencias significativas en las regiones superior (p = 0,001), inferior (p = 0,008) y nasal (p < 0,001).

En la región superior, el análisis *post hoc* con corrección de Bonferroni mostró que el grupo 3 (*long* COVID) presentó valores significativamente más elevados en comparación con el grupo 2 (COVID severo) (p = 0,001), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,091) ni entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,221).

De forma similar, en la región inferior, el análisis *post hoc* con Bonferroni evidenció que el grupo 3 presentó valores superiores al grupo 2 (p = 0,001), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,091) ni entre el grupo 1 y el grupo 3 (p = 0,221).

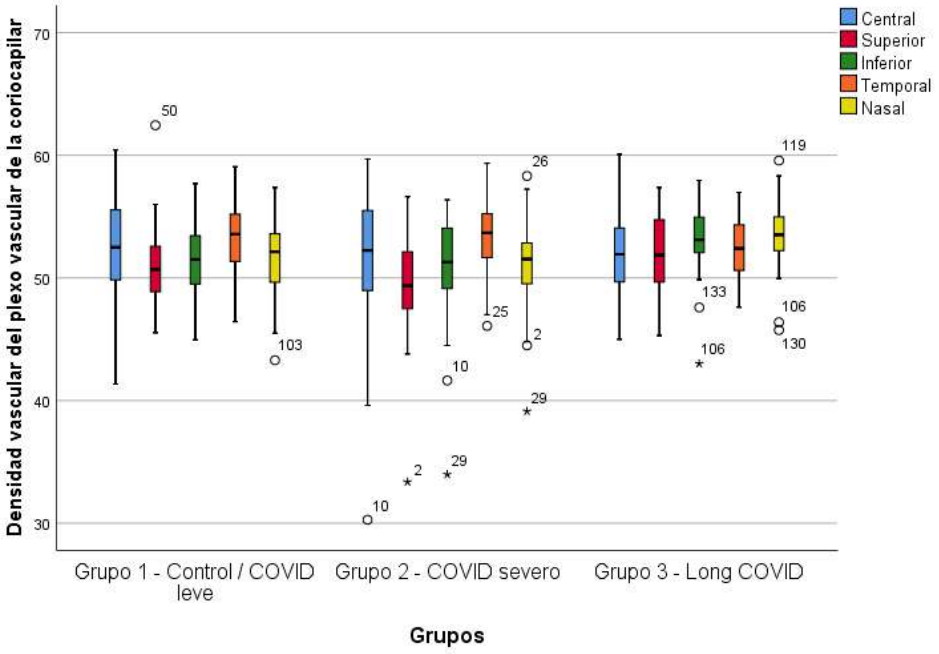
En la región nasal, el análisis *post hoc* mediante test de Mann-Whitney mostró que el grupo 3 presentó valores significativamente más elevados en comparación tanto con el grupo 2 (p < 0,001) como con el grupo 1 (p = 0,001), sin diferencias entre el grupo 1 y el grupo 2 (p = 0,376).

Tabla 42. Análisis comparativo a nivel del plexo vascular de la coriocapilar

		Grupo 1 - Control / COVID leve	Grupo 2 - COVID severo	Grupo 3 - *Long* COVID	Significación
Central	Media (DE)	52,64 (4,33)	51,58 (5,48)	51,77 (3,41)	0,454[+]
Superior	Media (DE)	**50,77 (2,92)**	**49,37 (3,78)**	**52,02 (2,88)**	**0,001[+]**

Inferior	Media (DE)	**51,47 (2,78)**	**50,79 (4,03)**	**53,03 (2,72)**	**0,008**[+]
Nasal	Media (DE)	**51,69 (2,74)**	**51,05 (3,60)**	**53,49 (2,84)**	**<0,001**[&]
Temporal	Media (DE)	53,26 (2,78)	53,34 (2,94)	52,44 (2,48)	0,284[+]
[+]ANOVA de un factor [&] Kruskal-Wallis					

Figura 44. Diagramas de cajas de la densidad vascular del PVC según grupo



7. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que la infección por SARS-CoV-2, especialmente en sus formas moderadas y graves, se asocia con alteraciones subclínicas de la microvasculatura retiniana detectables mediante OCTA, mientras que las técnicas estructurales convencionales, como la retinografía y la OCT, no evidencian secuelas retinianas persistentes.

No obstante, este patrón no se reprodujo de forma consistente en la cohorte *long* COVID, en la que no se identificó un perfil microvascular diferencial asociado al deterioro cognitivo. Estos hallazgos sugieren que la afectación microvascular retiniana observada podría estar más vinculada a la gravedad de la infección aguda que a las manifestaciones clínicas persistentes del síndrome post-COVID.

7.1. Respecto al diseño, inclusión y exclusión de pacientes

7.1.1. Diseño y justificación de las cohortes

El presente estudio se estructuró en dos cohortes independientes. En primer lugar, se diseñó un estudio prospectivo de casos y controles con seguimiento longitudinal iniciado durante la primera fase de la pandemia de COVID-19. Posteriormente, el estudio se complementó mediante la incorporación de una segunda cohorte de pacientes (cohorte *long* COVID), analizada mediante un diseño transversal.

En el diseño de la cohorte COVID-19 se incluyeron cuatro grupos de estudio: un grupo control sin antecedentes de infección por SARS-CoV-2 y tres grupos de pacientes con infección confirmada mediante PCR estratificados según la gravedad clínica de la enfermedad (leve, moderada y grave). Esta estratificación respondió al contexto científico existente en los primeros meses de la pandemia, en el que se postulaba que la gravedad de la enfermedad y la intensidad de la respuesta inflamatoria sistémica; reflejada entre otros, por marcadores como los niveles de interleucina-6. De hecho, se identificó que los valores elevados de IL-6 se correlacionan con mayor gravedad clínica de la neumonía por COVID-19, así como con un mayor riesgo de ingreso en UCI, ventilación mecánica y mortalidad (191, 192). En este sentido, la clasificación por gravedad permitió explorar la posible existencia de un gradiente de afectación microvascular retiniana en función de la severidad de la infección aguda como una de las hipótesis secundarias del estudio.

Asimismo, en esta cohorte se evaluó el uso concomitante de IECA y ARA II. Dado que el receptor ACE2 actúa como puerta de entrada del SARS-CoV-2 en las células, se planteó la hipótesis de que fármacos moduladores del sistema renina-angiotensina podrían influir en la evolución de la infección. Sin embargo, la evidencia demostró que el uso concomitante de IECA y ARA II no se asocia con un aumento de la mortalidad ni de la gravedad de la enfermedad en pacientes con COVID-19 (193).

7.1.2. Cohorte *long* COVID y síntomas neurocognitivos

La cohorte *long* COVID se diseñó para ampliar el alcance del estudio hacia la fase post-aguda de la enfermedad. En la cohorte *long* COVID se incluyeron cuatro grupos de estudio: un grupo control sin antecedente de infección por SARS-COV-2, un grupo de pacientes con antecedente de COVID-19 sin *long* COVID, un grupo de pacientes con *long* COVID asociado a deterioro cognitivo y un grupo de pacientes con *long* COVID sin deterioro cognitivo.

Estudios recientes describieron alteraciones estructurales en la sustancia blanca cerebral detectadas mediante resonancia magnética en pacientes con *long* COVID y síntomas neurológicos (194). Por ello, la diferenciación entre pacientes con y sin deterioro cognitivo se realizó con el objetivo de explorar la posible relación entre alteraciones microvasculares retinianas y manifestaciones neurológicas persistentes, evaluando el potencial de la OCTA como biomarcador de deterioro cognitivo tras la enfermedad.

7.1.3. Tamaño muestral

El tamaño muestral de la cohorte COVID-19 debe interpretarse en el contexto del reclutamiento realizado durante la primera fase de la pandemia, en un periodo caracterizado por importantes limitaciones asistenciales y logísticas. La realización de exploraciones oftalmológicas completas, incluyendo OCT y OCTA, requirió condiciones técnicas específicas y la colaboración activa del paciente, lo que condicionó el número de participantes incluidos. No obstante, la cohorte obtenida permitió analizar los parámetros microvasculares retinianos de interés y es similar o mayor al tamaño muestral de otros estudios publicados que han evaluado la microvasculatura retiniana mediante OCTA en pacientes con COVID-19.

Sin embargo, la cohorte *long* COVID no alcanzó finalmente el tamaño muestral inicialmente previsto ni presentó una distribución homogénea entre los grupos. Esta limitación debe interpretarse en el contexto del reclutamiento real de pacientes con síntomas persistentes, en el que determinados perfiles clínicos, especialmente los pacientes con *long* COVID y deterioro cognitivo, pudieron estar más representados por presentar mayor sintomatología o mayor motivación para participar en estudios clínicos. Este desequilibrio reduce la potencia estadística para detectar diferencias entre grupos y aumenta el riesgo de error tipo II, especialmente en comparaciones entre subgrupos con menor número de participantes.

7.1.4. Comparabilidad entre cohortes y control de factores de confusión

Los criterios de exclusión, comunes a ambas cohortes, se establecieron con el objetivo de obtener una muestra homogénea desde el punto de vista oftalmológico y reducir factores de confusión relacionados con patología oftalmológica como la miopía magna o enfermedades vasculares sistémicas que pudiera producir alteraciones en la DV o signos de retinopatía.

Aunque la cohorte *long* COVID fue incorporada de forma independiente y con un diseño transversal, ambas cohortes fueron evaluadas mediante criterios oftalmológicos y procedimientos de imagen comparables, y compartieron criterios de exclusión. Desde este punto de vista, las cohortes pueden considerarse razonablemente comparables para el análisis exploratorio de parámetros retinianos. Además, la disponibilidad de una cohorte longitudinal inicial y una cohorte independiente centrada en *long* COVID constituye una fortaleza del

estudio, ya que permite abordar la afectación retiniana desde dos perspectivas complementarias: la evolución temporal tras la infección aguda y la posible asociación con síntomas persistentes en la fase post-aguda.

No obstante, una limitación del estudio es que no se realizó una comparación estadística formal de las características demográficas y clínicas entre la cohorte COVID-19 longitudinal inicial y la cohorte *long* COVID. Por tanto, aunque ambas cohortes fueron reclutadas bajo criterios similares y evaluadas con técnicas de imagen estandarizadas, no puede descartarse completamente la influencia de diferencias residuales en variables como edad, sexo, comorbilidades, origen étnico, gravedad de la infección inicial o tiempo transcurrido desde la infección. Este aspecto resulta especialmente relevante en estudios de microvasculatura retiniana, ya que algunos de estos factores pueden influir sobre los parámetros de OCTA.

Asimismo, debe considerarse la posible influencia de la variable étnica como factor de confusión. En nuestro estudio se observó una mayor proporción de pacientes de origen latino en los grupos con enfermedad moderada y grave de la cohorte COVID-19, lo que podría reflejar factores epidemiológicos propios de la población atendida durante la primera ola de la pandemia. Aunque la evidencia disponible es limitada, algunos estudios han descrito diferencias interétnicas en la microvasculatura retiniana evaluada mediante OCTA. En concreto, Bujor et al. compararon una cohorte de 92 individuos de origen chino y 99 caucásicos, observando que los sujetos chinos presentaban valores significativamente mayores en determinadas métricas del PVS y del PVC, incluso tras ajustar por factores de confusión relevantes como edad, diabetes, hipertensión, calidad de la señal y longitud axial (195). Por su parte, Massamba et al., en un estudio realizado en población estadounidense (Chicago), analizaron 29 sujetos afroamericanos y 29 caucásicos, describiendo una menor densidad vascular en los PVS y PVP en los individuos afroamericanos, junto con un aumento del área de la ZAF y una disminución significativa de la DV foveolar y parafoveolar (196). Si bien, no hay evidencia específica en cuanto a población latina, esto podría influir en los parámetros microvasculares retinianos y actuar como factores de confusión.

7.1.5. Seguimiento longitudinal

El diseño del estudio de la cohorte COVID-19 incluyó una evaluación basal durante la fase inicial de la pandemia, seguida de un primer seguimiento pasados 8 meses con el objetivo de analizar la evolución temprana de las alteraciones microvasculares retinianas detectadas. Dado que en este segundo punto temporal no se observaron cambios significativos, se planteó un seguimiento tardío aproximadamente a los 3 años para explorar la posible persistencia o recuperación de dichas alteraciones a largo plazo. Este enfoque longitudinal permitió evaluar la estabilidad temporal de los hallazgos microvasculares. Cabe destacar que la mayoría de los estudios publicados que han analizado la microvasculatura retiniana mediante OCTA en pacientes con COVID-19 presentan diseños transversales o seguimientos relativamente cortos, generalmente inferiores a un año.

Entre las principales fortalezas del estudio destacan su diseño prospectivo en la cohorte COVID-19 inicial, la caracterización clínica detallada de los grupos, la utilización de técnicas de imagen oftalmológica estandarizadas y la incorporación posterior de una cohorte *long* COVID específicamente orientada a explorar síntomas persistentes y deterioro cognitivo.

Asimismo, el seguimiento longitudinal prolongado constituye un aspecto especialmente relevante en comparación con la literatura disponible. Sin embargo, es importante considerar las pérdidas de seguimiento a lo largo del estudio, especialmente en la cohorte COVID-19. En el segundo seguimiento se observó una reducción del tamaño muestral en todos los grupos respecto a la visita basal, con una pérdida de 11 pacientes en el grupo control (27 vs. 16; 40,7%), 14 pacientes en el grupo de enfermedad leve (30 vs. 16; 46,7%), 11 pacientes en el grupo de enfermedad moderada (24 vs. 13; 45,8%) y 7 pacientes en el grupo de enfermedad severa (22 vs. 15; 31,8%). Estas pérdidas fueron relativamente elevadas y más acusadas en los grupos leve y moderado, lo que podría introducir un sesgo de selección, especialmente si los pacientes que no completaron el seguimiento presentaban características clínicas distintas, como menor adherencia al seguimiento o diferente evolución clínica. Por un lado, los pacientes con recuperación completa pudieron tener menor motivación para acudir a controles, lo que podría sobreestimar la persistencia de las alteraciones microvasculares. Por otro, los pacientes con síntomas post-COVID más incapacitantes, como fatiga o disnea, pudieron presentar mayor dificultad para completar el seguimiento, lo que podría infraestimar su magnitud real. Este aspecto debe tenerse en cuenta al interpretar los resultados longitudinales del estudio.

En segundo lugar, el carácter transversal de la cohorte *long* COVID impide establecer relaciones temporales. En tercer lugar, la falta de cumplimiento del tamaño muestral previsto y la distribución desigual entre grupos reducen la potencia estadística y limitan la interpretación de los análisis. Finalmente, la ausencia de una comparación demográfica formal entre cohortes y la posible influencia de variables residuales no controladas, como etnia, comorbilidades o tiempo desde la infección, obligan a interpretar los resultados como exploratorios.

7.2. Respecto al análisis de las retinografías

Al principio de la pandemia se publicaron diversos estudios que describen posibles manifestaciones retinianas asociadas a COVID-19, muchas de ellas relacionadas con fenómenos tromboembólicos, inflamatorios o de disfunción endotelial. En nuestra cohorte COVID-19 no se identificaron hallazgos patológicos en la retinografía que pudieran atribuirse al virus ni en la visita basal realizada aproximadamente a los tres meses de la infección ni en las fases tardías del seguimiento. En la evaluación de parámetros vasculares arteriales y venosos, como el calibre y la tortuosidad de los vasos, tampoco hubo diferencias significativas entre grupos durante el seguimiento.

En uno de los primeros trabajos publicados, Invernizzi et al. evaluaron 54 pacientes con COVID-19 durante el primer mes desde el inicio de la infección, en comparación con 133 controles, y describieron la presencia de exudados algodonosos en el 7,4% de los casos, hemorragias retinianas en el 9,25% y dilatación venosa en el 27,7%, con diámetros arteriales y venosos significativamente mayores que en el grupo control; además, el calibre venoso se correlacionó con la gravedad sistémica y con el tiempo de evolución de los síntomas (19). De forma similar, Landecho et al. identificaron exudados algodonosos en 6 de 27 pacientes asintomáticos evaluados tras el alta hospitalaria, con una media de 43 días desde el inicio de los síntomas de COVID-19 (197).

Otros estudios pusieron el foco en las hemorragias retinianas. Lani-Louzada et al. observaron hemorragias intrarretinianas en 3 de 25 pacientes hospitalizados (12%) mediante retinografía en color, con una media de 24 días desde el inicio de los síntomas. Por su parte, Pereira et al. describieron hallazgos en 10 de 18 pacientes con enfermedad grave (55,6%), evaluados a los 12 días de media desde el inicio de los síntomas, incluyendo hiperpigmentación macular, exudados duros, exudados algodonosos, palidez sectorial y hemorragias periféricas y peripapilares (198).

En conjunto, estos estudios se centran en fases muy precoces o hiperagudas de la enfermedad. En este sentido, es plausible que estos signos de retinopatía aguda, potencialmente relacionados con fenómenos microvasculares transitorios o inflamatorios, presenten una evolución autolimitada y tiendan a resolverse con el tiempo. Esto podría explicar la ausencia de hallazgos retinianos estructurales evidentes en nuestra evaluación basal, realizada aproximadamente a los 3 meses del episodio agudo. En este sentido, la serie de Bilbao-Malavé et al. mostró la resolución de 5 de los 6 casos con exudados algodonosos detectados en la evaluación inicial a los 6 meses, con desaparición completa de todos ellos a los 12 meses, lo que refuerza la hipótesis de una evolución reversible de estas alteraciones (199).

No obstante, sigue sin estar claro si estos cambios microvasculares pueden atribuirse directamente a la infección por SARS-CoV-2 o si son consecuencia del estado general de inestabilidad hemodinámica y de la intensa respuesta inflamatoria observada en pacientes críticos, especialmente aquellos que requieren ingreso en UCI o ventilación con presión positiva. Cabe destacar que hallazgos retinianos similares han sido previamente descritos en pacientes ingresados en UCI independientemente de la infección por SARS-CoV-2 (200).

Posteriormente, Patel et al., en un análisis retrospectivo de 48 ojos con fotografías de fondo de ojo de pacientes con COVID-19 confirmada evaluados dentro de los 90 días desde el diagnóstico, encontraron hemorragias retinianas en el 27,1% de los casos y edema de papila en el 2,1%, sin detectar exudados algodonosos. Sin embargo, en un subanálisis restringido a ojos sin patología vascular concomitante, estas alteraciones no se reprodujeron, lo que refuerza la posible influencia de factores de confusión como las comorbilidades vasculares o la propia gravedad clínica de los pacientes (201).

En la cohorte de *long* COVID, no se identificaron hallazgos estructurales evidentes ni resultados consistentes en el análisis cuantitativo global. No obstante, se observó una tendencia hacia mayores calibres arteriales y venosos en los grupos con *long* COVID en comparación con el grupo control. En concreto, el calibre equivalente retiniano arterial mostró diferencias globales estadísticamente significativas, con valores medios superiores en el grupo de *long* COVID con deterioro cognitivo en comparación con el grupo control.

La ausencia de una significación estadística consistente limita la interpretación de estos hallazgos, que podrían reflejar tanto la heterogeneidad clínica del síndrome post-COVID como la influencia de factores de confusión no controlados. Desde el punto de vista de la literatura, la evidencia sobre alteraciones del calibre vascular retiniano en *long* COVID es muy limitada, y la mayoría de los estudios publicados se han centrado en fases agudas de la enfermedad o en parámetros microvasculares evaluados mediante OCTA, más que en medidas clásicas de calibre vascular. En investigación epidemiológica, el calibre equivalente retiniano arterial se utiliza como un biomarcador vascular, cuya disminución se ha asociado de forma consistente con la hipertensión arterial y la enfermedad coronaria (202).

En conjunto, estos resultados sugieren que la retinografía no permitió identificar un patrón vascular o estructural consistente atribuible a la infección por SARS-CoV-2 o al síndrome *long* COVID, reforzando la idea de que las posibles alteraciones retinianas persistentes se sitúan por debajo del umbral de detección de las técnicas funduscópicas convencionales.

7.3. Respecto al análisis del OCT

En el presente estudio no se identificaron alteraciones cualitativas relevantes en las imágenes estructurales obtenidas mediante OCT en ninguno de los puntos de seguimiento de la cohorte COVID y de la cohorte *long* COVID, sin observarse exudados algodonosos, hemorragias intrarretinianas, edema macular ni signos compatibles con isquemia retiniana aguda o crónica. Tampoco se detectaron cambios significativos en el grosor de las regiones maculares en comparación con la base normativa.

Únicamente se detectaron algunos casos aislados de hemorragias durante el seguimiento en las cohortes COVID y *long* COVID, sin otras alteraciones retinianas asociadas ni cambios estructurales detectables en las capas retinianas en la OCT, que, dado su carácter puntual, se interpretaron como eventos vasculares menores transitorios sin evidencia de relación directa con daño microvascular persistente inducido por la infección por SARS-CoV-2.

Estos resultados contrastan con algunas descripciones iniciales de alteraciones retinianas estructurales asociadas a COVID-19. Uno de los primeros trabajos en reportar hallazgos retinianos en pacientes con infección por SARS-CoV-2 fue el estudio de Marinho et al. (18) publicado en The Lancet. En este estudio observacional se evaluaron 12 pacientes con COVID-19 mediante OCT, con un intervalo desde el inicio de los síntomas de entre 11 y 33 días. En dicho estudio se describió la presencia de bandas hiperreflectivas en las capas internas de la retina, específicamente en la capa de células ganglionares y la capa plexiforme interna, localizadas principalmente en la región papilomacular de ambos ojos. Los autores también describieron la presencia de microhemorragias y exudados algodonosos en algunos pacientes, sugiriendo un posible compromiso microvascular retiniano asociado a la infección. Sin embargo, la interpretación de estos hallazgos fue posteriormente objeto de debate en la literatura, ya que diversos autores han señalado que las estructuras hiperreflectivas descritas podrían corresponder a vasos retinianos normales observados en corte transversal.

En relación con el análisis cuantitativo del grosor retiniano, los resultados publicados en la literatura son heterogéneos. Abrishami et al. describieron una tendencia hacia un aumento del grosor retiniano en pacientes con antecedente de COVID-19, aunque sin alcanzar significación estadística (203). Szkodny et al., en un estudio que incluyó 156 ojos de pacientes post-COVID-19 (sin estratificación por gravedad) y 98 ojos de sujetos control, no detectaron diferencias significativas en el grosor macular central ni en el grosor de la capa de fibras nerviosas (204).

De forma concordante, estudios longitudinales con seguimiento de hasta 6 meses tampoco han evidenciado alteraciones estructurales relevantes en OCT, aunque sí se han descrito cambios cuantitativos sutiles, como un aumento del grosor retiniano central y una disminución del grosor de la capa de fibras nerviosas de la retina y de la capa de células ganglionares en regiones parafoveales (199). En conjunto, estos resultados inconsistentes ponen de manifiesto la necesidad de estudios con mayor tamaño muestral que tengan en cuenta factores de

confusión relevantes, como la gravedad de la enfermedad o el momento evolutivo de la misma.

En conjunto, la heterogeneidad de los resultados publicados indica que las alteraciones estructurales retinianas detectables mediante OCT no representan un hallazgo constante en pacientes con antecedente de COVID-19. Nuestros resultados son concordantes con esta interpretación, al no evidenciar secuelas estructurales persistentes en fases tardías, lo que sugiere que las manifestaciones descritas en fases iniciales podrían ser transitorias o no detectables mediante OCT convencional a largo plazo. Esta aparente normalidad estructural contrasta con los hallazgos observados mediante OCTA, lo que subraya la importancia de evaluar específicamente la microcirculación retiniana.

En la cohorte *long* COVID tampoco se identificaron hallazgos estructurales evidentes mediante OCT ni resultados cuantitativos consistentes en el análisis global. Sin embargo, existe un estudio reciente en una muestra reducida de pacientes con síndrome post-COVID que ha descrito cambios sutiles en las capas internas de la retina, incluyendo un adelgazamiento focal de la capa de fibras nerviosas maculares, así como una disminución más generalizada en la capa de células ganglionares y la capa plexiforme interna, sin afectación significativa de la capa de fibras nerviosas peripapilar ni del grosor macular central (205).

No obstante, estos hallazgos deben interpretarse con cautela. El tamaño muestral limitado (incluyen 34 ojos de 20 pacientes con *long* COVID), la naturaleza focal de algunos de los cambios descritos, como el adelgazamiento restringido a un único sector macular de la capa de fibras nerviosas retinianas y la ausencia de confirmación en otros estudios dificultan establecer su relevancia clínica y su reproducibilidad. En este sentido, la evidencia disponible sigue siendo insuficiente para concluir la existencia de daño estructural retiniano por OCT consistente en pacientes con *long* COVID.

Por ello, son necesarios estudios adicionales que analicen de forma estandarizada y específica el grosor de la RNFL macular y peripapilar y de la GCL para determinar si existe una posible pérdida de tejido neuronal a nivel retiniano. En este contexto, el estudio del PVS mediante OCTA podría constituir un marcador indirecto, dada su estrecha relación fisiológica con las capas neuronales internas de la retina.

7.4. Respecto a los hallazgos de la angiografía por OCT

7.4.1. Cohorte COVID

En el presente trabajo los pacientes fueron evaluados inicialmente dentro de los tres meses posteriores a la confirmación de la infección mediante PCR, lo que sitúa el análisis en una fase post-aguda relativamente temprana. En esta visita basal, el principal hallazgo fue una reducción significativa de la DV central en los PVS y PVP en pacientes con COVID-19 moderado y grave, mientras que los casos leves no difirieron del grupo control. Este hallazgo constituye uno de los resultados centrales del presente trabajo, ya que identifica un patrón anatómicamente coherente de afectación microvascular central en ambos plexos retinianos internos, asociado a la gravedad de la infección aguda.

Este patrón, caracterizado por una mayor afectación en pacientes con mayor gravedad, sugirió una posible relación entre la severidad clínica de la enfermedad y el grado de afectación microvascular retiniana. Los resultados correspondientes a la visita basal fueron publicados en BMJ Ophthalmology (206). Este trabajo se situó entre los primeros en describir alteraciones en la microvasculatura retiniana mediante OCTA en el contexto de la infección por SARS-CoV-2, y contribuyó a abrir una línea de investigación sobre la posible afectación microvascular ocular asociada a la enfermedad.

Estos hallazgos fueron posteriormente respaldados por múltiples estudios internacionales. Los primeros trabajos publicados tras el inicio de la pandemia (2021–2022) confirmaron la presencia de alteraciones cuantitativas en la microvasculatura retiniana evaluada mediante OCTA, aunque con cierta heterogeneidad en función del tiempo desde la infección, la gravedad clínica y las métricas analizadas.

En este sentido, Guemes-Villahoz et al., realizaron un estudio mediante OCTA (Zeiss Cirrus 5000 with AngioPlex; Carl Zeiss Meditec, Dublin, CA, USA) en 80 pacientes evaluados 4 semanas después de la infección aguda por SARS-CoV-2, observando que aquellos con niveles de dímero-D ≥ 500 ng/ml presentaban una disminución significativa de la DV central, así como una reducción significativa de la perfusión vascular central y de la DV y perfusión en el sector temporal interno de la mácula, sin diferencias en el área de la ZAF (207).

Otros grupos obtuvieron resultados similares. El grupo iraní de Abrishami et al., describió hallazgos concordantes en un estudio caso-control que incluyó 19 pacientes con infección confirmada por PCR y evaluados aproximadamente dos semanas después de la recuperación, junto con 23 sujetos control sanos. En este trabajo, utilizando OCTA con el sistema AngioVue (RTVue XR Avanti, Optovue Inc., Fremont, CA, USA), se observó una disminución de la DV en los PVS y PVP, así como un aumento del área de la ZAF en pacientes recuperados de COVID-19. Estas diferencias se hicieron más evidentes tras estratificar a los pacientes según la gravedad clínica, particularmente entre pacientes hospitalizados y no hospitalizados (208).

Posteriormente, Chiosi et al. publicaron un estudio retrospectivo en el que evaluaron la microvasculatura retiniana mediante OCTA utilizando el dispositivo Topcon DRI OCT Triton (Topcon Corporation, Japón) en 140 pacientes recuperados de COVID-19, aproximadamente un mes después de la infección. Sus resultados mostraron una reducción significativa de la DV central en el PVP, pero también en el PVC, detectada en aproximadamente dos tercios de los pacientes analizados (209).

De forma similar, Çebi et al., analizaron la microvasculatura retiniana mediante OCTA (Optovue Inc., Fremont, CA, USA) en un estudio caso-control que incluyó 52 pacientes con antecedente de COVID-19 y 52 controles sanos, evaluados tras una media de 62 días desde la PCR positiva. En este estudio se excluyeron pacientes que hubieran requerido hospitalización o ingreso en UCI, con el objetivo de analizar las posibles alteraciones microvasculares en formas leves de la enfermedad. A pesar de ello, los autores observaron una reducción significativa de la DV en los plexos capilares superficial parafoveal, profundo parafoveal y perifoveal en los pacientes con antecedente de COVID-19 en comparación con los controles (210).

A pesar de la heterogeneidad metodológica entre estudios, incluyendo diferencias en los dispositivos utilizados (Optovue, Zeiss o Topcon), los algoritmos de segmentación y las ventanas temporales de evaluación, existe una tendencia global consistente hacia una

disminución de la densidad vascular retiniana en pacientes con antecedente de COVID-19, particularmente en aquellos con mayor gravedad clínica. No obstante, factores como el momento de evaluación, la severidad de los pacientes incluidos y las diferencias metodológicas entre estudios podrían contribuir a la variabilidad observada.

En este contexto, nuestros resultados no solo son concordantes con la dirección general de la literatura, sino que aportan un elemento adicional relevante al mostrar que la afectación se concentra de forma reproducible en la región central del PVS y del PVP, especialmente en los pacientes con enfermedad moderada o grave. Sin embargo, algunos resultados secundarios no siguieron una distribución anatómica claramente consistente. Diferencias aisladas en determinados sectores, como regiones nasales o parámetros de la coriocapilar, deben interpretarse con prudencia, especialmente cuando no se acompañan de un patrón paralelo en otros plexos, sectores o grupos de gravedad. Estos hallazgos podrían reflejar variabilidad metodológica, diferencias en la calidad de señal, errores de segmentación, artefactos de proyección o limitaciones derivadas del tamaño muestral, más que una afectación microvascular específica y reproducible. Por ello, la interpretación de los resultados debe centrarse en los hallazgos más consistentes del estudio: la reducción central de la DV en el PVS y el PVP en pacientes con enfermedad moderada o grave, así como su persistencia durante el seguimiento longitudinal.

7.4.1.1. Evolución longitudinal de los hallazgos en OCTA

La visita basal se realizó durante la primera ola de la pandemia, seguida de un primer seguimiento pasados 8 meses para evaluar la evolución temprana de las alteraciones microvasculares detectadas mediante OCTA. Los resultados mostraron que la reducción de la densidad vascular retiniana permanecía estable en el tiempo, sin evidenciarse una recuperación significativa. Este hallazgo sugirió que las alteraciones microvasculares asociadas a la infección por SARS-CoV-2 podían persistir durante meses, al menos en pacientes con formas moderadas o graves.

Dada la persistencia de la reducción microvascular, se planteó un seguimiento tardío, realizado aproximadamente a los 3 años de la visita basal, con el objetivo de analizar la evolución a largo plazo de estos hallazgos. Aunque el diseño no incluyó evaluaciones periódicas intermedias, la ausencia de cambios en el primer seguimiento hacía razonable ampliar el intervalo temporal para explorar posibles secuelas tardías.

El análisis longitudinal mostró que las alteraciones microvasculares detectadas tras la infección por SARS-CoV-2 no presentaron una recuperación significativa a lo largo del tiempo. Las reducciones de DV central en el PVS y el PVP en los grupos de mayor gravedad se mantuvieron estables durante los aproximadamente 3 años del estudio, sin evidencia de reperfusión o normalización de los parámetros microvasculares. Tampoco se observaron alteraciones clínicas que sugirieran consecuencias oftalmológicas a largo plazo derivadas de estos cambios.

Este resultado representa una de las principales aportaciones del estudio, ya que sugiere que la reducción de la DV central en los plexos superficial y profundo no constituye únicamente un hallazgo transitorio de la fase post-aguda, sino una alteración detectable a largo plazo en los pacientes que presentaron formas moderadas o graves de la enfermedad. La ausencia paralela de hallazgos clínicos, fundoscópicos o estructurales en OCT sugiere que estas alteraciones

corresponden a cambios subclínicos de la microcirculación, sin traducción oftalmológica evidente durante el periodo de seguimiento.

No obstante, se detectaron cambios puntuales en el plexo capilar superficial, como un modesto aumento de la DV en determinados sectores de los grupos moderado y severo, así como una disminución discreta en el sector temporal del grupo moderado; sin embargo, la magnitud de estos cambios fue limitada, su distribución no siguió un patrón uniforme y no fueron consistentes con evaluaciones previas. En conjunto, estos hallazgos sugieren que dichas variaciones podrían estar influenciadas por la variabilidad inherente a la técnica de OCTA y a factores de reproducibilidad entre exploraciones, más que reflejar una verdadera recuperación microvascular.

A nivel del plexo capilar profundo, se observó un aumento de la DV entre la evaluación basal y el seguimiento final en todos los grupos, en la mayoría de los sectores analizados, con la excepción de la región central. Sin embargo, en el análisis transversal no se identificaron diferencias significativas entre grupos en ninguno de los puntos temporales. En conjunto, estos hallazgos sugieren que las variaciones observadas podrían estar relacionadas, al menos en parte, con la variabilidad inherente a la técnica de OCTA, más que con cambios biológicos relevantes. Además, el PVP presenta mayor susceptibilidad a artefactos que el PVS. Aunque el sistema DRI OCT Triton incorpora algoritmos de eliminación de artefactos de proyección en el *software* IMAGEnet (211), pueden persistir artefactos residuales que reduzcan la reproducibilidad de las medidas (94, 212).

A nivel de la coriocapilar, destaca aumento de la densidad en el cuadrante superior y una disminución en el inferior, tanto en resultados globales como estratificados por grupos. El patrón de resultados, caracterizado por cambios de pequeña magnitud y en diferentes sectores maculares, con presencia de efectos similares en todos los grupos, sugiere que estas variaciones podrían reflejar fluctuaciones longitudinales de la medición en la coriocapilar más que un efecto específico relacionado con la gravedad de la infección.

La mayoría de los estudios que analizan la DV retiniana en pacientes con COVID-19 presentan un diseño transversal o evalúan a los pacientes en un único momento tras la infección. En este sentido, diversos trabajos han realizado evaluaciones a los 3 meses (213), 4 meses (214) o 6 meses (215), sin un seguimiento longitudinal de los mismos pacientes. En contraste, los estudios longitudinales disponibles son escasos. Entre ellos, Bilbao-Malavé et al. llevaron a cabo un seguimiento seriado hasta los 6 meses (199), mientras que nuestro estudio extendió el seguimiento hasta los 8 meses, constituyendo uno de los periodos de observación más prolongados descritos hasta la fecha en este contexto (216).

En resumen, estos estudios han descrito reducciones de la densidad vascular en el plexo capilar superficial (199, 206, 213-215, 216) y profundo (213-216), así como alteraciones adicionales como afectación del plexo radial peripapilar (215), adelgazamiento de la capa de células ganglionares (199), adelgazamiento parafoveal de la capa de fibras nerviosas (199, 215) y aumento del área de la ZAF (199, 206, 214, 216). Hasta donde sabemos, el presente estudio constituye el seguimiento longitudinal más prolongado publicado mediante OCTA tras infección por SARS-CoV-2.

En conjunto, estos hallazgos se alinean con la evidencia agregada disponible. El metaanálisis de Kazantzis et al. (217), que incluyó 15 estudios y aproximadamente 1200 ojos, mostró

reducciones globales de la densidad vascular en el PVS y el PVP, así como alteraciones de la ZAF en pacientes recuperados de COVID-19, aunque con alta heterogeneidad entre estudios, atribuida a diferencias metodológicas, temporales y tecnológicas.

Interpretación fisiopatológica

La ausencia de reperfusión sugiere que los cambios detectados en fases tempranas podrían corresponder a una remodelación microvascular persistente, más que a una alteración hemodinámica transitoria. En nuestra cohorte, estas alteraciones no se acompañaron de hallazgos clínicos o fundoscópicos evidentes, lo que sugiere que corresponden a cambios subclínicos de la microcirculación. Esta disociación entre la aparente normalidad estructural y la alteración microvascular persistente detectable mediante OCTA refuerza el valor de esta técnica como herramienta complementaria en la evaluación de la afectación microcirculatoria en el COVID-19.

Desde el punto de vista fisiopatológico, las alteraciones microvasculares observadas podrían relacionarse con daño endotelial inducido por SARS-CoV-2 a través del receptor ACE2 (20), así como con un estado proinflamatorio y procoagulante caracterizado por formación de microtrombos, especialmente en aquellos casos de COVID más severo (12), activación del complemento y liberación de citocinas inflamatorias (218, 219). Estos mecanismos, junto con la hipoxia sistémica presente en los casos más graves, podrían contribuir al desarrollo de disfunción microvascular persistente.

La disminución persistente de la densidad vascular podría estar relacionada con mecanismos de daño endotelial y remodelado microvascular asociados a la infección por SARS-CoV-2. Entre ellos, se han propuesto la endotelitis, la apoptosis endotelial, la alteración de los pericitos y la formación de microtrombos como posibles vías implicadas en la afectación microvascular observada en la COVID-19 grave (12, 20). Asimismo, la evidencia reciente sugiere que la intensa respuesta inflamatoria aguda, sumada a la hipoxia sistémica en pacientes graves, puede inducir senescencia celular prematura en el endotelio vascular. Esta senescencia endotelial limitaría la capacidad fisiológica de angiogénesis y reparación tisular, traduciéndose en una remodelación microvascular permanente (220). En este sentido, los cambios observados en la red capilar retiniana podrían interpretarse como un posible reflejo de alteraciones microvasculares sistémicas persistentes tras formas graves de COVID-19, si bien esta hipótesis debe confirmarse mediante estudios con correlación vascular sistémica directa. En conjunto, estos mecanismos ofrecen una explicación plausible para la reducción persistente de la densidad vascular retiniana observada en los grupos de mayor gravedad, aunque el diseño del estudio no permite establecer causalidad ni descartar la contribución de una vulnerabilidad microvascular previa.

Implicaciones sistémicas

Este patrón es compatible con la hipótesis de que la infección por SARS-CoV-2 puede inducir microangiopatía sistémica persistente tras la fase aguda (221, 222). Dado que la microvasculatura retiniana comparte características con otros lechos vasculares sistémicos, los cambios detectados mediante OCTA podrían reflejar alteraciones microvasculares más generalizadas.

Estudios de imagen han evidenciado déficits de perfusión pulmonar y renal en pacientes con COVID-19, incluso en ausencia de disfunción orgánica evidente, lo que apoya la posibilidad de una afectación microvascular sistémica compatible con la reducción persistente de DV retiniana observada en nuestra cohorte (223). En este contexto, la retina constituye un modelo especialmente útil para el estudio de la microcirculación sistémica, al permitir una evaluación directa, no invasiva y reproducible mediante OCTA.

Apenas un año después del inicio de la pandemia, la literatura científica comenzó a centrarse en el *long* COVID. Aunque la relación entre gravedad inicial y los síntomas persistentes sigue siendo heterogénea, con estudios que encuentran asociación con alteraciones funcionales y radiológicas a medio plazo y otros que no identifican una relación directa con secuelas respiratorias estructurales, nuestros resultados apoyan la posibilidad de que existan cambios microvasculares subclínicos mantenidos tras la infección (63, 224, 225).

Dado que el PVS está estrechamente relacionado con las capas neuronales internas de la retina, esta reducción vascular persistente podría ser relevante para explorar mecanismos neurovasculares asociados a las manifestaciones cognitivas del síndrome post-COVID (177).

7.4.2. Cohorte *long* COVID

Con el objetivo de estimar la prevalencia de síndrome *long* COVID en nuestra cohorte COVID, en el segundo seguimiento (aproximadamente a los 3 años de la infección inicial) se realizó una entrevista clínica estructurada a los participantes. En el análisis de la historia clínica se observó que las secuelas pulmonares se concentraron exclusivamente en el grupo de enfermedad severa, donde se identificaron alteraciones radiológicas, funcionales o ambas, mientras que ningún paciente del grupo moderado presentó secuelas pulmonares residuales. Esta diferencia fue estadísticamente significativa y sugiere que la gravedad inicial de la infección se asocia con un mayor riesgo de secuelas estructurales y funcionales a nivel pulmonar. Este hallazgo es coherente con metaanálisis recientes que han descrito la persistencia de anomalías parenquimatosas y alteraciones funcionales respiratorias tras la hospitalización por COVID-19 (226). Sin embargo, el diagnóstico de síndrome post-COVID basado en la entrevista clínica no mostró diferencias significativas entre los grupos moderado y severo, lo que indica que la presencia de síntomas persistentes no depende exclusivamente de la gravedad inicial de la enfermedad.

En cuanto a las manifestaciones neurológicas y neuropsicológicas, los síntomas neurológicos persistentes fueron poco frecuentes, aunque su presencia global mostró diferencias entre grupos. Este resultado debe interpretarse con cautela, dado el bajo número de eventos y la ausencia de un gradiente claro según la gravedad inicial. En cambio, las alteraciones neuropsicológicas subjetivas, especialmente relacionadas con la memoria y la concentración, fueron más frecuentes en los pacientes con antecedente de enfermedad severa, alcanzando significación estadística. Asimismo, el análisis de otras secuelas sistémicas mostró diferencias significativas entre grupos, con una mayor prevalencia de fatiga, dolor muscular y disnea en los pacientes con enfermedad moderada y severa, particularmente en aquellos con enfermedad más grave. En conjunto, estos resultados sugieren que las secuelas persistentes tras la infección por SARS-CoV-2 presentan una distribución heterogénea, en la que determinadas manifestaciones orgánicas parecen asociarse a la gravedad inicial de la enfermedad, mientras

que la aparición de síntomas persistentes compatibles con síndrome post-COVID no depende exclusivamente de este factor.

Una limitación relevante de este análisis es que el diagnóstico de síndrome post-COVID en esta cohorte se basó en una entrevista clínica dirigida y en el reporte subjetivo de síntomas por parte de los pacientes, sin la realización sistemática de pruebas neuropsicológicas estandarizadas. Por tanto, las alteraciones cognitivas referidas, como los problemas de memoria o concentración, deben interpretarse con cautela, ya que no fueron confirmadas mediante evaluaciones objetivas del rendimiento cognitivo. Este aspecto contrasta con la cohorte específica de *long* COVID analizada posteriormente en este trabajo, en la que los pacientes fueron evaluados mediante protocolos neuropsicológicos estructurados y contaban con un diagnóstico más objetivable de deterioro cognitivo. En consecuencia, los datos obtenidos en esta primera cohorte deben considerarse fundamentalmente exploratorios y orientados a estimar la presencia de síntomas persistentes más que a establecer un diagnóstico formal de afectación neurocognitiva asociada al síndrome post-COVID.

En el marco del presente trabajo, se diseñó una segunda fase orientada específicamente al estudio de pacientes con antecedente de infección por SARS-CoV-2 y sintomatología persistente compatible con síndrome post-COVID. Esta cohorte (cohorte *long* COVID) incluyó sujetos con diagnóstico clínico de *long* COVID, con y sin quejas neurocognitivas, así como un grupo de comparación formado por individuos con antecedente de infección sin síntomas persistentes y un grupo control de sujetos no infectados. El objetivo principal de esta fase fue evaluar si la presencia de síntomas persistentes, y en particular de alteraciones neurocognitivas, se asociaba a cambios en la microvasculatura retiniana, utilizando la DV medida mediante OCTA.

En esta segunda parte del estudio, no se observaron diferencias significativas en la DV retiniana entre pacientes con *long* COVID con deterioro cognitivo, pacientes con *long* COVID sin deterioro cognitivo, sujetos con antecedente de COVID sin *long* COVID y controles no infectados. Por tanto, a diferencia de lo observado en la cohorte COVID estratificada por gravedad, la cohorte *long* COVID no mostró un fenotipo microvascular retiniano claramente diferenciado. Este resultado sugiere que, al menos en nuestra muestra, la presencia de síntomas persistentes, incluso cuando incluyen deterioro cognitivo, no se traduce necesariamente en alteraciones de densidad vascular detectables mediante OCTA.

Estos hallazgos plantean varias consideraciones relevantes. Por un lado, podrían indicar que la afectación microvascular retiniana observada tras formas moderadas o graves de COVID-19 no constituye un marcador sensible de las manifestaciones clínicas del *long* COVID, particularmente en el ámbito neurocognitivo. Por otro lado, es posible que los mecanismos fisiopatológicos subyacentes a los síntomas persistentes sean más complejos y no dependan exclusivamente de alteraciones microvasculares detectables mediante OCTA, implicando también procesos inflamatorios, inmunológicos o neurofuncionales que no se reflejan directamente en la perfusión retiniana. Asimismo, no puede descartarse que las limitaciones metodológicas, incluyendo el tamaño muestral o la heterogeneidad clínica de los pacientes, hayan condicionado la capacidad para detectar diferencias sutiles entre grupos.

Estos hallazgos son parcialmente concordantes con el estudio de Noor et al., que evaluó pacientes con *long* COVID mediante OCTA en una cohorte de 40 pacientes con síndrome post-COVID y 40 controles sanos. En ese trabajo tampoco se identificó un patrón de alteración

microvascular que permitiera discriminar el síndrome post-COVID de los casos control (226). Sin embargo, existen diferencias metodológicas relevantes entre ambos estudios que deben tenerse en cuenta al comparar los resultados. En primer lugar, el estudio de Noor incluyó exclusivamente pacientes con síndrome post-COVID, mientras que nuestro trabajo incorporó además controles sanos y pacientes recuperados sin *long* COVID, lo que permite contextualizar mejor los hallazgos dentro del espectro clínico completo de la infección. En segundo lugar, nuestra cohorte realizó una estratificación específica según presencia de deterioro cognitivo, aspecto que no fue analizado de forma directa en el estudio de Noor et al.

Por el contrario, otros autores han descrito hallazgos distintos. Schlick et al. reportaron una reducción de la DV en el plexo capilar intermedio en pacientes con síndrome post-COVID. Además, dentro de su cohorte, los pacientes con fatiga persistente presentaron menor DV en el PVS en comparación con aquellos sin fatiga, lo que sugiere una posible relación entre determinadas manifestaciones clínicas del síndrome post-COVID y cambios microvasculares retinianos (228).

Ariza et al. analizaron una cohorte de 59 pacientes con antecedente de COVID severo y 45 con COVID leve que desarrollaron síndrome post-COVID, en los que se realizaron evaluaciones neurológicas y una batería de pruebas neuropsicológicas junto con exploración mediante OCTA. Los autores evaluaron el PVS, observando una menor DV central y total, así como un mayor área y perímetro de la ZAF en comparación con controles. Además, en el subgrupo con antecedente de COVID severo y síndrome post-COVID se encontró una correlación estadísticamente significativa entre menor DV y mayor deterioro cognitivo, especialmente en velocidad de procesamiento y función ejecutiva. Sin embargo, no se identificaron correlaciones consistentes entre las métricas de OCTA y el resto de las pruebas neuropsicológicas (229).

Una posible limitación interpretativa de este estudio es que los pacientes con antecedente de COVID severo ya presentan alteraciones microvasculares retinianas descritas previamente en la literatura, lo que dificulta discernir si los cambios detectados mediante OCTA reflejan específicamente mecanismos asociados al síndrome post-COVID o si corresponden principalmente a secuelas microvasculares de la infección aguda grave. En este contexto, cuando la cohorte está enriquecida con pacientes que han sufrido enfermedad severa, la OCTA puede captar fundamentalmente el efecto vascular residual de la fase aguda, lo que reduce su capacidad para actuar como biomarcador específico del *long* COVID. De hecho, los propios autores señalan que en el grupo con síndrome post-COVID más severo existía mayor heterogeneidad clínica y posibles comorbilidades, factores que podrían haber actuado como variables de confusión y contribuir a la ausencia de correlaciones consistentes entre los parámetros de OCTA y los resultados neuropsicológicos.

Desde el punto de vista fisiopatológico, la ausencia de diferencias en los parámetros de OCTA entre pacientes de nuestra cohorte con *long* COVID con y sin deterioro cognitivo sugiere que las quejas neurocognitivas persistentes podrían no estar directamente relacionadas con alteraciones detectables en la microcirculación retiniana. Este hallazgo es relevante si se considera que la hipótesis de una disfunción microvascular sistémica se ha propuesto como uno de los posibles mecanismos implicados en el síndrome post-COVID (230).

En este sentido, es plausible que las alteraciones cognitivas post-COVID estén mediadas por mecanismos neurofuncionales, inflamatorios o inmunológicos que no necesariamente se traducen en una pérdida capilar persistente cuantificable mediante OCTA. Diversos modelos

fisiopatológicos han propuesto que la neuroinflamación prolongada, la activación microglial sostenida, la disfunción de la barrera hematoencefálica, la alteración de la homeostasis glial y la disfunción sináptica podrían contribuir a los síntomas neurocognitivos persistentes tras la infección por SARS-CoV-2 (231, 232). En consecuencia, aunque la OCTA constituye una técnica no invasiva útil para evaluar alteraciones microvasculares retinianas, podría tener una sensibilidad limitada para capturar cambios predominantemente metabólicos, inflamatorios o funcionales implicados en las secuelas neurológicas postagudas.

La evidencia reciente sugiere que la gravedad inicial de la infección no constituye por sí sola el principal determinante del desarrollo de *long* COVID. Diversos estudios han identificado asociaciones con factores como sexo femenino, edad, obesidad, comorbilidades previas y mayor carga sintomática durante la fase aguda, mientras que los síntomas persistentes también se observan tras infecciones leves o moderadas (232-234). Esta heterogeneidad clínica podría explicar, al menos en parte, la dificultad para identificar biomarcadores estructurales o microvasculares consistentes mediante técnicas de imagen como la OCTA.

7.4.2.1. Comparativa inter-cohortes

Cuando se compararon ambas cohortes del estudio, la cohorte COVID y la cohorte de *long* COVID; se observó que los pacientes con antecedente de COVID severo presentaban los valores más bajos de DV central en el PVS y el PVP, mientras que los pacientes con *long* COVID mostraban valores más cercanos a los observados en controles o en pacientes con COVID leve. Este patrón sugiere que el *long* COVID no reproduce el perfil microvascular asociado a la enfermedad aguda grave, lo que apunta a mecanismos fisiopatológicos distintos.

En el análisis comparativo, también se identificó que ciertos sectores del PVS, PVP y del PVC presentaban valores de densidad ligeramente superiores en el grupo con *long* COVID en comparación tanto con controles como con pacientes COVID. La presencia de incrementos en múltiples plexos y en regiones anatómicas similares podría reflejar la influencia de factores técnicos y/o metodológicos relacionados con la adquisición o el procesamiento de las imágenes, más que una alteración fisiopatológica real.

Por el contrario, en otras regiones maculares, se identificó un incremento de la DV en el grupo con *long* COVID, incluso en comparación con el grupo control. Este hallazgo resulta llamativo y, en cierto modo, inesperado, ya que contrasta con la disminución observada en fases agudas de la enfermedad. En este sentido, el significado fisiopatológico de este aumento permanece incierto, pudiendo reflejar la variabilidad técnica inherente a la adquisición de imágenes, el efecto de múltiples comparaciones o incluso diferencias demográficas entre las dos cohortes. De forma más especulativa, también podría plantearse que este incremento relativo de la señal vascular refleje alteraciones funcionales del tono vascular o de la autorregulación microcirculatoria en algunos pacientes con síndrome post-COVID, especialmente considerando que la disfunción autonómica ha sido descrita como una posible manifestación sistémica del *long* COVID (235). No obstante, esta hipótesis debe interpretarse con cautela, ya que la OCTA no permite evaluar directamente el flujo dinámico ni la vasorreactividad vascular, y en nuestro estudio no se dispuso de pruebas específicas de perfusión tisular. Además, al no haberse realizado un análisis comparativo detallado de las características basales entre cohortes, no puede descartarse que estas diferencias estén influenciadas por factores de confusión, como variables demográficas o técnicas relacionadas con la adquisición de las imágenes.

En la literatura existente, los estudios que han evaluado la microvasculatura retiniana en pacientes con síndrome post-COVID mediante OCTA muestran resultados heterogéneos. Una revisión sistemática reciente puso de manifiesto esta variabilidad, atribuida a diferencias en el diseño de los estudios, las variables analizadas, las características de las poblaciones incluidas y el momento temporal de evaluación tras la infección. A pesar de esta heterogeneidad, la revisión describió una tendencia hacia la reducción de la DV en distintos plexos retinianos en pacientes con *long* COVID, especialmente en el SCP, ICP y DCP (236). En este contexto, nuestros resultados, que no evidencian una reducción consistente en el grupo con *long* COVID, refuerzan la complejidad del fenómeno y subrayan la necesidad de estudios longitudinales con metodologías estandarizadas que permitan esclarecer el verdadero papel de la microvasculatura retiniana en la fisiopatología del síndrome post-COVID.

En conjunto, los resultados de este trabajo apoyan la existencia de una afectación microvascular retiniana subclínica asociada principalmente a la gravedad de la infección aguda por SARS-CoV-2, más que a la presencia de síntomas persistentes de *long* COVID. La persistencia de la reducción de la DV central en el PVS y el PVP, junto con la ausencia de alteraciones estructurales en retinografía y OCT, sugiere que la OCTA puede aportar información complementaria en la caracterización de secuelas microvasculares post-COVID. No obstante, su relevancia clínica y su valor como biomarcador sistémico requieren confirmación en estudios más amplios y con mayor control de factores de confusión.

7.5. Limitaciones

El presente estudio presenta diversas limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados.

Como se ha señalado previamente en la discusión del diseño del estudio, una de las principales limitaciones fue el tamaño muestral relativamente reducido, especialmente en algunos subgrupos de la cohorte COVID y de la cohorte *long* COVID. Asimismo, la distribución no homogénea de los participantes entre grupos, las pérdidas de seguimiento en la cohorte longitudinal y la mayor facilidad de reclutamiento de pacientes con *long* COVID y deterioro cognitivo pudieron limitar la potencia estadística, aumentar el riesgo de error tipo II e introducir cierto sesgo de selección.

Una limitación relevante es la ausencia de exploraciones OCTA previas a la infección por SARS-CoV-2. En consecuencia, no puede establecerse con certeza si las alteraciones microvasculares observadas representan una consecuencia directa de la infección o si reflejan, al menos en parte, una vulnerabilidad microvascular preexistente en los pacientes que desarrollaron formas más graves de la enfermedad. Por tanto, no puede descartarse que el estado microvascular basal actuara como factor predisponente o modulador de la gravedad clínica, lo que limita la capacidad del estudio para inferir causalidad.

En relación a la comparabilidad entre cohortes, debe considerarse que, las dos cohortes analizadas (COVID y *long* COVID) no fueron reclutadas en el mismo momento epidemiológico ni bajo condiciones clínicas idénticas, lo que puede haber generado cierta heterogeneidad basal, si bien se aplicaron criterios de exclusión homogéneos para mitigar este efecto. La distribución no homogénea de variables como la etnia entre los grupos podría haber actuado como factor de confusión, dado que se han descrito diferencias interétnicas en parámetros de

microvasculatura retiniana. Asimismo, el análisis de un solo ojo por paciente, aunque reduce la dependencia estadística, puede haber disminuido la sensibilidad del estudio.

La cohorte COVID está influida por múltiples factores clínicos, como la gravedad de la infección, la necesidad de hospitalización, oxigenoterapia o cuidados intensivos o los tratamientos recibidos que pueden actuar como factores de confusión y que, en la práctica, resultan difíciles de controlar de forma exhaustiva. Por otro lado, la evaluación de síntomas compatibles con *long* COVID en la cohorte COVID se basó en entrevistas no estandarizadas y sin confirmación mediante herramientas diagnósticas formales, lo que limita la interpretación de estos resultados.

En relación con las limitaciones técnicas, la OCTA presenta una variabilidad inherente que puede influir en la cuantificación de la DV. Factores como la calidad de señal, artefactos de movimiento, pequeñas variaciones en la segmentación de los plexos o diferencias en los protocolos de adquisición pueden afectar los resultados. Asimismo, la comparabilidad con otros estudios se ve limitada por la heterogeneidad en dispositivos, tamaños de escaneo y métricas analizadas, lo que dificulta la estandarización de los hallazgos.

Otra limitación es que el estudio se centró exclusivamente en la región macular y no incluyó pruebas funcionales complementarias, como microperimetría o electrorretinografía, lo que impide valorar con precisión la repercusión funcional de los hallazgos estructurales o microvasculares. Tampoco se realizaron análisis específicos de segmentación de capas retinianas mediante OCT estructural, lo que limita la correlación entre los cambios microvasculares y posibles alteraciones neurorretinianas.

Por último, el tiempo de seguimiento, aunque prolongado, no responde a un intervalo estandarizado basado en evidencia, ya que actualmente no existen recomendaciones claras sobre la periodicidad óptima de monitorización de estos pacientes, lo que dificulta la comparación directa con otros estudios. Además, el momento temporal de la evaluación respecto a la infección puede influir significativamente en los resultados, dado que exploraciones realizadas en fases tempranas (2–6 semanas) pueden reflejar fenómenos inflamatorios residuales, mientras que evaluaciones más tardías (2–6 meses o más) podrían capturar procesos de remodelado microvascular.

A pesar de estas limitaciones, el estudio presenta fortalezas relevantes. Se trata, hasta donde alcanza nuestro conocimiento, de una de las cohortes con mayor tiempo de seguimiento longitudinal mediante OCTA tras infección por SARS-CoV-2, lo que permite aportar información sobre la evolución a medio y largo plazo de las alteraciones microvasculares retinianas. Además, fue un estudio pionero en su ámbito y contribuyó a abrir una línea de investigación sobre la microvasculatura retiniana en COVID-19. La relativa ausencia de comorbilidades relevantes en la cohorte puede considerarse una fortaleza metodológica, al reducir parcialmente la influencia de factores vasculares sistémicos previos. Por último, la estratificación de los pacientes según la gravedad inicial de la infección permitió explorar la existencia de posibles gradientes de afectación microvascular y aporta un valor añadido a la interpretación de los resultados.

8. CONCLUSIONES

1. La infección por SARS-CoV-2, especialmente en sus formas moderadas y graves, se asocia a una afectación microvascular retiniana subclínica detectable mediante OCTA, caracterizada por una disminución de la densidad vascular en los plexos capilares superficial y profundo a nivel central, además de un aumento del área de la ZAF. Estas alteraciones persisten durante el seguimiento longitudinal y se relacionan con la gravedad inicial de la infección.

2. No se identificaron alteraciones macroscópicas retinianas mediante retinografía en pacientes con COVID-19 durante la fase post-aguda temprana ni durante el seguimiento, lo que sugiere ausencia de daño retiniano clínicamente visible atribuible a la infección.

3. La OCT estructural no evidenció alteraciones estructurales retinianas significativas asociadas a la infección por SARS-CoV-2.

4. Durante el seguimiento no se registró una incidencia relevante de eventos vasculares retinianos ni de manifestaciones oftalmológicas clínicamente significativas atribuibles a la infección por SARS-CoV-2.

5. No se observó una asociación clara entre las alteraciones microvasculares retinianas evaluadas mediante OCTA y la presencia de síntomas persistentes compatibles con long COVID, con o sin deterioro cognitivo. Estos resultados sugieren que, en nuestra muestra, el long COVID no se asoció a un perfil microvascular retiniano diferencial detectable mediante las métricas empleadas.

6. Los hallazgos apoyan el potencial de la OCTA como herramienta no invasiva para detectar alteraciones microvasculares subclínicas tras formas moderadas o graves de COVID-19. No obstante, su valor como biomarcador sistémico requiere confirmación en estudios con mayor tamaño muestral y correlación directa con marcadores vasculares sistémicos.

9. LÍNEAS DE FUTURO

Los hallazgos de esta tesis apoyan el interés de la OCTA como herramienta para estudiar la afectación microvascular retiniana asociada a la infección por SARS-CoV-2. Sin embargo, las limitaciones identificadas plantean nuevas líneas de investigación necesarias para confirmar y ampliar estos resultados.

9.1. Estudios longitudinales multicéntricos

Futuros estudios deberían incluir cohortes más amplias, multicéntricas y con una distribución más equilibrada entre grupos de gravedad y subgrupos clínicos. Esto permitiría aumentar la potencia estadística, reducir el riesgo de error tipo II y minimizar el impacto de posibles sesgos de selección. Asimismo, sería deseable prolongar el seguimiento más allá de los tres años, idealmente hasta cinco o diez años, para determinar si la reducción de densidad vascular retiniana representa una secuela microvascular estable, un proceso parcialmente reversible o un marcador de vulnerabilidad vascular persistente.

9.2. Evaluación de la autorregulación vascular

La OCTA permite obtener información cuantitativa sobre la microvasculatura retiniana, pero no mide de forma directa la velocidad ni el volumen del flujo sanguíneo. Por ello, futuras investigaciones deberían incorporar técnicas de imagen dinámica, como la OCT-Doppler, que permitan diferenciar entre pérdida capilar real, reducción del flujo por debajo del umbral de detección y alteraciones de la autorregulación vascular. Esta línea es especialmente pertinente en el contexto del *long* COVID, donde la disfunción endotelial y la disautonomía podrían producir cambios funcionales no siempre detectables mediante OCTA convencional.

9.3. Integración multimodal clínica

Ante la ausencia de un patrón microvascular retiniano claramente diferenciado en los pacientes con *long* COVID y deterioro cognitivo, futuras investigaciones deberían integrar los parámetros de OCTA con técnicas de neuroimagen, como la resonancia magnética cerebral funcional, y con variables clínicas y neuropsicológicas estandarizadas. Esta aproximación permitiría explorar si las manifestaciones neurocognitivas post-COVID se relacionan predominantemente con alteraciones funcionales, metabólicas o de conectividad cerebral, más que con cambios estructurales evidentes en la microvasculatura retiniana.

9.4. Estandarización metodológica

La reproducibilidad de los parámetros de OCTA puede verse influida por múltiples factores, incluyendo edad, sexo, origen étnico, longitud axial, calidad de imagen, comorbilidades cardiovasculares, medicación, gravedad de la infección inicial y tiempo transcurrido desde el episodio agudo. Por ello, futuros estudios deberían incorporar diseños ajustados por estos factores. La estandarización metodológica será esencial para determinar si las diferencias

observadas en la densidad vascular y en la zona avascular foveal son atribuibles específicamente a la infección por SARS-CoV-2 o reflejan la interacción entre la infección, la susceptibilidad individual y factores vasculares preexistentes.

9.5. Inteligencia artificial

Finalmente, la aplicación de inteligencia artificial sobre grandes cohortes de imágenes de retinografía, OCT y OCTA representa una línea de investigación especialmente prometedora. Los algoritmos de *deep learning* podrían identificar patrones microvasculares sutiles que escapan al análisis sectorial clásico basado en medias de densidad vascular. Se permitiría detectar fenotipos específicos de daño microvascular post-COVID, integrar información procedente de distintas modalidades de imagen y combinarla con variables clínicas y demográficas. A largo plazo, estos modelos podrían contribuir al desarrollo de herramientas predictivas capaces de identificar pacientes con mayor riesgo de secuelas microvasculares persistentes o de evolución clínica desfavorable.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Khan M, Adil SF, Alkhathlan HZ, Tahir MN, Saif S, Khan M, Khan ST. COVID-19: A Global Challenge with Old History, Epidemiology and Progress So Far. Molecules. 2020 Dec 23;26(1):39. doi: 10.3390/molecules26010039. PMID: 33374759; PMCID: PMC7795815.

2. Bratzler DW. COVID-19 in retrospect: Public health lessons from a global crisis. Am J Med Sci. 2025 Oct 20:S0002-9629(25)01248-0. doi: 10.1016/j.amjms.2025.10.008. Epub ahead of print. PMID: 41115503.

3. Shivalkar S, Pingali MS, Verma A, Singh A, Singh V, Paital B, Das D, Varadwaj PK, Samanta SK. Outbreak of COVID-19: A Detailed Overview and Its Consequences. Adv Exp Med Biol. 2021;1353:23-45. doi: 10.1007/978-3-030-85113-2_2. PMID: 35137366.

4. Causey K, Fullman N, Sorensen RJD, Galles NC, Zheng P, Aravkin A, Danovaro-Holliday MC, Martinez-Piedra R, Sodha SV, Velandia-González MP, Gacic-Dobo M, Castro E, He J, Schipp M, Deen A, Hay SI, Lim SS, Mosser JF. Estimating global and regional disruptions to routine childhood vaccine coverage during the COVID-19 pandemic in 2020: a modelling study. Lancet. 2021 Aug 7;398(10299):522-534. doi: 10.1016/S0140-6736(21)01337-4. Epub 2021 Jul 17. PMID: 34273292; PMCID: PMC8285122.

5. Osuchowski MF, Winkler MS, Skirecki T, Cajander S, Shankar-Hari M, Lachmann G, Monneret G, Venet F, Bauer M, Brunkhorst FM, Weis S, Garcia-Salido A, Kox M, Cavaillon JM, Uhle F, Weigand MA, Flohé SB, Wiersinga WJ, Almansa R, de la Fuente A, Martin-Loeches I, Meisel C, Spinetti T, Schefold JC, Cilloniz C, Torres A, Giamarellos-Bourboulis EJ, Ferrer R, Girardis M, Cossarizza A, Netea MG, van der Poll T, Bermejo-Martín JF, Rubio I. The COVID-19 puzzle: deciphering pathophysiology and phenotypes of a new disease entity. Lancet Respir Med. 2021 Jun;9(6):622-642. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00218-6. Epub 2021 May 6. PMID: 33965003; PMCID: PMC8102044.

6. Polidoro RB, Hagan RS, de Santis Santiago R, Schmidt NW. Overview: Systemic Inflammatory Response Derived From Lung Injury Caused by SARS-CoV-2 Infection Explains Severe Outcomes in COVID-19. Front Immunol. 2020 Jun 26;11:1626. doi: 10.3389/fimmu.2020.01626. PMID: 32714336; PMCID: PMC7344249.

7. Milross L, Majo J, Cooper N, Kaye PM, Bayraktar O, Filby A, Fisher AJ. Post-mortem lung tissue: the fossil record of the pathophysiology and immunopathology of severe COVID-19. Lancet Respir Med. 2022 Jan;10(1):95-106. doi: 10.1016/S2213-2600(21)00408-2. Epub 2021 Dec 3. PMID: 34871544; PMCID: PMC8641959.

8. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y, Hou C, Wang H, Liu J, Yang D, Xu Y, Cao Z, Gao Z. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. Crit Care. 2020 Jul 13;24(1):422. doi: 10.1186/s13054-020-03120-0. PMID: 32660650; PMCID: PMC7356137.

9. Loganathan S, Kuppusamy M, Wankhar W, Gurugubelli KR, Mahadevappa VH, Lepcha L, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2): COVID-19 gateway to multiple organ failure syndromes. Respir Physiol Neurobiol. 2021;283:103548. doi:10.1016/j.resp.2020.103548.

10. Gan R, Rosoman NP, Henshaw DJE, Noble EP, Georgius P, Sommerfeld N. COVID-19 as a viral functional ACE2 deficiency disorder with ACE2-related multi-organ disease. Med Hypotheses. 2020;144:110024. doi:10.1016/j.mehy.2020.110024.

11. South AM, Diz DI, Chappell MC. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2020;318(5):H1084-H1090. doi:10.1152/ajpheart.00217.2020.

12. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ, Jonigk D. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. N Engl J Med. 2020 Jul 9;383(2):120-128. doi: 10.1056/NEJMoa2015432. Epub 2020 May 21. PMID: 32437596; PMCID: PMC7412750

13. Doerschug KC, Schmidt GA. Pulmonary Aspects of COVID-19. Annu Rev Med. 2022 Jan 27;73:81-93. doi: 10.1146/annurev-med-042220-014817. PMID: 35084996.

14. Verity R, Okell LC, Dorigatti I, Winskill P, Whittaker C, Imai N, Cuomo-Dannenburg G, Thompson H, Walker PGT, Fu H, Dighe A, Griffin JT, Baguelin M, Bhatia S, Boonyasiri A, Cori A, Cucunubá Z, FitzJohn R, Gaythorpe K, Green W, Hamlet A, Hinsley W, Laydon D, Nedjati-Gilani G, Riley S, van Elsland S, Volz E, Wang H, Wang Y, Xi X, Donnelly CA, Ghani AC, Ferguson NM. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. Lancet Infect Dis. 2020 Jun;20(6):669-677. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30243-7. Epub 2020 Mar 30. Erratum in: Lancet Infect Dis. 2020 Jun;20(6):e116. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30309-1. Erratum in: Lancet Infect Dis. 2020 Jun;20(6):e116. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30368-6. PMID: 32240634; PMCID: PMC7158570.

15. Shi H, Han X, Jiang N, Cao Y, Alwalid O, Gu J, Fan Y, Zheng C. Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. Lancet Infect Dis. 2020 Apr;20(4):425-434. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30086-4. Epub 2020 Feb 24. PMID: 32105637; PMCID: PMC7159053

16. Wu P, Duan F, Luo C, et al. Characteristics of ocular findings of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China. JAMA Ophthalmol. 2020;138:575.

17. Aggarwal K, Agarwal A, Jaiswal N, Dahiya N, Ahuja A, Mahajan S, et al. Ocular surface manifestations of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2020;15(11):e0241661. doi:10.1371/journal.pone.0241661.

18. Marinho PM, Marcos AAA, Romano AC, Nascimento H, Belfort R Jr. Retinal findings in patients with COVID-19. Lancet. 2020;395(10237):1610. doi:10.1016/S0140-6736(20)31014-X.

19. Invernizzi A, Torre A, Parrulli S, et al. Retinal findings in patients with COVID-19: results from the SERPICO-19 study. EClinicalMedicine. 2020;27:100550.

20. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. Lancet. 2020;395(10234):1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5.

21. Libby, P., & Lüscher, T. (2020). COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. European Heart Journal, 41(32), 3038–3044.

22. Guzik, T. J., Mohiddin, S. A., Dimarco, A., et al. (2020). COVID-19 and the cardiovascular system: Implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. Cardiovascular Research, 116(10), 1666–1687.

23. Nishiga, M., Wang, D. W., Han, Y., Lewis, D. B., & Wu, J. C. (2020). COVID-19 and cardiovascular disease: From basic mechanisms to clinical perspectives. Nature Reviews Cardiology, 17(9), 543–558.

24. Bilaloglu, S., Aphinyanaphongs, Y., Jones, S., et al. (2020). Thrombosis in hospitalized patients with COVID-19 in a New York City health system. JAMA, 324(8), 799–801.

25. Klok, F. A., Kruip, M. J. H. A., van der Meer, N. J. M., et al. (2020). Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. Thrombosis Research, 191, 145–147.

26. Malas, M. B., Naazie, I. N., Elsayed, N., Mathlouthi, A., Marmor, R., & Clary, B. (2020). Thromboembolism risk of COVID-19 is high and associated with a higher risk of mortality: A systematic review and meta-analysis. EClinicalMedicine, 29, 100639.

27. Jiménez, D., García-Sanchez, A., Rali, P., et al. (2021). Incidence of VTE and bleeding among hospitalized patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. Chest.

28. Zhang, L., Yan, X., Fan, Q., et al. (2020). D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with COVID-19. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 18(6), 1324–1329

29. Re, V. L., et al. (2022). Association of COVID-19 vs influenza with risk of arterial thromboembolism. JAMA.

30. Sluis, W. M., Linschoten, M., Buijs, J. E., et al. (2021). Risk, clinical course, and outcome of ischemic stroke in patients hospitalized with COVID-19: A multicenter cohort study. Stroke.

31. Indriani, S., et al. (2023). Acute limb ischemia in COVID-19: A systematic review. [Journal].

32. Dai D, Gois PF, Simpson D, Hedfi S, Shrapnel S, Pole JD. Global geographic and socioeconomic disparities in COVID-associated acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. J Glob Health. 2025;15:04166.

33. Lin L, Wang X, Ren J, et a. lRisk factors and prognosis for COVID-19-induced acute kidney injury: a meta-analysis. BMJ Open 2020;10:e042573. doi: 10.1136/bmjopen-2020-042573

34. He W, Liu X, Feng L, et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 infection-induced kidney injury: a literature review. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:838213.

35. Jansen J., Reimer K.C., Nagai J.S., Varghese F.S., Overheul G.J., de Beer M., et al. SARS-CoV-2 infects the human kidney and drives fibrosis in kidney organoids. Cell Stem Cell. 2021;29:217–231. doi: 10.1016/j.stem.2021.12.010.

36. Xu S, Ilyas I, Weng J. Endothelial dysfunction in COVID-19: an overview of evidence, biomarkers, mechanisms and potential therapies. Acta Pharmacol Sin. 2023;44:695–709.

37. Xie Y, Bowe B, Maddukuri G, Al-Aly Z. Long-term kidney outcomes among survivors of COVID-19. Nat Med. 2021;27:1481–1491.

38. Zhao, S. W., Li, Y., Wang, Y., et al. (2023). Liver injury in COVID-19: Clinical features, potential mechanisms, risk factors, and clinical treatments. World Journal of Gastroenterology, 29(2), 241–256.

39. Mao, R., Qiu, Y., He, J. S., et al. (2020). Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19. The Lancet Gastroenterology & Hepatology, 5(7), 667–678.

40. Krishnamoorthy, Y., Rajaa, S., Murugan, S., et al. (2023). Association between acute liver injury, severity and mortality of COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. Journal of Clinical and Translational Hepatology, 11(5), 1100–1112.

41. Yang, R., Guo, Y., Liang, Y., et al. (2023). Liver injury associated with the severity of COVID-19: A meta-analysis. Frontiers in Public Health, 11, 1003352.

42. Tazarghi, A., Azadbakht, J., & Mohammadi, S. (2024). Liver injury in COVID-19: Pathobiology, risk factors, and clinical implications. Virology Journal, 21, 32.

43. Chen, Y. (2023). Drug-induced liver injury in COVID-19 patients: A systematic review. Medicine, 102(12), e33218.

44. Qiu, D., Yu, Y., Yu, J., et al. (2025). COVID-19 infection, drugs, and liver injury. Journal of Clinical Medicine, 14(20), 7228.

45. Sarkis, Y., Weiner, S., & Trivedi, P. (2023). COVID-associated cast-forming cholangiopathy: A systematic review. Hepatology Communications, 7(4), e01234.

46. Tyagi K, et al. Neurological manifestations of SARS-CoV-2: complexity, mechanism and associated disorders. Eur J Med Res. 2023;28(1):307.

47. Ellul MA, et al. Neurological associations of COVID-19. Lancet Neurol. 2020;19(9):767–783.

48. Paterson RW, et al. The emerging spectrum of COVID-19 neurology. Brain. 2020;143(10):3104–3120.

49. Meinhardt J, et al. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry. Nat Neurosci. 2021;24:168–175.

50. Zubair AS, et al. Neuropathogenesis and neurologic manifestations of COVID-19. JAMA Neurol. 2020;77(8):1018–1027.

51. Siow I, et al. Encephalitis as a neurological complication of COVID-19. Eur J Neurol. 2021;28(10):3491–3502.

52. Pilotto A, et al. Steroid-responsive encephalitis in COVID-19. Ann Neurol. 2021;90:130–141.

53. Siegler JE, et al. Cerebrovascular events in hospitalized COVID-19 patients. Int J Stroke. 2021;16(4):437–447.

54. Yaghi S, et al. SARS-CoV-2 and stroke in a New York healthcare system. Stroke. 2020;51:2002–2011.

55. Michael BD, et al. Consensus clinical guidance for adult COVID-19 encephalopathy. J Neuropsychiatry Clin Neurosci. 2023;35(1):12–27.

56. Helms J, et al. Neurologic features in severe SARS-CoV-2 infection. N Engl J Med. 2020;382:2268–2270.

57. Toscano G, et al. Guillain-Barré syndrome associated with SARS-CoV-2. N Engl J Med. 2020;382:2574–2576.

58. Dalakas MC. Guillain-Barré syndrome and COVID-19. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2020;7(5):e811

59. Nalbandian, A., et al. (2021). Post-acute COVID-19 syndrome. Nature Medicine, 27, 601–615.

60. Crook, H., et al. (2021). Long covid—mechanisms, risk factors, and management. BMJ, 374, n1648.

61. Davis HE, et al. Long COVID: major findings, mechanisms and recommendations. Nat Rev Microbiol. 2023;21:133–146.

62. World Health Organization. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus. Geneva: WHO; 2021.

63. Huang C, Huang L, Wang Y, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. Lancet. 2021;397(10270):220–232. doi:10.1016/S0140-6736(20)32656-8.

64. Ballering AV, van Zon SKR, Olde Hartman TC, Rosmalen JGM. Persistence of somatic symptoms after COVID-19 in the Netherlands: an observational cohort study. Nat Med. 2022;28:1685–1691. doi:10.1038/s41591-022-01909-7.

65. Al-Aly Z, et al. High-dimensional characterization of post-acute sequelae of COVID-19. Nature. 2021;594:259–264.

66. Zhi H, Ji X, Zhao Z, Liang H, Zhong S, Luo Y, et al. Risk factors for impaired pulmonary diffusion function in convalescent COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. EClinicalMedicine. 2022;49:101473. doi:10.1016/j.eclinm.2022.101473.

67. Han X, Chen L, Guo L, Wu L, Alwalid O, Liu J, et al. Long-term radiological and pulmonary function abnormalities at 3 years after COVID-19 hospitalisation: a longitudinal cohort study. European Respiratory Journal. 2024;64:2301612. doi:10.1183/13993003.01612-2023

68. Xie Y, Xu E, Bowe B, Al-Aly Z. Long-term cardiovascular outcomes of COVID-19. Nat Med. 2022;28(3):583-590. doi:10.1038/s41591-022-01689-3.

69. Knight R, Walker V, Ip S, Cooper JA, Bolton T, Keene S, et al. Association of COVID-19 with arterial and venous vascular diseases: a population-based cohort study. Circulation. 2022;146(12):892–906.

70. Burn E, Duarte-Salles T, Fernandez-Bertolin S, Reyes C, Kostka K, Delmestri A, et al. Venous or arterial thrombosis and deaths among COVID-19 cases: a European network cohort study. Lancet Infect Dis. 2022;22(8):1142–1152.

71. Bowe B, Xie Y, Xu E, Al-Aly Z. Kidney outcomes in long COVID. J Am Soc Nephrol. 2021;32:2851–2862.

72. Lu JY, Wilson FP. Long term outcomes of patients with chronic kidney disease after COVID-19. Scientific Reports. 2025;15:7651.

73. Xie L, Zhao H, Zhang X, et al. 12-Month Post-Discharge Liver Function Test Abnormalities Among Patients With COVID-19: A Single-Center Prospective Cohort Study. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:864933. doi:10.3389/fcimb.2022.864933.

74. Stojanovic M, Djuric M, Nenadic I, Bojic S, Andrijevic A, Popovic A, Pesic S. Vascular Complications of Long COVID—From Endothelial Dysfunction to Systemic Thrombosis: A Systematic Review. Int J Mol Sci. 2025;27(1):433.

75. Kesler SR, et al. Altered functional brain connectivity, efficiency, and information flow associated with brain fog after mild to moderate COVID-19 infection. Scientific Reports. 2024.

76. Taquet M, Sillett R, Zhu L, et al. Neurological and psychiatric risk trajectories after SARS-CoV-2 infection: an analysis of 2-year retrospective cohort studies including 1,284,437 patients. The Lancet Psychiatry. 2022;9(10):815–827.

77. Moreno-Pérez O, Merino E, Leon-Ramirez JM, Andres M, Ramos JM, Arenas-Jiménez J, et al. Clinical and Functional Characteristics of Post-COVID-19 Syndrome in Healthcare and Other Workers during the First Wave of the Pandemic. Journal of Clinical Medicine. 2021;10(18):4122. doi:10.3390/jcm10184122.

78. Hampshire A, Trender W, Chamberlain SR, et al. Cognitive deficits in people who have recovered from COVID-19. EClinicalMedicine. 2021;39:101044.

79. Miskowiak KW, Johnsen S, Sattler SM, et al. Cognitive impairments four months after COVID-19 hospital discharge: pattern, severity and association with illness variables. European Neuropsychopharmacology. 2021;46:39–48

80. Witmer MT, Kiss S. Wide-field imaging of the retina. Surv Ophthalmol. 2013;58(2):143–154. doi:10.1016/j.survophthal.2012.07.003. PMID: 23369515.

81. Sun C, Wang JJ, Mackey DA, Wong TY. Retinal vascular caliber: systemic, environmental, and genetic associations. Surv Ophthalmol. 2009;54(1):74–95. doi:10.1016/j.survophthal.2008.10.003. PMID: 19171211.

82. Huang D, Swanson EA, Lin CP, Schuman JS, Stinson WG, Chang W, et al. Optical coherence tomography. Science. 1991;254(5035):1178–1181. doi:10.1126/science.1957169.

83. Swanson EA. Eric Swanson: The growth of the OCT market. SPIE Newsroom. 2013. doi:10.1117/2.201306.04.

84. Wojtkowski M, Bajraszewski T, Gorczyńska I, Targowski P, Kowalczyk A, Wasilewski W, et al. Ophthalmic imaging by spectral optical coherence tomography. Am J Ophthalmol. 2004;138(3):412–419.

85. Spaide RF, Koizumi H, Pozzoni MC. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography. Am J Ophthalmol. 2008;146(4):496–500. doi:10.1016/j.ajo.2008.05.032.

86. Adhi M, Liu JJ, Qavi AH, Grulkowski I, Lu CD, Mohler KJ, et al. Choroidal analysis in healthy eyes using swept-source optical coherence tomography compared to spectral domain optical coherence tomography. Am J Ophthalmol. 2014;157(6):1272–1281.e1.

87. Patton N, Aslam T, MacGillivray T, Pattie A, Deary IJ, Dhillon B. Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: a rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. J Anat. 2005;206(4):319–348. doi:10.1111/j.1469-7580.2005.00395.x.

88. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. Nat Rev Neurol. 2013;9(1):44–53. doi:10.1038/nrneurol.2012.227.

89. Chua J, Tan B, Wong D, Garhöfer G, Liew XW, Popa-Cherecheanu A, Chin CWL, Milea D, Chen CLH, Schmetterer L. Optical coherence tomography angiography of the retina and choroid in systemic diseases. Prog Retin Eye Res. 2024;103:101292. doi:10.1016/j.preteyeres.2024.101292.

90. Campbell JP, Zhang M, Hwang TS, Bailey ST, Wilson DJ, Jia Y, Huang D. Detailed vascular anatomy of the human retina by projection-resolved optical coherence tomography angiography. Sci Rep. 2017;7:42201. doi:10.1038/srep42201.

91. Kur J, Newman EA, Chan-Ling T. Cellular and physiological mechanisms underlying blood flow regulation in the retina and choroid in health and disease. Prog Retin Eye Res. 2012;31(5):377–406. doi:10.1016/j.preteyeres.2012.04.004.

92. Nickla DL, Wallman J. The multifunctional choroid. Prog Retin Eye Res. 2010;29(2):144–168. doi:10.1016/j.preteyeres.2009.12.002.

93. Jia Y, Tan O, Tokayer J, Potsaid B, Wang Y, Liu JJ, Kraus MF, Subhash H, Fujimoto JG, Hornegger J, Huang D. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. Opt Express. 2012;20(4):4710–4725. doi:10.1364/OE.20.004710.

94. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurenghi G. Optical coherence tomography angiography. Prog Retin Eye Res. 2018;64:1–55. doi:10.1016/j.preteyeres.2017.11.003.

95. Keane PA, Sadda SR. Retinal imaging in the twenty-first century: state of the art and future directions. Ophthalmology. 2014;121(12):2489–2500. doi:10.1016/j.ophtha.2014.07.054.k

96. Jia Y, Bailey ST, Hwang TS, McClintic SM, Gao SS, Pennesi ME, et al. Quantitative optical coherence tomography angiography of vascular abnormalities in the living human eye. Proc Natl Acad Sci USA. 2015;112(18):E2395–E2402. doi:10.1073/pnas.1500185112.

97. Balaratnasingam C, An D, Freund KB, Francke A, Yu DY. Correlation between histologic and OCT angiography analysis of macular circulation. Ophthalmology. 2019;126(11):1588–1589. doi:10.1016/j.ophtha.2019.05.022.

98. Hormel TT, Hwang TS, Bailey ST, Wilson DJ, Huang D, Jia Y. Plexus-specific retinal vascular anatomy and pathologies as seen by projection-resolved optical coherence tomographic angiography. Prog Retin Eye Res. 2021;80:100878. doi:10.1016/j.preteyeres.2020.100878.

99. Linderman R, Salmon AE, Strampe M, Russillo M, Khan J, Carroll J. Assessing the accuracy of foveal avascular zone measurements using optical coherence tomography angiography: segmentation and scaling. Transl Vis Sci Technol. 2017;6(3):16. doi:10.1167/tvst.6.3.16.

100. Duffy BV, Castellanos-Canales D, Decker NL, Lee HJ, Yamaguchi TC, Pearce E, Fawzi AA. Foveal Avascular Zone Enlargement Correlates with Visual Acuity Decline in Patients with Diabetic Retinopathy. Ophthalmol Retina. 2025;9(7):667–676. doi:10.1016/j.oret.2024.12.015.

101. Spaide RF. Choriocapillaris flow features follow a power law distribution: implications for characterization and mechanisms of disease progression. Am J Ophthalmol. 2016;170:58–67. doi:10.1016/j.ajo.2016.07.023.

102. Uji A, Balasubramanian S, Lei J, Baghdasaryan E, Al-Sheikh M, Sadda SR. Impact of multiple en face image averaging on quantitative assessment from optical coherence tomography angiography images. Ophthalmology. 2017;124(7):944–952. doi:10.1016/j.ophtha.2017.02.006.

103. Al-Sheikh M, Phasukkijwatana N, Dolz-Marco R, Rahimi M, Iafe NA, Freund KB, Sadda SR, Sarraf D. Quantitative OCT angiography of the retinal microvasculature and the choriocapillaris in myopic eyes. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58(4):2063–2069. doi:10.1167/iovs.16-21289.

104. Lutty GA, McLeod DS, Bhutto IA, Edwards MM, Seddon JM. Choriocapillaris dropout in early age-related macular degeneration. Exp Eye Res. 2020;192:107939. doi:10.1016/j.exer.2020.107939.

105. Cheung CY, Ikram MK, Sabanayagam C, Wong TY. Retinal microvasculature as a model to study the manifestations of hypertension. Hypertension. 2012;60:1094-1103.

106. Smith W, Wang JJ, Wong TY, Rochtchina E, Klein R, Leeder SR, et al. Retinal arteriolar narrowing is associated with 5-year incident severe hypertension: the Blue Mountains Eye Study. Hypertension. 2004;44:442-447.

107. Owen CG, Rudnicka AR, Welikala RA, Fraz MM, Barman SA, MacGillivray T, et al. Retinal vasculometry associations with cardiometabolic risk factors in the European Prospective Investigation of Cancer-Norfolk Study. Ophthalmology. 2019;126:96-106.

108. Ikram MK, de Jong FJ, Vingerling JR, Witteman JC, Hofman A, Breteler MM, et al. Are retinal arteriolar or venular diameters associated with markers for cardiovascular disorders? The Rotterdam Study. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004;45:2129-2134

109. Tai ELM, Kueh YC, Wan Hitam WH, Wong TY, Shatriah I. Comparison of retinal vascular geometry in obese and non-obese children. Microcirculation. 2018.

110. Wang JJ, Rochtchina E, Liew G, Tan AG, Wong TY, Leeder SR, et al. The long-term relation among retinal arteriolar narrowing, blood pressure, and incident severe hypertension. Am J Epidemiol. 2008;168:80-88.

111. Sabanayagam C, Banu R, Chee ML, Lee R, Wang YX, Tan G, Jonas JB, Lamoureux EL, Cheng CY, Klein BEK, Mitchell P, Klein R, Cheung CMG, Wong TY. Incidence and progression of diabetic retinopathy: a systematic review. The Lancet Diabetes & Endocrinology. 2019;7(2):140–149. doi:10.1016/S2213-8587(18)30128-1.

112. Cheung CY, Tang F, Ng DS, Wong R, Lok J, Sun Z, Tham CCY, Wong TY, Cheung CMG. Retinal vascular geometry and 6 year incidence and progression of diabetic retinopathy. Diabetologia. 2017;60(9):1770–1781. doi:10.1007/s00125-017-4333-0.

113. Grunwald JE, Alexander J, Ying GS, Maguire M, Daniel E, Whittock-Martin R, et al. Retinopathy and chronic kidney disease in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) study. Arch Ophthalmol. 2012;130:1136-1144.

114. Yau JWY, Xie J, Kawasaki R, Kramer H, Shlipak M, Klein R, et al. Retinal arteriolar narrowing and subsequent development of CKD Stage 3: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). Am J Kidney Dis. 2011;58:39-46.

115. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrange D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. J Am Coll Cardiol. 1995;26:1235-1241

116. Halcox JPJ, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. Circulation. 2002;106:653-658.

117. Lin Z, Liu C, Shi D, Wang Y, Hu W, Henwood J, Kiburg K, van Wijngaarden P, Clark M, Shang X, Han X, Zhang L, He M, Ge Z. Addressing underestimation and explanation of retinal fundus photo-based cardiovascular disease risk score: Algorithm development and validation. Comput Biol Med. 2025 May;189:109941. doi: 10.1016/j.compbiomed.2025.109941. Epub 2025 Mar 9. PMID: 40064120.

118. Amir Hamzah NA, Wan Zaki WMD, Wan Abdul Halim WH, Mustafar R, Saad AH. Evaluating the potential of retinal photography in chronic kidney disease detection: a review. PeerJ. 2024 Aug 2;12:e17786. doi: 10.7717/peerj.17786. PMID: 39104365; PMCID: PMC11299532.

119. Hu W, Li K, Gagnon J, Wang Y, Raney T, Chen J, Chen Y, Okunuki Y, Chen W, Zhang B. FundusNet: A Deep-Learning Approach for Fast Diagnosis of Neurodegenerative and Eye Diseases Using Fundus Images. Bioengineering (Basel). 2025 Jan 13;12(1):57. doi: 10.3390/bioengineering12010057. PMID: 39851331; PMCID: PMC11762182.

120. Bursali Ö, Altintaş Ö, Ağir A, Yüksel N, Özkan B. Optical coherence tomography measurements in patients with systemic hypertension. Scott Med J. 2021;66(3):115–121.

121. Burnasheva MA, Maltsev DS, Kulikov AN, Sherbakova KA, Barsukov AV. Association of chronic paracentral acute middle maculopathy lesions with hypertension. Ophthalmol Retina. 2020;4(5):504–509. doi:10.1016/j.oret.2019.12.001.

122. Kwapong WR, Yan Y, Cao L, Wang H, Ye C, Jiang S, Tao W, Wu B. Retinal ischemic perivascular lesion reflects cerebral small vessel disease burden in single subcortical infarction. J Am Heart Assoc. 2024;13:e033081. doi:10.1161/JAHA.123.033081.

123. García-Martín E, Ruiz de Gopegui E, León-Latre M, Otin S, Altemir I, Polo V, et al. Influence of cardiovascular condition on retinal and retinal nerve fiber layer measurements. PLoS One. 2017;12(12):e0189929. doi:10.1371/journal.pone.0189929.

124. Chen Y, Yuan Y, Zhang S, Yang S, Zhang J, Guo X, et al. Retinal nerve fiber layer thinning as a novel fingerprint for cardiovascular events: results from the prospective cohorts in UK and China. BMC Med. 2023;21(1):24. doi:10.1186/s12916-023-02724-9.

125. Ahmad M, Kaszubski PA, Cobbs L, Reynolds H, Smith RT. Choroidal thickness in patients with coronary artery disease. PLoS One. 2017;12(4):e0175691. doi:10.1371/journal.pone.0175691

126. Ragkousis A, Kozobolis V, Kabanarou S, Bontzos G, Mangouritsas G, Heliopoulos I, et al. Vessel density around foveal avascular zone as a potential imaging biomarker for detecting preclinical diabetic retinopathy: an optical coherence tomography angiography study. Semin Ophthalmol. 2020;35(5-6):316–323. doi:10.1080/08820538.2020.1820133.

127. Fleissig E, Adhi M, Sigford DK, Barr CC. Foveal vasculature changes and nonperfusion in patients with diabetes types I and II with no evidence of diabetic retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2020;258(3):551–556. doi:10.1007/s00417-019-04543-y.

128. Kazantzis D, Holmes C, Wijesingha N, Sivaprasad S. Changes in foveal avascular zone parameters in individuals with prediabetes compared to normoglycemic controls: a systematic review and meta-analysis. Eye (Lond). 2024;38(10):1855–1860. doi:10.1038/s41433-024-03058-5.

129. Tan B, Lim NA, Tan R, Gan ATL, Chua J, Nusinovici S, et al. Combining retinal and choroidal microvascular metrics improves discriminative power for diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol. 2023;107(7):993–999. doi:10.1136/bjophthalmol-2021-320791.

130. Ale-Chilet A, Bernal-Morales C, Barraso M, Hernández T, Oliva C, Vinagre I, et al. Optical coherence tomography angiography in type 1 diabetes mellitus—report 2: diabetic kidney disease. J Clin Med. 2022;11(1):197. doi:10.3390/jcm11010197.

131. Yao H, Li Z. Is preclinical diabetic retinopathy in diabetic nephropathy individuals more severe? Front Endocrinol (Lausanne). 2023;14:1144257. doi:10.3389/fendo.2023.1144257.

132. Nobre Cardoso J, Keane PA, Sim DA, Bradley P, Agrawal R, Addison PKF, et al. Systematic evaluation of optical coherence tomography angiography in retinal vein occlusion. Am J Ophthalmol. 2016;163:93–107.e6. doi:10.1016/j.ajo.2015.11.025.

133. Kadomoto S, Muraoka Y, Uji A, Tsujikawa A. Nonperfusion area quantification in branch retinal vein occlusion: a widefield optical coherence tomography angiography study. Retina. 2021;41(6):1210–1218. doi:10.1097/IAE.0000000000003013.

134. Tan B, Lim NA, Tan R, Gan ATL, Chua J, Nusinovici S, et al. Combining retinal and choroidal microvascular metrics improves discriminative power for diabetic retinopathy. Br J Ophthalmol. 2023;107(7):993–999. doi:10.1136/bjophthalmol-2021-320791.

135. Zeng R, Garg I, Bannai D, Kasetty M, Katz R, Park JY, et al. Retinal microvasculature and vasoreactivity changes in hypertension using optical coherence tomography angiography. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2022;260(11):3505–3515. doi:10.1007/s00417-022-05769-5.

136. Remolí-Sargues L, Monferrer-Adsuara C, Castro-Navarro V, Navarro-Palop C, Montero-Hernández J, Cervera-Taulet E. Swept-source optical coherence tomography angiography automatic analysis of microvascular changes secondary to systemic hypertension. Eur J Ophthalmol. 2023;33(3):1452–1458. doi:10.1177/11206721221141410.

137. Chua J, Le TT, Sim YC, Chye HY, Tan B, Yao X, et al. Relationship of quantitative retinal capillary network and myocardial remodeling in systemic hypertension. J Am Heart Assoc. 2022;11(9):e024226. doi:10.1161/JAHA.121.024226.

138. Zhong P, Li Z, Lin Y, Peng Q, Huang M, Jiang L, et al. Retinal microvasculature impairments in patients with coronary artery disease: an optical coherence tomography angiography study. Acta Ophthalmol. 2022;100(2):225–233. doi:10.1111/aos.14920.

139. Sideri AM, Kanakis M, Katsimpris A, Karamaounas A, Brouzas D, Petrou P, et al. Correlation between coronary and retinal microangiopathy in patients with STEMI. Transl Vis Sci Technol. 2023;12(5):8. doi:10.1167/tvst.12.5.8.

140. London A, Benhar I, Schwartz M. The retina as a window to the brain—from eye research to CNS disorders. Nat Rev Neurol. 2013;9(1):44–53. doi:10.1038/nrneurol.2012.227.

141. Lesage SR, Mosley TH, Wong TY, Szklo M, Knopman D, Catellier DJ. Retinal microvascular abnormalities and cognitive decline: the ARIC 14-year follow-up study. Neurology. 2009;73(11):862–868. doi:10.1212/WNL.0b013e3181b78436.

142. Wong TY, Klein R, Couper DJ, Cooper LS, Shahar E, Hubbard LD, et al. Retinal microvascular abnormalities and incident stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. Lancet. 2001;358(9288):1134–1140. doi:10.1016/S0140-6736(01)06253-5.

143. Kawasaki R, Cheung N, Mosley T, Islam AFM, Sharrett AR, Klein R, et al. Retinal microvascular signs and 10-year risk of cerebral atrophy: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. Stroke. 2010;41(8):1826–1828. doi:10.1161/STROKEAHA.110.585042.

144. de Jong FJ, Schrijvers EMC, Ikram MK, Koudstaal PJ, de Jong PTVM, Hofman A, et al. Retinal vascular caliber and risk of dementia: the Rotterdam Study. Neurology. 2011;76(9):816–821. doi:10.1212/WNL.0b013e31820e7baa.

145. McGrory S, Cameron JR, Pellegrini E, Warren C, Doubal FN, Deary IJ, et al. The application of retinal fundus camera imaging in dementia: a systematic review. Alzheimer's & Dementia: Diagnosis, Assessment & Disease Monitoring. 2017;6:91–107. doi:10.1016/j.dadm.2016.11.001.

146. Fisher JB, Jacobs DA, Markowitz CE, Galetta SL, Volpe NJ, Nano-Schiavi ML, et al. Relation of visual function to retinal nerve fiber layer thickness in multiple sclerosis. Ophthalmology. 2006;113(2):324–332. doi:10.1016/j.ophtha.2005.10.040.

147. Petzold A, Balcer LJ, Calabresi PA, Costello F, Frohman TC, Frohman EM, et al. Retinal layer segmentation in multiple sclerosis: a systematic review and meta-analysis. Lancet Neurol. 2017;16(10):797–812. doi:10.1016/S1474-4422(17)30278-8.

148. Saidha S, Al-Louzi O, Ratchford JN, Bhargava P, Oh J, Newsome SD, et al. Optical coherence tomography reflects brain atrophy in multiple sclerosis: a four-year study. Ann Neurol. 2015;78(5):801–813. doi:10.1002/ana.24487.

149. Bodis-Wollner I, Marx MS, Mitra S, Bobak P, Mylin L, Yahr M. Visual dysfunction in Parkinson's disease: loss in spatiotemporal contrast sensitivity. Brain. 1987;110(Pt 6):1675–1698. doi:10.1093/brain/110.6.1675

150. Moschos MM, Chatziralli IP, Siasou G, Moschos MN. Assessment of retinal nerve fiber layer thickness in patients with Parkinson's disease using optical coherence tomography. Eur J Ophthalmol. 2011;21(3):247–251. doi:10.5301/EJO.2010.1318.

151. Satue M, Rodrigo MJ, Obis J, Vilades E, Gracia H, Otin S, Fuertes MI, et al. Evaluation of progressive visual dysfunction and retinal degeneration in patients with Parkinson's disease. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017;58(2):1151–1157. doi:10.1167/iovs.16-20460

152. Yu JG, Feng YF, Xiang Y, Huang JH, Savini G, Parisi V, et al. Retinal nerve fiber layer thickness changes in Parkinson disease: a meta-analysis. PLoS One. 2014;9(1):e85718. doi:10.1371/journal.pone.0085718.

153. Koronyo-Hamaoui M, Koronyo Y, Ljubimov AV, Miller CA, Ko MK, Black KL, et al. Identification of amyloid plaques in retinas from Alzheimer's patients and noninvasive in vivo optical imaging of retinal plaques in a mouse model. NeuroImage. 2011;54 Suppl 1:S204–S217. doi:10.1016/j.neuroimage.2010.06.020.

154. Iseri PK, Altinaş Ö, Tokay T, Yüksel N. Relationship between cognitive impairment and retinal morphological and visual functional abnormalities in Alzheimer disease. J Neuroophthalmol. 2006;26(1):18–24. doi:10.1097/01.wno.0000204645.56873.26.

155. Kesler A, Vakhapova V, Korczyn AD, Naftaliev E, Neudorfer M. Retinal thickness in patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. Clin Neurol Neurosurg. 2011;113(7):523–526. doi:10.1016/j.clineuro.2011.02.014.

156. Chan VTT, Sun Z, Tang S, Chen LJ, Wong A, Tham CC, et al. Spectral-domain OCT measurements in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. Ophthalmology. 2019;126(4):497–510. doi:10.1016/j.ophtha.2018.08.009.

157. Dumitrascu OM, Demaerschalk BM, Valencia Sanchez C, Almader-Douglas D, O'Carroll CB, Aguilar MI, et al. Retinal microvascular abnormalities as surrogate markers of cerebrovascular ischemic disease: a meta-analysis. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2018;27(7):1960–1968. doi:10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2018.02.041.

158. Yeh TC, Kuo CT, Chou YB. Retinal microvascular changes in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression. Front Aging Neurosci. 2022;14:860759. doi:10.3389/fnagi.2022.860759.

159. Jiang H, Wei Y, Shi Y, Wright CB, Sun X, Gregori G, et al. Altered macular microvasculature in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. Journal of Neuro-Ophthalmology. 2018;38(3):292–298. doi:10.1097/WNO.0000000000000580.

160. Yoon SP, Grewal DS, Thompson AC, Polascik BW, Dunn C, Burke JR, et al. Retinal microvascular and neurodegenerative changes in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment compared with controls. Ophthalmology Retina. 2019;3(6):489–499. doi:10.1016/j.oret.2019.02.002.

161. O'Bryhim BE, Apte RS, Kung N, Coble D, Van Stavern GP. Association of preclinical Alzheimer disease with optical coherence tomographic angiography findings. JAMA Ophthalmology. 2018;136(11):1242–1248. doi:10.1001/jamaophthalmol.2018.3556.

162. Kwapong WR, Ye H, Peng C, Zhuang X, Wang J, Shen M, et al. Retinal microvascular impairment in the early stages of Parkinson's disease. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2018;59(10):4115–4122. doi:10.1167/iovs.17-23230.

163. Robbins CB, Thompson AC, Bhullar PK, Koo HY, Agrawal R, Soundararajan S, et al. Characterization of retinal microvascular and choroidal structural changes in Parkinson disease. JAMA Ophthalmol. 2021;139(2):182–188. doi:10.1001/jamaophthalmol.2020.5730.

164. Murueta-Goyena A, Barrenechea M, Erramuzpe A, Teijeira-Portas S, Pengo M, Ayala U, et al. Foveal remodeling of retinal microvasculature in Parkinson's disease. Front Neurosci. 2021;15:708700. doi:10.3389/fnins.2021.708700.

165. Murphy OC, Kwakyi O, Iftikhar M, Zafar S, Lambe J, Pellegrini N, et al. Alterations in the retinal vasculature occur in multiple sclerosis and exhibit novel correlations with disability and visual function measures. Mult Scler. 2020;26(7):815–828. doi:10.1177/1352458519845116.

166. Zhu Z, Wang Y, Qi Z, Hu W, Zhang X, Wagner SK, et al. Oculomics: Current concepts and evidence. Prog Retin Eye Res. 2025;106:101350. doi:10.1016/j.preteyeres.2025.101350.

167. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med. 2020;382:727-733.

168. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. N Engl J Med. 2021;384:1857-1867.

169. Jone PN, John A, Oster ME, Allen K, Tremoulet AH, Saarel EV, et al. SARS-CoV-2 infection and associated cardiovascular manifestations and complications in children and young adults: A scientific statement from the American Heart Association. Circulation. 2022;145(19):e1037-e1052. doi:10.1161/CIR.0000000000001064.

170. Azinheira Nobrega Cruz N, Gonçalves de Oliveira LC, Tedesco Silva Junior H, Osmar Medina Pestana J, Casarini DE. Angiotensin-converting enzyme 2 in the pathogenesis of renal abnormalities observed in COVID-19 patients. Front Physiol. 2021;12:700220. doi:10.3389/fphys.2021.700220.

171. Dong M, Zhang J, Ma X, Tan J, Chen L, Liu S, et al. ACE2, TMPRSS2 distribution and extrapulmonary organ injury in patients with COVID-19. Biomed Pharmacother. 2020;131:110678. doi:10.1016/j.biopha.2020.110678.

172. El-Arif G, Khazaal S, Farhat A, Harb J, Annweiler C, Wu Y, et al. Angiotensin II type I receptor (AT1R): The gate towards COVID-19-associated diseases. Molecules. 2022;27(7):2048. doi:10.3390/molecules27072048.

173. Pires BG, Calado RT. Hyper-inflammation and complement in COVID-19. Am J Hematol. 2023;98 Suppl 4:S74-S81. doi:10.1002/ajh.26746.

174. Ma L, Sahu SK, Cano M, Kuppuswamy V, Bajwa J, McPhatter J, et al. Increased complement activation is a distinctive feature of severe SARS-CoV-2 infection. Sci Immunol. 2021;6(59):eabh2259. doi:10.1126/sciimmunol.abh2259.

175. Guo H, Sheng Y, Li W, Li F, Xie Z, Li J, et al. Coagulopathy as a prodrome of cytokine storm in COVID-19-infected patients. Front Med (Lausanne). 2020;7:572989. doi:10.3389/fmed.2020.572989.

176. De Luca R, Bonanno M, Calabrò RS. Psychological and cognitive effects of long COVID: A narrative review focusing on the assessment and rehabilitative approach. J Clin Med. 2022;11(21):6554. doi:10.3390/jcm11216554.

177. Amenta EM, Spallone A, Rodriguez-Barradas MC, El Sahly HM, Atmar RL, Kulkarni PA. Postacute COVID-19: An overview and approach to classification. Open Forum Infect Dis. 2020;7(12):ofaa509.

178. Rubin R. As their numbers grow, COVID-19 “long haulers” stump experts. JAMA. 2020;324(14):1381-1383.

179. Moreno-Pérez O, Merino E, Leon-Ramirez JM, Andres M, Ramos JM, Arenas-Jiménez J, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. Incidence and risk factors: A Mediterranean cohort study. J Infect. 2021;82(3):378-383.

180. Hampshire A, Trender W, Chamberlain SR, Jolly AE, Grant JE, Patrick F, et al. Cognitive deficits in people who have recovered from COVID-19. EClinicalMedicine. 2021;39:101044.

181. Serrano Del Pueblo VM, Serrano-Heras G, Romero Sánchez CM, Landete PP, Rojas-Bartolome L, Feria I, Morris RGM, Strange B, Mansilla F, Zhang L, Castro-Robles B, Arias-Salazar L, López-López S, Payá M, Segura T, Muñoz-López M. Brain and cognitive changes in patients with long COVID compared with infection-recovered control subjects. Brain. 2024;147(10):3611-3623. doi:10.1093/brain/awae101.

182. Honarmand K, Lalli RS, Priestap F, Chen JL, McIntyre CW, Owen AM, et al. Natural history of cognitive impairment in critical illness survivors. Am J Respir Crit Care Med. 2020;202(2):193-201.

183. Miskowiak KW, Johnsen S, Sattler SM, Nielsen S, Kunalan K, Rungby J, et al. Cognitive impairments four months after COVID-19 hospital discharge: Pattern, severity and association with illness variables. Eur Neuropsychopharmacol. 2021;46:39-48.

184. De Carlo TE, Romano A, Waheed NK, Duker JS. A review of optical coherence tomography angiography (OCTA). Int J Retina Vitreous. 2015;1:5.

185. Dacosta-Aguayo R, Lamonja-Vicente N, Chacón C, et al. (2022) Neurocognitive profile of the post-COVID condition in adults in Catalonia—a mixed method prospective cohort and nested case-control study: study protocol. Vaccines (Basel) 10 (6), doi:10.3390/vaccines10060849, pmid:35746457. 849

186. Galdran A, Anjos A, Dolz J, Chakor H, Lombaert H, Ben Ayed I. State-of-the-art retinal vessel segmentation with minimalistic models. Sci Rep. 2022;12(1):6174. doi:10.1038/s41598-022-09675-y.

187. Bankhead P, Scholfield CN, McGeown JG, Curtis TM. Fast retinal vessel detection and measurement using wavelets and edge location refinement. PLoS One. 2012;7(3):e32435. doi:10.1371/journal.pone.0032435.

188. Sevastopolsky A. Optic disc and cup segmentation methods for glaucoma detection with modification of U-Net convolutional neural network. Pattern Recognit Image Anal. 2017;27(3):618-624. doi:10.1134/S1054661817030269.

189. MacGillivray TJ, Cameron JR, Zhang Q, El-Medany A, Mulholland C, Sheng Z, et al. Suitability of UK Biobank retinal images for automatic analysis of morphometric properties of the vasculature. PLoS One. 2015;10(5):e0127914. doi:10.1371/journal.pone.0127914.

190. Tomasoni M, Beyeler MJ, Ortin Vela S, Mounier N, Porcu E, Corre T, et al. Genome-wide association studies of retinal vessel tortuosity identify numerous novel loci revealing genes and pathways associated with ocular and cardiometabolic diseases. Ophthalmol Sci. 2023;3(3):100288. doi:10.1016/j.xops.2023.100288

191. Nikkhoo B, Mohammadi M, Hasani S, Sigari N, Borhani A, Ramezani C, Charajoo A, Badri S, Rostami F, Etemadi M, et al. Elevated interleukin (IL)-6 as a predictor of disease severity among COVID-19 patients: a prospective cohort study. BMC Infect Dis. 2023;23(1):311. doi:10.1186/s12879-023-08258-6.

192. Guirao JJ, Cabrera CM, Jiménez N, Rincón L, Urra JM. High serum IL-6 values increase the risk of mortality and the severity of pneumonia in patients diagnosed with COVID-19. Mol Immunol. 2020;128:64-68. doi:10.1016/j.molimm.2020.10.006.

193. Felber R, New W, Riskin SI. SARS-CoV-2 and the angiotensin-converting enzyme 2 receptor: angiotensin-converting enzyme inhibitor/angiotensin 2 receptor blocker utilization and a shift towards the renin-angiotensin-aldosterone system classical pathway. Cureus. 2024;16(3):e55563. doi:10.7759/cureus.55563.

194. Serrano Del Pueblo VM, Serrano-Heras G, Romero Sánchez CM, Landete PP, Rojas-Bartolome L, Feria I, Morris RGM, Strange B, Mansilla F, Zhang L, Castro-Robles B, Arias-Salazar L, López-López S, Payá M, Segura T, Muñoz-López M. Brain and cognitive changes in patients with long COVID compared with infection-recovered control subjects. Brain. 2024;147(10):3611-3623. doi:10.1093/brain/awae101.

195. Bujor I, Chua J, Tan B, Iancu R, Pirvulescu R, Geamanu A, Bostan M, Toma E, Ionescu D, Schmetterer L, Popa-Cherecheanu A. Comparing Optical Coherence Tomography Angiography Metrics in Healthy Chinese and Caucasian Adults. J Pers Med. 2024 Aug 6;14(8):834. doi: 10.3390/jpm14080834. PMID: 39202025; PMCID: PMC11355270.

196. Massamba N, Mackin AG, Chun LY, Rodriguez S, Dimitroyannis RC, Bodaghi B, Hariprasad SM, Skondra D. Evaluation of flow of chorioretinal capillaries in healthy Black and White subjects using optical coherence tomography angiography. Sci Rep. 2021;11(1):21886. doi:10.1038/s41598-021-01380-6.6.

197. Landecho MF, Yuste JR, Gándara E, Sunsundegui P, Quiroga J, Alcaide AB, et al. COVID-19 retinal microangiopathy as an in vivo biomarker of systemic vascular disease? J Intern Med. 2021;289(1):116-120.

198. Lani-Louzada R, Ramos Cd, Cordeiro RM, Sadun AA, Spaeth GL, Roizenblatt M. Retinal changes in COVID-19 hospitalized patients. Arq Bras Oftalmol. 2020;83(5):381-383.

199. Bilbao-Malavé V, González-Zamora J, Saenz de Viteri M, de la Puente M, Gándara E, Casablanca-Piñera A, Boquera-Ventosa C, Zarranz-Ventura J, Landecho MF, García-Layana A. Persistent Retinal Microvascular Impairment in COVID-19 Bilateral Pneumonia at 6-Months Follow-Up Assessed by Optical Coherence Tomography Angiography. Biomedicines. 2021 May 2;9(5):502. doi: 10.3390/biomedicines9050502. PMID: 34063291; PMCID: PMC8147391.

200. Erikson K, Liisanantti JH, Hautala N, et al. Retinal arterial blood flow and retinal changes in patients with sepsis: preliminary study using fluorescein angiography. Crit Care. 2017;21(1):86. doi: 10.1186/s13054-017-1676-3

201. Patel NS, Moon JY, Katz R, Wai KM, Sobrin L, Vavvas DG, Miller JB. Retrospective Analysis of Retinal Imaging in COVID-19 Positive Patients at a Tertiary Eye Care Center. Clin Ophthalmol. 2021 Sep 3;15:3727-3731. doi: 10.2147/OPTH.S309346. PMID: 34511877; PMCID: PMC8423487.

202. Seidelmann SB, Claggett B, Bravo PE, Gupta A, Farhad H, Klein BEK, et al. Retinal vessel calibers in predicting long-term cardiovascular outcomes: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. Circulation. 2016;134(18):1328-1338. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023425

203. Abrishami M, Daneshvar R, Emamverdian Z, Saeedian N, Tohidinezhad F, Eslami S, et al. Spectral-domain optical coherence tomography assessment of retinal and choroidal changes in patients with coronavirus disease 2019: a case-control study. J Ophthalmic Inflamm Infect. 2022;12(1):18. doi:10.1186/s12348-022-00297-z.

204. Szkodny D, Wylęgała E, Sujka-Franczak P, Chlasta-Twardzik E, Fiolka R, Tomczyk T, Wylęgała A. Retinal OCT findings in patients after COVID infection. J Clin Med. 2021;10(15):3233. doi:10.3390/jcm10153233.

205. Kanra AY, Altınel MG, Alparslan F. Evaluation of retinal and choroidal parameters as neurodegeneration biomarkers in patients with post-COVID-19 syndrome. Photodiagnosis Photodyn Ther. 2022;40:103108. doi:10.1016/j.pdpdt.2022.103108.

206. Zapata MA, Banderas García S, Sánchez-Moltalvá A, Falcó A, Otero-Romero S, Arcos G, et al. Retinal microvascular abnormalities in patients after COVID-19 depending on disease severity. Br J Ophthalmol. 2022;106(4):559-563. doi:10.1136/bjophthalmol-2020-317953.

207. Güemes-Villahoz N, Burgos-Blasco B, Vidal-Villegas B, et al. Reduced retinal vessel density in COVID-19 patients and elevated D-dimer levels during the acute phase of the infection. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2021.

208. Abrishami M, Emamverdian Z, Shoeibi N, Omidtabrizi A, Daneshvar R, Saeedian N, et al. Optical coherence tomography angiography analysis of the retina in patients recovered from COVID-19: a case-control study. Can J Ophthalmol. 2021;56(1):24-30.

209. Chiosi F, Rinaldi M, Campagna G, et al. Optical coherence tomography angiography analysis of vessel density indices in early post-COVID-19 patients. Front Med (Lausanne). 2022;9:927121.

210. Çebi AY, et al. Evaluation of retinal microvascular impairment after COVID-19 and its clinical correlates using optical coherence tomography angiography. Turk J Ophthalmol. 2022.

211. Zhang M, Hwang TS, Campbell JP, Bailey ST, Wilson DJ, Huang D, Jia Y. Projection-resolved optical coherence tomographic angiography. Biomed Opt Express. 2016;7(3):816-828. doi:10.1364/BOE.7.000816.

212. Lavia C, Bonnin S, Maule M, Erginay A, Tadayoni R, Gaudric A. Vessel density of superficial, intermediate, and deep capillary plexuses using optical coherence tomography angiography. Retina. 2019;39(2):247-258. doi:10.1097/IAE.0000000000002413.

213. Abrishami M, Hassanpour K, Hosseini SM, Emamverdian Z, Ansari-Astaneh MR, Zamani G, et al. Macular vessel density reduction in patients recovered from COVID-19: a longitudinal optical coherence tomography angiography study. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2022;260(3):771-779. doi:10.1007/s00417-021-05429-0.

214. Nageeb RE, Salah Eddin MA, Macky TA, Tolba DAA. Post-COVID-19 retinal evaluation using optical coherence tomography angiography: a case-control study. Ocul Immunol Inflamm. 2023;31(6):1175-1183. doi:10.1080/09273948.2022.2141651.

215. Cennamo G, Reibaldi M, Montorio D, D'Andrea L, Fallico M, Triassi M. Optical coherence tomography angiography features in post-COVID-19 pneumonia patients: a pilot study. Am J Ophthalmol. 2021;227:182-190. doi:10.1016/j.ajo.2021.03.015.

216. Banderas García S, Aragón Roca D, Otero-Romero S, Zapata MA, Arruga J, García-Arumí J. Persistent reduction of retinal microvascular vessel density in patients with moderate

and severe COVID-19 disease. BMJ Open Ophthalmol. 2022;7(1):e000867. doi:10.1136/bmjophth-2021-000867

217. Kazantzis D, Dervenis N, Tsiamalis G, Arvanitis D, Sivaprasad S. Retinal microvascular changes in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. J Clin Med. 2023;12(18):5980. doi:10.3390/jcm12185980.

218. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet. 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

219. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. Nat Med. 2020;26(7):1017-1032. doi:10.1038/s41591-020-0968-3.

220. Ambrosino, P., et al. (2021). Clinical assessment of endothelial function in patients with COVID-19. Biomedicines, 9(12), 1935.

221. Evans PC, Rainger GE, Mason JC, Guzik TJ, Osto E, Stamataki Z, et al. Endothelial dysfunction in COVID-19: a position paper of the ESC Working Group for Atherosclerosis and Vascular Biology, and the ESC Council of Basic Cardiovascular Science. Cardiovasc Res. 2020;116(14):2177-2184. doi:10.1093/cvr/cvaa230.

222. Siddiqi HK, Libby P, Ridker PM. COVID-19: a vascular disease. Trends Cardiovasc Med. 2021;31(1):1-5. doi:10.1016/j.tcm.2020.10.005.

223. Idilman IS, Telli Dizman G, Ardali Duzgun S, Irmak I, Karcaaltincaba M, Inkaya AC, et al. Lung and kidney perfusion deficits diagnosed by dual-energy computed tomography in COVID-19-related systemic microangiopathy. Eur Radiol. 2021;31(2):1090-1099. doi:10.1007/s00330-020-07155-3.

224. Parker AJ, Humbir A, Tiwary P, Mishra M, Shanmugam M, Bhatia K, et al. Recovery after critical illness in COVID-19 ICU survivors. Br J Anaesth. 2021;126(6):e217-e219. doi:10.1016/j.bja.2021.03.005.

225. Townsend L, Dowds J, O'Brien K, Sheill G, Dyer AH, O'Kelly B, et al. Persistent poor health after COVID-19 is not associated with respiratory complications or initial disease severity. Ann Am Thorac Soc. 2021;18(6):997-1003. doi:10.1513/AnnalsATS.202009-1175OC.

226. Fabbri L, Moss S, Khan FA, Chi W, Xia J, Robinson KA, et al. Parenchymal lung abnormalities following hospitalisation for COVID-19 and viral pneumonitis: a systematic review and meta-analysis. Thorax. 2023;78(2):191-201. doi:10.1136/thoraxjnl-2021-2182

227. Noor M, McGrath O, Drira I, Aslam T. Retinal microvasculature image analysis using optical coherence tomography angiography in patients with post-COVID-19 syndrome. J Imaging. 2023;9(11):234. doi:10.3390/jimaging9110234.

228. Schlick S, Lucio M, Wallukat G, Bartsch A, Skornia A, Hoffmanns J, et al. Post-COVID-19 syndrome: retinal microcirculation as a potential marker for chronic fatigue. Int J Mol Sci. 2022;23(22):13683. doi:10.3390/ijms232213683.

229. Ariza M, Delas B, Rodriguez B, De Frutos B, Cano N, Segura B, Barrué C, et al. Retinal microvasculature changes linked to executive function impairment after COVID-19. J Clin Med. 2024;13(19):5671. doi:10.3390/jcm13195671.

230. Nalbandian A, Sehgal K, Gupta A, Madhavan MV, McGroder C, Stevens JS, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. Nat Med. 2021;27(4):601-615. doi:10.1038/s41591-021-01283-z.

231. Spudich S, Nath A. Nervous system consequences of COVID-19. Science. 2022;375(6578):267-269. doi:10.1126/science.abm2052.

232. Monje M, Iwasaki A. The neurobiology of long COVID. Neuron. 2022;110(21):3484-3496. doi:10.1016/j.neuron.2022.10.006.Sk Abd Razak R, Ismail A, Abdul Aziz AF, Suddin LS, Azzeri A, Sha'ari NI. Post-COVID syndrome prevalence: a systematic review and meta-analysis. BMC Public Health. 2024;24(1):1785. doi:10.1186/s12889-024-19264-5.

233. Sudre CH, Murray B, Varsavsky T, Graham MS, Penfold RS, Bowyer RC, et al. Attributes and predictors of long COVID. Nat Med. 2021;27(4):626-631. doi:10.1038/s41591-021-01292-y.

234. Taquet M, Dercon Q, Luciano S, Geddes JR, Husain M, Harrison PJ. Incidence, co-occurrence, and evolution of long-COVID features: a 6-month retrospective cohort study of 273,618 survivors of COVID-19. PLoS Med. 2021;18(9):e1003773. doi:10.1371/journal.pmed.1003773.

235. Dani M, Dirksen A, Taraborrelli P, Torocastro M, Panagopoulos D, Sutton R, Lim PB. Autonomic dysfunction in 'long COVID': rationale, physiology and management strategies. Clinical Medicine. 2021;21(1):e63-e67.

236. Jerratsch H, Beuse A, Spitzer MS, Grohmann C. The current status of OCT and OCTA imaging for the diagnosis of long COVID. J Clin Transl Ophthalmol. 2024;2(4):113-130. doi:10.3390/jcto2040010.

11. ANEXOS

11.1. Publicaciones derivadas de la tesis

11.1.1. Publicación 1

Zapata MA, Banderas García S, Sánchez-Moltalvá A, Falcó A, Otero-Romero S, Arcos G, et al. Retinal microvascular abnormalities in patients after COVID-19 depending on disease severity. Br J Ophthalmol. 2022;106(4):559-563. doi:10.1136/bjophthalmol-2020-317953. © Autores 2020. No se permite la reutilización comercial. Reproducido con fines académicos en el marco de esta tesis doctoral, con la correspondiente atribución completa.



Retinal microvascular abnormalities in patients after COVID-19 depending on disease severity

Miguel Ángel Zapata,[1] Sandra Banderas García,[1,2] Adrián Sánchez-Moltalvá,[3] Anna Falcó,[3] Susana Otero-Romero,[4] Gabriel Arcos,[5] Daniel Velazquez-Villoria,[6] Jose García-Arumí[1,7]

[1]Ophthalmology Service, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Catalunya, Spain
[2]Department of Surgery, Autonomous University of Barcelona, Barcelona, Catalunya, Spain
[3]Infectious Diseases Department, Autonomous University of Barcelona, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Catalunya, Spain
[4]Preventive Medicine and Epidemiology Department, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Catalunya, Spain
[5]Ophthalmology, AMEDICS, Barcelona, Spain
[6]Ophthalmology, Villoria Clinic, Pontevedra, Spain
[7]Ocular Microsurgery Institute (IMO), Barcelona, Spain

Correspondence to
Sandra Banderas García, Ophthalmology Service, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona 08028, Spain; sandrabanderasgarcia@gmail.com

Received 15 September 2020
Revised 20 November 2020
Accepted 21 November 2020

Check for updates

© Author(s) (or their employer(s)) 2020. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

To cite: Zapata MA, Banderas García S, Sánchez-Moltalvá A, *et al*. *Br J Ophthalmol* Epub ahead of print: [please include Day Month Year]. doi:10.1136/bjophthalmol-2020-317953

ABSTRACT

Background Global pandemic SARS-CoV-2 causes a prothrombotic state without fully elucidated effects. This study aims to analyse and quantify the possible retinal microvascular abnormalities.

Materials and methods Case–control study. Patients between 18 and 55 years old with PCR-confirmed SARS-CoV-2 infection within the last 3 months were included. Risk stratification: group 1—mild disease (asymptomatic/paucisymptomatic); group 2—moderate disease (required hospital admission with no acute respiratory distress) and group 3—severe disease (subjects who developed an acute respiratory distress were admitted in the intensive care unit and presented interleukin 6 values above 40 pg/mL). Age-matched volunteers with negative serology tests were enrolled to control group. A colour photograph, an optical coherence tomography (OCT) and an angiography using OCT centred on the fovea were performed.

Results Control group included 27 subjects: group 1 included 24 patients, group 2 consisted of 24 patients and 21 participants were recruited for group 3. There were no funduscopic lesions, neither in the colour images nor in the structural OCT. Fovea-centred vascular density (VD) was reduced in group 2 and group 3 compared with group 1 and control group (control group vs group 2; 16.92 vs 13.37; p=0.009) (control group vs group 3; 16.92 vs ,13.63; p=0.026) (group 1 vs group 2; 17.16 vs 13.37; p=0.006) (group 1 vs group 3; 17.16 vs 13.63 p=0.017).

Conclusion Patients with moderate and severe SARS-CoV-2 pneumonia had decreased central retinal VD as compared with that of asymptomatic/paucisymptomatic cases or control subjects.

INTRODUCTION

Pandemic of COVID-19 represents a new global health threat caused by SARS-CoV-2.[1]

SARS-CoV-2 infects the cell binding to ACE2 receptor expressed in various organs including lung, heart, kidney, intestine and blood vessels. ACE2 is abundantly expressed on endothelia in virtually all organs.[2] Systemic vasculitis in SARS-CoV-2 involves recruitment of immune cells into vessel walls and endothelial cellular oedema, either by direct response to viremia or immune reactions. Eventually this may lead to generalised endothelial dysfunction associated with apoptosis.[3]

Up to date, ocular manifestations in the infection of SARS-CoV-2 are not fully elucidated, although conjunctivitis has been commonly described in patients with COVID-19.[4] Retinal vascular changes such as microbleeds and small infarcts at the level of the internal plexus have been reported in patients with COVID-19.[5]

Retinal vasculature can be directly observed in a non-invasive way. This provides accessible and valuable information to monitor, diagnose and study early microcirculatory changes in multiple systemic conditions including viral infections.[6] Classical direct visualisation (funduscopy) or new techniques via modern optical coherence tomography (OCT) or angiography OCT (OCT-A) allow precise evaluation of retinal microvascular plexus.

There are no published studies assessing the state of the retinal vascularisation in patients after COVID-19. The rationale for this study was to observe possible retinal capillary changes associated to the prothrombotic and inflammatory state in COVID-19. We decided to perform not only a direct retinal observation, but an in-depth analysis of the vascular plexus in order to detect any subclinical abnormality.

MATERIALS AND METHODS

Inclusion and selection of patients

We designed a case–control study. The case participants were patients between 18 and 55 years old with PCR-confirmed SARS-CoV-2 infection during the last 3 months since patient's enrolment. The study was performed at Vall d'Hebron University Hospital (VHUH) (Barcelona, Spain), a 1100-bed tertiary teaching centre, from 3rd of June 2020 until 7th of July 2020. Exclusion criteria were: known prior ophthalmological record, myopia higher than −6 dioptres, diabetes with any sign of retinopathy, active vascular diseases that could lead to retinopathy, such as malignant hypertension, multiple myeloma or hyperglobulinaemia. Cases were divided into three groups: (a) group 1—mild disease: asymptomatic/paucisymptomatic patients with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection who received outpatient care; (b) group 2—moderate disease: patients who required hospital admission for SARS-CoV-2 pneumonia but did not develop acute respiratory distress or respiratory failure and had interleukin 6 (IL-6) values less than 40 pg/mL during hospital stay; (c) group 3—severe disease: patients who developed acute respiratory distress syndrome and were referred for intensive care unit (ICU) admission with IL-6 values above 40 pg/mL at any time during hospital stay.

The control group consisted of healthy subjects with negative serology for SARS-CoV-2 and

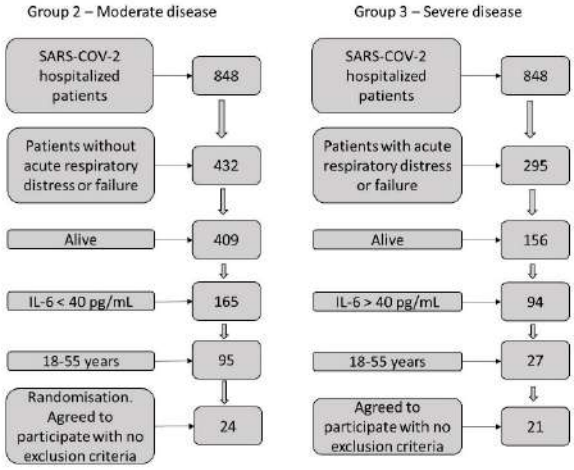


Figure 1 Selection process of patients included in group 2 and group 3. IL-6, interleukin 6.

absence of viral symptoms within 4 weeks prior to enrolment. Control group and group 1 were randomly selected from VHUH healthcare workers with negative and positive serological tests, respectively, and matched 1:1 for age and gender. Figure 1 shows flow chart of groups 2 and 3 selection process. Selection of a convenience sample of 20 participants per group was decided in order to conduct an exploratory research.

Examinations performed

At the time of the study, all patients had been discharged from the hospital. All participants performed a structured questionnaire collecting comorbidities, chronic medication, use of tobacco, use of alcohol and illicit drug consumption. In-hospital data were retrieved from VHUH COVID-19 cohort study database.

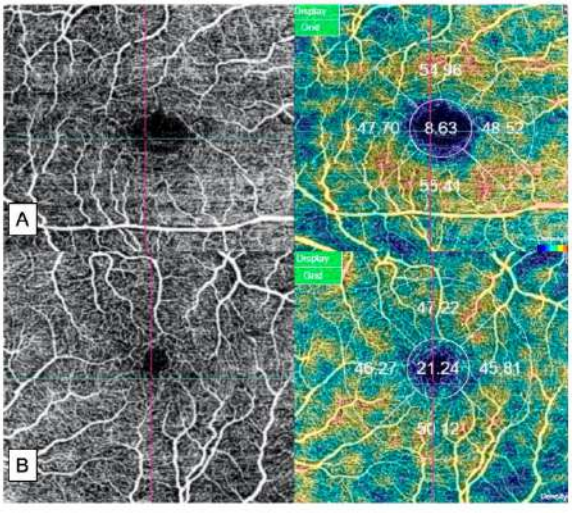


Figure 2 Example of angiography by optical coherence tomography (OCT-A). (A) Image obtained from a group 3 patient. Marked decrease in vascular density is observed in the central area compared with the image below. (B) OCT-A of control group subject.

Without pharmacological mydriasis, a 50° colour photograph of the retina posterior pole, a macula-centred high-definition OCT (scan radial 12 mm) and an automatically fovea-centred OCT-A were performed to all study participants (4.5×4.5 mm). The equipment used in all patients was the DRI OCT Triton Swept Source (Topcon Corporation, Tokyo, Japan). This system is based on motion contrast measure using a ratio method named OCT Angiography Ratio Analysis. Scattered light by red blood cells and adjacent tissue structures form an interference that is turned into a speckle pattern whose variation is detected as flow.[7] Automatic segmentation generated the superficial capillary plexus in the macular region and a specified software calculated vascular density (VD), defined as the percentage of a region occupied by blood vessels in the OCT-A en-face images.[8] Following the ETDRS grid, VD data were collected from central, superior, inferior, nasal and temporal perifoveal areas. Figure 2 shows an example of the VD analysis. The images of the fundus and tomographic scans were analysed for presence of haemorrhagic or exudative lesions in both the external and inner retina by two different ophthalmologists (SBG, MAZ). A third ophthalmologist double evaluated images (GA). Images with visually recognised motion artefacts, signal strength index below 40 or incorrect segmentation were excluded.

Foveal avascular zone (FAZ) images were analysed by three different observers (SBG, MAZ, GA) and manually delineated by means of ImageJ Software (National Institutes of Health). Area means were then statistically analysed.

Statistical study

Statistical analyses were performed with the SPSS (V.23.0). Data from only left eye were considered. The normality of the variables was tested with the test of Kolmogorov-Smirnov. The quantitative variables that followed a normal distribution were studied with analysis of variance (ANOVA) using Bonferroni correction. Kruskal-Wallis test was performed to compare quantitative variables not normally distributed. Qualitative variables were examined using the X^2 test.

RESULTS

Study population

We included a total of 96 patients. The control group was formed by 27 subjects. Among patients with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection, group 1 included 24 subjects, group 2 consisted of 24 participants and group 3 included 21 patients. Demographic, clinical and image characteristics are summarised in table 1 for each group. Mean days from PCR-confirmed diagnosis to ophthalmological examination time were 72 and 70 days (group 2 and group 3, respectively). There were no statistically significant differences between groups in terms of age, gender, smoking, diabetes history or treatment with ACE inhibitors (ACEI) or angiotensin II type-I receptor blockers (ARB). There was a significant difference (p=0.001) in the proportion of patients with Latin American origin in groups 2 and 3.

Funduscopic and structural OCT findings

No visual injuries attributable to SARS-CoV-2 were found, neither in the colour fundus images nor in the structural OCT sections. Only one patient presented a small haemorrhage in the posterior pole without other accompanying abnormalities. According to the researchers, this finding could be due to a Valsalva manoeuvre or the fact that this subject was currently under treatment with heparin for presenting a thromboembolic episode during his stay in ICU. During the examination,

Table 1 Distribution of the subjects within groups, characteristics and vascular density

		Control group	Group 1—mild disease	Group 2—moderate disease	Group 3—severe disease	Significance among all groups
Gender	Male	10	12	10	12	0.520*
	Female	17	12	14	9	
Age (years)	Mean	39	41	42	44	0.333†
Diabetes	No	27	24	22	19	0.189*
	Yes	0	0	2	2	
Smoker	No	22	21	24	19	0.186*
	Yes	5	3	0	2	
Race	Caucasic	27	23	19	11	0.001*§
	Latin	0	1	5	9	
	Other	0	0	0	1	
ACEI use	No	26	24	24	20	0.550*
	Yes	1	0	0	1	
Days from PCR	Mean	–	–	72	70	–
Central VD	Mean	16.90	17.16	13.37	13.63	0.000†§
	SD	3.10	3.48	4.90	3.78	
Inferior VD	Mean	50.37	49.55	49.67	48.78	0.827†
	SD	3.25	2.63	4.88	4.56	
Superior VD	Mean	49.72	48.82	49.03	49.46	0.733†
	SD	3.43	2.99	2.70	3.28	
Nasal VD	Mean	43.92	44.26	43.86	44.21	0.970†
	SD	2.59	4.41	2.80	7.74	
Temporal VD	Mean	47.77	45.99	48.41	47.87	0.020†§
	SD	2.20	3.46	4.19	3.97	
FAZ	Mean	0.25	0.20	0.35	0.31	0.000†
	SD	0.07	0.08	0.15	0.10	
Image quality	Mean	64,96	64,13	66,88	65,95	0.441†
	SD	5,21	6,61	4,25	4,75	

*'X' test.
†ANOVA test and Bonferroni correction.
‡Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test.
§Statistically significant p<0.05.
ACEI, ACE inhibitor; ANOVA, analysis of variance; FAZ, foveal avascular zone; VD, vascular density.

two patients were found to have asymptomatic small pigment epithelial detachments not presumably related to the viral infection. Hyper-reflectivity in the internal retina at the level of the ganglion cell layer was observed in some patients in the structural OCTs.[5] Blood vessels parallel to the OCT direction were found to correspond to these findings from the fundus image. Figure 3 shows examples of this fact in both a participant from the control group and a subject from group 3.

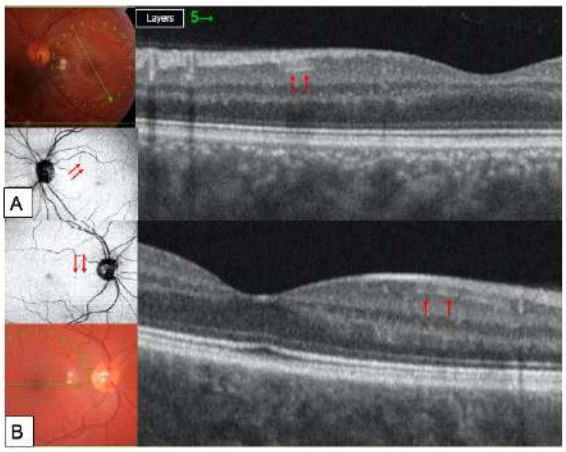


Figure 3 (A) Vessel image in a parallel section of the optical coherence tomography in a group 3 participant. The red arrows point the vessel forming the image. (B) Image of the vessel parallel to the optical coherence tomography section in a control patient. The red arrows indicate the vessel that generates the image.

OCT-A and VD

At macroscopic scale, no alterations were observed in the vascular architecture of the superficial or deep plexus. Ischaemic zones or vascular dilations were not observed, neither in cases nor in controls. There were no visible anatomical alterations in terms of the size, shape or circularity of FAZ. A tendency to a bigger FAZ area was noted (figure 4). FAZ mean area (non-normally distributed data) was analysed by Kruskal-Wallis test and posteriorly a Mann-Whitney U test was used for pair comparison. Table 1 and figure 5 show the mean VD for each group and studied areas. VD had a normal distribution in central, superior and nasal areas. Mean VD in control group for the central area was 16.92 (SD 3.10), in group 1 was 17.16 (SD 3.48), in group 2 was 13.37 (SD 4.90) and group 3, standing for the most severe cases, was 13.63 (SD 3.78). In ANOVA analysis, after Bonferroni correction for multiple measurements, we obtained, statistically significant higher central VDs in control group and group 1 were found (control group vs group 2, p=0.009; control group vs group 3, p=0.026; group 1 vs group 2, p=0.006; group 1 vs group 3, p=0.017). VD data for inferior and temporal areas were non-normally distributed. After analysis with Kruskal-Wallis, a statistically significant difference in mean temporal VD was found (p=0.02) but in Mann-Whitney U test, statistical differences were only found in control group versus group 1 (p=0.04) and control group versus group 2 (p=0.08); whereas control

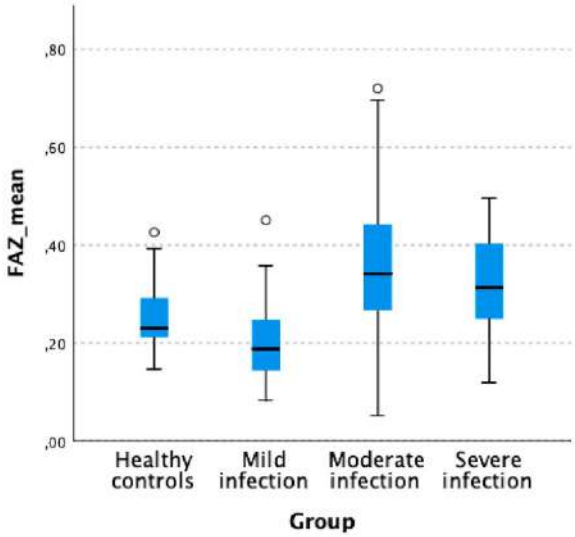


Figure 4 Box plot of the Kruskal-Wallis test for values of FAZ mean area. An upward trend for bigger FAZ mean areas for groups 2 and 3 than in control group and group 1 can be distinguished. FAZ, foveal avascular zone.

group versus group 3 had a p=0.58. No difference in nasal VD data was found.

Regardless of group assignation, women and Latin American origin had lower central VD (men 16.81 vs women 14.15; p=0.002) (Caucasian 15.81 vs Latino 13.25; p=0.03). There was no clear correlation between age and central VD mean

(Pearson correlation −0.193; p=0.06), but there seemed to be a negative trend.

DISCUSSION

The main finding of the study is decreased VD in central retina related to severity of COVID-19 infection. Despite the exponential increase of manuscript publications about COVID-19 in the last months, effects of the virus on the vascular system are unclear. SARS-CoV-2 has been found to cause a prothrombotic state which long-term outcomes remain unknown.[9–11] Accordingly, macroscopic lesions were expected to be found in the retina. Subjects requiring admission in ICU, who received treatment with anticoagulant drugs and mechanical ventilation, were expected to show small haemorrhages or cotton wool exudates from small infarcts in the nerve fibre layer. However, normal fundus without haemorrhages, ischaemic areas or exudates were observed. A previous study by Marinho *et al* reported these lesions in patients with COVID-19.[5] These different findings could be attributable to the shorter period between acute infection and ophthalmological examination. Although it is true that we have not collected data from the cases in the acute phase of infection, these types of findings frequently last longer in the fundus. If they were to be a direct effect of SARS-CoV-2, we would have detected them given the sample size of our study. The abnormalities described within the ganglion cell layer correspond to the retina internal vessels in a tomographic parallel section, which is a standard anatomical finding.

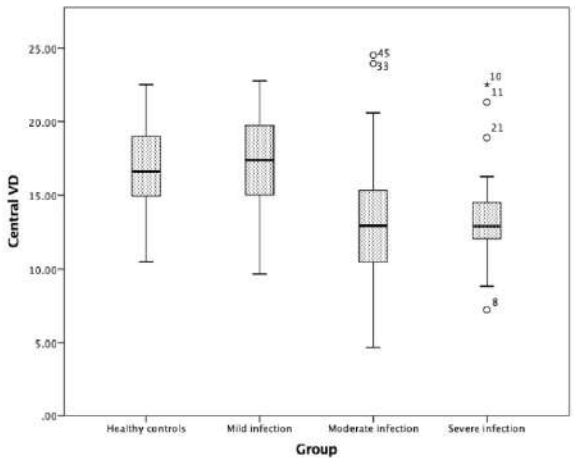


Figure 5 Measurement of the vascular density (VD) of the superficial plexus in the central fovea according to disease risk groups. The VD is defined as the percentage area occupied by vessels in the analysed region.

Regarding OCT-A findings, decreased central VD in patients with severe and moderate disease seems to be a consistent finding. Several factors may contribute to those findings, persistent hypoxemia and immune-mediated inflammatory milieu are the most plausible explanations for this phenomenon. However, parafoveal areas did not appear to show decreased VD.

VD has been related to several factors, the first one being age.[12 13] In our series, there were no significant differences in regard to age among groups, with a slight trend downwards for cases.

The second factor associated with VD is smoking. Various studies have linked smoking to effects at the level of retinal VD.[14 15] Çiloğlu *et al* described a larger area of FAZ and reduced central VD in the OCT-A of smoker subjects compared with non-smokers. In another study by Dogan *et al*, decrease in VD of the deep retina plexus in smokers was found. No differences were seen in our study, although it is true that the overall percentage of smokers was low and probably not representative of the general population.

The origin or ethnicity of the participants could also influence the VD findings. Some authors described specific inter-racial differences in the central retina thickness and specifically in VDs between white and black,[16–18] although there are no further studies among other ethnicities. Chun *et al* theorise that such differences could account for a greater likelihood of diabetic retinopathy among black people, although there is no evidence for this relationship. In our study, Latin American origin was more common in moderate and severe infection groups and seemed to be an independent factor for VD. Further research in these inter-racial differences is needed.

The use of ACEI or ARB could have influenced our VD findings. In the first moment, viral dynamics and clinical severity were postulated to be related to these drugs, but this has not been confirmed in subsequent studies.[19] In our study, despite its small power to answer this question, we did not find any relation between ACEI and ARB intake and VD.

Leaving possible confounding factors aside, the difference between densities and severity of infection seems clear. There may be several explanations for this fact. First, it could be an indirect consequence of the infection. It has been shown that hypoxia can increase retina VD[20] and that hyperoxia, on the other hand, can decrease it.[21 22] Many of the patients in the moderate and severe disease groups presented subnormal oxygenation levels and required therefore supplemental oxygen for an extended period. This could

account for central VD decrease in patients with moderate and severe disease. However, our study was performed once symptoms resolved completely and posterior to hospital discharge. Direct effects of hyper/hypoxia seem to linger just a few minutes in some cases[20 22] or even a few days.[21] Further research is needed to solve the uncertainties related to our findings.

SARS-CoV-2 targets endothelial cells among others, leading to virus-mediated capillary closure (micro-thrombotic events). If this is just a local finding or similar changes could be found in other organs remains an unsolved question. Other studies have suggested VD in central retina as a possible vascular biomarker and examined its relationship with systemic conditions: diabetes,[23] chronic kidney disease,[24] inflammatory bowel disease,[25] amyloidosis[26] or Alzheimer,[26] so could VD be considered a biomarker for microvascular abnormalities after the infection of SARS-CoV-2? Longitudinal studies over time will be necessary to assess vascular outcomes in COVID-19.

Several limitations of our study require consideration. Small sample size limits our power to detect small differences. Selection bias was minimised by random selection of patients with inclusion criteria. No severe comorbidities were observed in our population sample. A bias may have occurred as patients with grievous diseases may have not been possible to include in the study due to raised risk of severe COVID-19 disease and lower surveillance rates. Delay time from active infection until ophthalmological examination due to non-portable tomography equipment is also a limitation to be highlighted. Transfer of hospitalised patients to external consultations with proper isolation in order to perform OCT and OCT-A would have been a complex requirement in our case. Last reference should be made to the cross-sectional nature of the study. Findings in the present document are believed to contribute to the implementation of better designed studies on COVID-19 and its effects in the retina and other tissues.

In conclusion, a decrease in retinal central VD in moderate and severe cases of SARS-CoV-2 pneumonia was found, which demonstrates the complexity of the disease and its multiorganic involvement.

Twitter Miguel Ángel Zapata @DrMAZapata

Acknowledgements We would like to acknowledge the contribution of the Medicine Department of the Autonomous University of Barcelona (UAB).

Contributors MAZ and SBG made a substantial contribution to the present work in the design of the study, acquisition, analysis and interpretation of data, manuscript drafting and approval of the version of the manuscript to be published. AS and SO-R had contributed to acquisition of data, conception and design of the study, critical revision for important intellectual content and approval of the version to be published. AF, GA and DV-V had an important participation in the conception and design of the study, critical revision for important intellectual content and approval of the present version of the manuscript. JG-A's contribution to the present work included conception and design of the study, critical revision for important intellectual content and approval of the present version.

Funding The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Competing interests None declared.

Patient consent for publication All enrolled patients signed informed consent.

Ethics approval The study was approved by the Vall d'Hebron University Hospital ethical committee under the number PR (AG) 337/2020.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data availability statement All data relevant to the study are included in the article.

This article is made freely available for use in accordance with BMJ's website terms and conditions for the duration of the covid-19 pandemic or until otherwise determined by BMJ. You may use, download and print the article for any lawful, non-commercial purpose (including text and data mining) provided that all copyright notices and trade marks are retained.

ORCID iDs
Sandra Banderas García http://orcid.org/0000-0002-3641-3806
Adrián Sánchez-Moltalvá http://orcid.org/0000-0002-2194-5447
Daniel Velazquez-Villoria http://orcid.org/0000-0002-8677-6859

REFERENCES

1 Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun* 2020;109:102433.
2 Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, *et al*. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation* 2005;111:2605–10.
3 Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, *et al*. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 2020;395:1417–8.
4 Wu P, Duan F, Luo C, *et al*. Characteristics of ocular findings of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Hubei Province, China. *JAMA Ophthalmol* 2020;138:575.
5 Marinho PM, Marcos AAA, Romano AC, *et al*. Retinal findings in patients with COVID-19. *Lancet* 2020;395:1610.
6 Pringle E, Graham EM. *Oftalmología General*. 18th ed. Madrid: McGraw-Hill, 2012: 761–752.
7 Jia Y, Tan O, Tokayer J, *et al*. Split-spectrum amplitude-decorrelation angiography with optical coherence tomography. *Opt Express* 2012;20:4710.
8 Huang Y, Zhang Q, Thorell MR, *et al*. Swept-source OCT angiography of the retinal vasculature using intensity differentiation-based optical microangiography algorithms. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina* 2014;45:382–9.
9 Mucha SR, Dugar S, McCrae K, *et al*. Coagulopathy in COVID-19. *Cleve Clin J Med* 2020;87:461–8.
10 Cui S, Chen S, Li X, *et al*. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020;18:1421–4.
11 Kasinathan G, Sathar J. Haematological manifestations, mechanisms of thrombosis and anti-coagulation in COVID-19 disease: a review. *Ann Med Surg* 2020;56:173–7.
12 Wang Q, Chan S, Yang JY, *et al*. Vascular density in retina and Choriocapillaris as measured by optical coherence tomography angiography. *Am J Ophthalmol* 2016;168:95–109.
13 Park SH, Cho H, Hwang SJ, *et al*. Changes in the retinal microvasculature measured using optical coherence tomography angiography according to age. *ICM* 2020;9:883.
14 Çiloğlu E, Unal F, Sukgen EA, *et al*. Evaluation of foveal avascular zone and capillary plexus in smokers using optical coherence tomography angiography. *J Curr Ophthalmol* 2019;32:57–53.
15 Dogan M, Akdogan M, Gulyesil FF, *et al*. Cigarette smoking reduces deep retinal vascular density. *Clin Exp Optom* 2020;103:838–42.
16 Chun LY, Silas MR, Dimitroyannis RC, *et al*. Differences in macular capillary parameters between healthy black and white subjects with optical coherence tomography angiography (OCTA). *PLoS One* 2019;14:e0223142.
17 Li X, Wong WL, Cheung CY-L, *et al*. Racial differences in retinal vessel geometric characteristics: a multiethnic study in healthy Asians. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:3650.
18 Wong KH, Tham Y-C, Nguyen DQ, *et al*. Racial differences and determinants of macular thickness profiles in multiethnic Asian population: the Singapore epidemiology of eye diseases study. *Br J Ophthalmol* 2019;103:894–9.
19 Golpe R, Pérez-de-Llano LA, Dacal D. Get al. Risk of severe COVID-19 in hypertensive patients treated with renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors: *Med Clin2020*.20. Sousa DC, Leal I, Moreira S, et al. Hypoxia challenge test and retinal circulation changes – a study using ocular coherence tomography angiography.. *Acta Ophthalmol* 2018;96:e319–e315.
21 Hagag AM, Pechauer AD, Liu L, *et al*. Oct angiography changes in the 3 parafoveal retinal plexuses in response to hyperoxia. *Ophthalmol Retina* 2018;2:329–36.
22 Xu H, Deng G, Jiang C, *et al*. Microcirculatory responses to hyperoxia in macular and peripapillary regions. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:4464.
23 Ting DSW, Tan GSW, Agrawal R, *et al*. Optical coherence tomographic angiography in type 2 diabetes and diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmol* 2017;135:306.
24 Vadalà M, Castellucci M, Guarrasi G, *et al*. Retinal and choroidal vasculature changes associated with chronic kidney disease. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019;257:1698–1687.
25 Nakayama LF, Bergamo VC, Conti ML, *et al*. The retinal foveal avascular zone as a systemic biomarker to evaluate inflammatory bowel disease control. *Int J Retina Vitreous* 2019;5:16.
26 Tei M, Maruko I, Uchimura E, *et al*. Retinal and choroidal circulation determined by optical coherence tomography angiography in patient with amyloidosis. *BMJ Case Rep* 2019;12. doi:10.1136/bcr-2018-228479. [Epub ahead of print: 21 Feb 2019].
27 Zhang YS, Zhou N, Knoll BM, *et al*. Parafoveal vessel loss and correlation between peripapillary vessel density and cognitive performance in amnestic mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease on optical coherence tomography angiography. *PLoS One* 2019;14:e0214685.

11.1.2. Publicación 2

Banderas García S, Aragón Roca D, Otero-Romero S, Zapata MA, Arruga J, García-Arumí J. Persistent reduction of retinal microvascular vessel density in patients with moderate and severe COVID-19 disease. BMJ Open Ophthalmol. 2022;7(1):e000867. doi:10.1136/bmjophth-2021-000867. © Autores 2022. Reutilización permitida bajo licencia CC BY-NC. No se permite la reutilización comercial. Reproducido con fines académicos en el marco de esta tesis doctoral, con la correspondiente atribución completa.

Original research

BMJ Open Ophthalmology

Persistent reduction of retinal microvascular vessel density in patients with moderate and severe COVID-19 disease

Sandra Banderas García ,[1] David Aragón,[1] Brahim Azarfane,[1] Fernando Trejo,[1] Xavier Garrell-Salat,[1] Adrián Sánchez-Montalvá,[2] Susana Otero-Romero,[3] Jose Garcia-Arumi,[1,4] Miguel Angel Zapata[1]

To cite: Banderas García S, Aragón D, Azarfane B, *et al*. Persistent reduction of retinal microvascular vessel density in patients with moderate and severe COVID-19 disease. *BMJ Open Ophthalmology* 2022;**7**:e000867. doi:10.1136/bmjophth-2021-000867

► Additional supplemental material is published online only. To view, please visit the journal online (http://dx.doi.org/10.1136/bmjophth-2021-000867).

Received 30 July 2021
Accepted 3 January 2022

Check for updates

© Author(s) (or their employer(s)) 2022. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use. See rights and permissions. Published by BMJ.

[1]Department of Ophthalmology, Vall d'Hebron University Hospital, Barcelona, Catalunya, Spain
[2]Infectious Diseases Department, Universitat Autònoma de Barcelona, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain
[3]Preventive Medicine and Epidemiology Department, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, Spain
[4]IMO, Institute of Ocular Microsurgery, Barcelona, Spain

Correspondence to
Dr Sandra Banderas García; sandrabanderasgarcia@gmail.com

ABSTRACT

Objective This study aims to analyse the possible recovery or worsening in retinal microvasculature after 8 months in a previously studied COVID-19 cohort.

Methods and analysis A cross-sectional case–control study and a prospective longitudinal cohort study. Participants were the subjects of our previous study who re-enrolled for a new examination including a fundus photograph (retinography), an optical coherence tomography (OCT) scan and an OCT angiography. COVID-19 diagnosed patients were divided into three groups: group 1: mild disease, asymptomatic/paucisymptomatic subjects who received outpatient care; group 2: moderate disease and group 3: severe disease, both of which required hospital admission because of pneumonia. Statistical analyses were performed using SPSS software (V.23.0). Cross-sectional intergroup differences were analysed by means of analysis of variance for normally distributed variables and the Kruskal-Wallis test for non-normally distributed ones. In reference to the prospective part of the study (intragroup differences, baseline with 8-month comparison), a paired t-test was used for normally distributed data and Wilcoxon signed ranks sum for non-normally distributed data.

Results The fovea-centered superficial and deep vascular densities were significantly diminished in severe cases compared with mild cases (p=0.004; p=0.003, respectively, for superficial and deep) and to controls (p=0.014; p=0.010), also in moderate cases to mild group (p=0.004; p=0.003) and to controls (p=0.012; p=0.024). In the longitudinal study, no significant statistical differences were found between baseline and 8-month follow-up vessel density values.

Conclusion We demonstrated persistent reduction in the central vascular area over time in patients with moderate and severe COVID-19.

Key messages

What is already known about this subject?
- The long-term consequences of COVID-19 on retinal vascularisation are still unknown. Reduced retinal vessel density in severe COVID-19 cases is described in the literature.

What are the new findings?
- We demonstrated persistent reduction in the central vascular area over time in patients with moderate and severe COVID-19.

How might these results change the focus of research or clinical practice?
- A close follow-up of patients with severe disease should be performed, in order to detect possible long-term systemic and ophthalmological sequelae.

INTRODUCTION

Microvascular alterations in patients with COVID-19 have recently been described in several organs[1] including the skin, lungs and retina.[2] The SARS-CoV-2 was associated with organ dysfunction and generalised coagulopathy.[3]

COVID-19 is believed to bind the angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) receptor located on virtually all endothelia with high affinity.[4] It activates the renin/angiotensin system leading to a downregulation in ACE2 expression and increasing angiotensin II. Angiotensin II is known to be a potent vasoconstrictor and enhancer of the expression of tissue factor and plasminogen activator inhibitor leading to thrombosis. It also provokes complement activation via formation of reactive oxygen species and downregulation of C1 inhibitor, which increases vascular permeability and cytokine release, enhancing its thrombotic effect.[5–7] SARS-CoV-2 infection induces a generalised microvascular thrombotic disorder and markedly elevated D-dimer, which has been associated with a worse prognosis of the disease.[8]

Retinal vascular changes in the form of decrease in radial peripapillary capillary plexus perfusion density,[9] reduction in vessel density (VD) of foveal area and larger foveal

avascular area[2 10] have been reported in patients with COVID-19 using optical coherence tomography angiography (OCT-A). Funduscopy exams have shown other features that are positively correlated with disease severity such as retinal venous diameter, presence of haemorrhages and cotton wool spots.[11]

In a previous study in which we assessed the state of retinal vascularisation via OCT-A in a cohort of 69 patients with COVID-19, we found lower central retina VD of the superficial plexus, in relation to the severity of the infection.[10] OCT-A provides a safe and non-invasive diagnostic way of studying retinal vascular plexuses: superficial capillary plexus (SCP), deep capillary plexus (DCP) and choriocapillaris.[12] OCT-A triton uses a central wavelength of 1.050 nm with 100.000 A-scans per second to detect motion contrast and visualise blood flow in vivo. The OCT-A software uses a commercially available algorithm, OCTRA, which has been shown to provide highly sensitive detection of low blood flow in microvasculature, used in DRI OCT triton equipment.[13]

The long-term consequences of COVID-19 on retinal vascularisation are still unknown, as most of the available studies are cross-sectional.[2 10] Here, we provided an 8-month follow-up analysis of our previously studied cohort.

MATERIALS AND METHODS

Inclusion and selection of patients

We present a cross-sectional case–control study (8-month follow-up) and a prospective longitudinal cohort study (baseline and 8-month follow-up) performed at the Vall d'Hebron University Hospital (Barcelona, Spain). We included the participants of our previous study (June–July 2020).[10] Cases were defined as patients between 18 and 55 years of age with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection in the 3 months previous to enrolment in the study (June–July 2020). They were divided into: group 1: mild disease, asymptomatic/paucisymptomatic subjects who received outpatient care; group 2: moderate disease and group 3: severe disease, both of which required hospital admission because of pneumonia. Group 3 subjects developed acute respiratory distress syndrome with intensive care unit stay and interleukin 6 (IL-6) values in excess of 40 pg/mL at some point during hospitalisation. The control group consisted of healthy participants with negative serology for SARS-CoV-2 and any viral symptom in the 4 weeks prior to enrolment.

Exclusion criteria were consistent with the previous study: known prior ophthalmological diseases, myopia greater than −6 dioptres, diabetic retinopathy and active vascular diseases with retinopathy (multiple myeloma, hyperglobulinemia and malignant hypertension). Only one eye per patient is included in the analyses (the left one) in order to minimise the risk of bias.

All case and control subjects were asked to reconsent to participate in the extension phase of the study 8 months later (between 17 November 2020 and 29 January 2021). Data from the baseline examination was compared with the data obtained 8 months later. The control group was reassessed to confirm that they continued to meet the inclusion criteria, that is, no viral symptoms 4 weeks prior to the new assessment and negative serology. A flow chart depicts drop-outs (figure 1).

Patient and public involvement statement

Neither patients nor members of the public were involved in the design, conduct, reporting or dissemination plans of our research.

Examinations performed

A repetition of the same ocular examination from baseline was performed on all the subjects 8 months later: a 50° colour photograph of the retina posterior pole (retinography), a macula-centred high-definition OCT (scan radial 12 mm) and an automatically fovea-centred OCT-A (4.5×4.5 mm) were performed. All three imaging techniques were obtained with the DRI OCT Triton Swept Source equipment (Topcon Corporation, Tokyo, Japan).

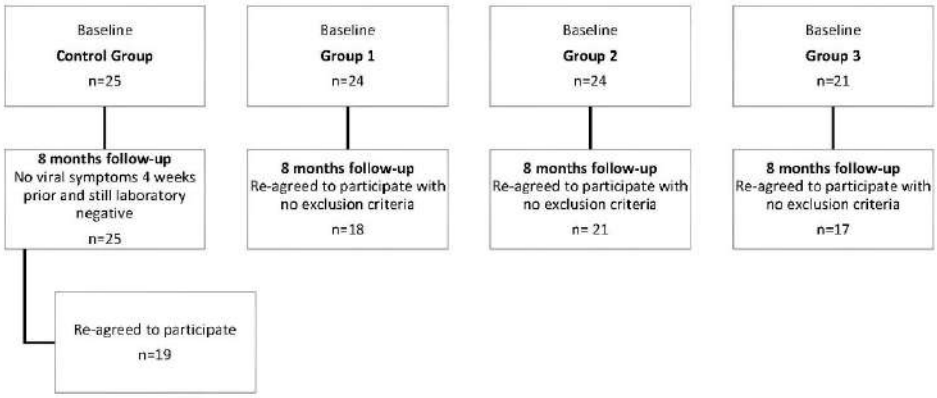


Figure 1 Flow chart of patient selection. Baseline accounts for 3-month analysis. The same participants of each group were approached and asked to take part in the follow-up analysis at 8 months. Subjects were once again assessed for inclusion and exclusion criteria.

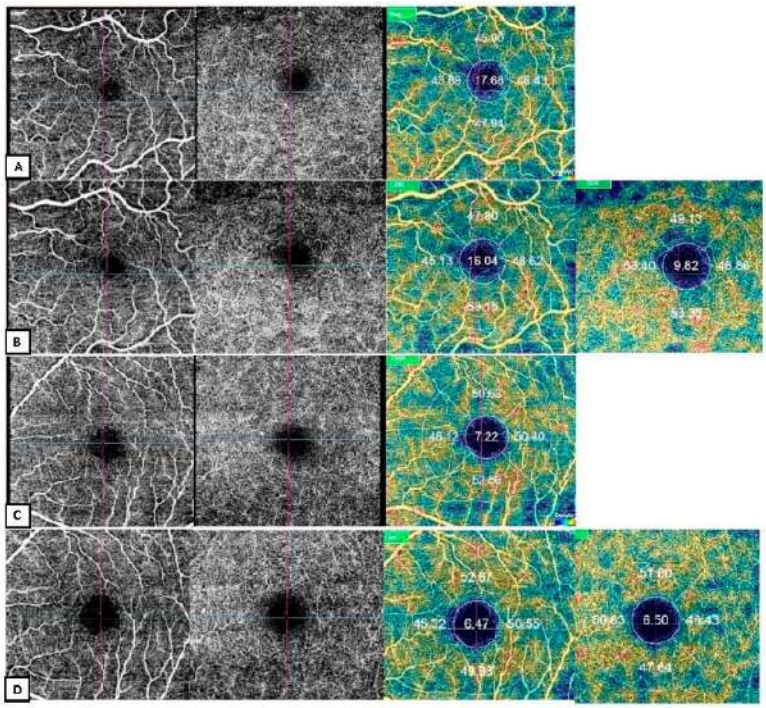


Figure 2 Example of the angiography by optical coherence tomography (OCT-A). The first images on the left correspond to superficial plexus, the second to deep plexus, the third to automated vessel density (VD) analysis of the superficial plexus and the fourth (if present) to the analysis of the VD in deep plexus. (A) Images correspond to the baseline data of a control group patient. (B) Images correspond to 8-month data of the same control group subject. (C) Images were obtained from a group three patient at baseline. (D) Images correspond to the same subject as in (C) but after 8 months. Note how in a macroscopic scale the tendency to a larger FAZ area and lower vascular density in the central area can be observed. No macroscopic abnormalities in the morphology of FAZ are noted: no notches, avascular areas or vessel irregularities. FAZ, foveal avascular zone.

Retinography images and radial OCT sections were analysed by two different ophthalmologists (SBG and DA). A third ophthalmologist carried out a double evaluation of the images (MAZ). A search for any abnormality such as haemorrhages, cotton wool spots or OCT layer hyperreflectivities was carried out.

In contrast to our previous study, we gathered data from automatic segmentation from both superficial capillary plexus and deep capillary plexus from the macular region. Superficial layer VD was automatically segmented: from the internal limiting membrane (ILM) at a depth of 2.6 µm to the inner plexiform layer (IPL)/inner nuclear layer (INL) at a depth of 15.6 µm. IPL/INL at 15.6 µm to INL/outer plexiform layer at 70.2 µm automatically encompasses the deep layer VD. The specified software calculated VD, and data were collected from superior, inferior, nasal, temporal and central areas. All captures with a signal strength index of less than 40, incorrect segmentation or motion artefacts were excluded. Figure 2 shows an example of the images obtained.

The area of the foveal avascular zone (FAZ) in the superficial capillary plexus was analysed by means of manual delineation of randomly numbered images with ImageJ Software (National Institutes of Health) by three different blinded observers (SBG, DAR and MAZ). The surface area was measured in square pixels and was converted to square millimetres using the formula given by the software (scale setting): delineated area (mm^2)=delineated area ($pixel^2$)/total surface area ($pixel^2$) * total surface area (mm^2). No editing of the image was performed to increase contrast or change colours prior to manual delineation.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using SPSS (V.23.0) software. Normal distribution of the variables was checked using the Kolmogorov-Smirnov test. In the first part of the study, cross-sectional intergroup differences were analysed (8-month time). Quantitative variables that followed a normal distribution were studied with an analysis of variance (ANOVA) using Bonferroni correction. A Kruskal-Wallis test was performed to compare quantitative variables not normally distributed. Qualitative variables were examined using the χ^2 test.

Table 1 Demographic features of study population

		Control group	Group 1: mild disease	Group 2: moderate disease	Group 3: severe disease	Significance among all groups
Months from PCR (mean, SD)		–	–	8.20 (0.62)	8.74 (0.68)	
Gender (n, %)	Male	8 (42.10)	6 (33.33)	9 (42.85)	9 (52.94)	0.711*
	Female	11 (57.89)	12 (66.66)	12 (57.14)	8 (47.05)	
Age (years, SD)		38, 79 (8, 15)	40, 61 (11, 04)	43, 29 (6, 49)	46, 00 (5, 75)	0.078†
Race (n)	Caucasian	19	17	15	9	**0.008***
	Latin	0	1	6	7	
	Other	0	0	0	1	
Diabetes (n)	No	19	18	20	15	0.236*
	Yes	0	0	1	2	
Smoker (n)	No	16	15	21	15	0.292*
	Yes	3	3	0	2	

Significant values shown in bold.
*X^2 test.
†ANOVA test.
ANOVA, analysis of variance.

In reference to the prospective part of the study (intragroup differences), a paired t-test was used for normally distributed data in order to compare baseline and 8-month changes in the VD mean for superficial plexus as well as for the FAZ mean area. A Wilcoxon signed ranks sum test was used for not normally distributed VD means.

Significance was fixed at p values below 0.05.

RESULTS

Study population

We included a total of 75 patients from our previous study[9] who reagreed to participate with no exclusion criteria (figure 1). Control group was formed by 19 subjects. Among patients with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection, group 1 included 18 participants, group 2 included 21 and group 3 included 17. Mean duration from PCR-confirmed diagnosis to ophthalmological examination time was 8.74 months (SD 0.68) for group 2 and 8.20 months (SD 0.62) for group 3. As in the previous study, there were no statistically significant differences between groups in terms of age, gender, smoking or diabetes record (table 1). The mean age was lower in the control group and group 1 than in groups 2 and 3, with no statistical significance. In reference to ethnicity, there was statistical difference: a predominance of Caucasian origin in all groups with a statistically significant greater presence of Latin origin in groups 2 and 3 (p=0.008).

Fundoscopic and structural OCT findings

No new abnormalities in previously healthy colour fundus images and structural OCT sections were found. No abnormalities attributable to SARS-CoV-2 were found. In line with our previous findings, there were two subjects who presented asymptomatic small pigment epithelial detachments and one group 2 patient with a small haemorrhage suggestive of a Valsalva manoeuvre (size of approximately 100 µm, round and well-circumscribed under ILM in the premacular area).

OCT-A and VD

Cross-sectional results

At macroscopic scale, no abnormalities such as neovascularisation, ischaemic areas, vascular dilatation or abnormal organisation of vessels were detected after careful consideration of OCT-A images by three observers (SBG, DA and MAZ) either in control or in case groups. The FAZ tended to have a larger area in severe cases, with a statistically significant difference in means among groups (p<0.001, (online supplemental figure 2) and table 2): control group versus group 2 (p<0.001); control group versus group 3 (p=0.001); group 1 versus group 2 (p<0.001); and group 1 versus group 3 (p<0.001). The mean superficial and deep VDs in control group for the central area were 16.14 and 15.49 (SD 3.40; 4.61), in group 1, they were 17.41 and 15.78 (SD 4.07; 4.06), in group 2, they were 13.41 and 12.43 (SD 4.79; 5.38) and in group 3, they were 12.96 and 11.38 (SD 3.56; 3.93) (online supplemental figures 2 and 3) and table 2). These data were non-normally distributed. After analysis with Kruskal-Wallis, a statistically significant difference of central VD means among groups was found: p=0.002 for both global comparison of all groups for superficial and deep. Superficial and deep central VD means in control group and in group 1 were higher than in group 2 and group 3. In a Mann-Whitney U test (the first p value represents superficial and the second represents deep), statistical differences were found in the control group versus group 2 (p=0.012; p=0.024), and the control group versus group 3 (p=0.014; p=0.010), group 1 versus group 2 (p=0.004; p=0.003) and group 1 versus group 3 (p=0.005; p=0.003).

Table 2 Vascular density values at the 8-month follow-up and other characteristics within groups

		Control group	Group 1: mild disease	Group 2: moderate disease	Group 3: severe disease	Significance among all groups
Superficial central VD	Mean	16.1432	17.416	13.411	12.968	**0.002***
	SD	3.405	4.079	4.793	3.566	
Superficial inferior VD	Mean	50.368	50.125	52.980	50.464	0.761*
	SD	2.712	3.321	8.293	2.483	
Superficial superior VD	Mean	49.995	49.013	50.128	50.141	0.391†
	SD	2.406	2.053	2.376	2.666	
Superficial nasal VD	Mean	43.373	42.716	44.530	44.340	0.163†
	SD	2.302	3.496	2.694	2.485	
Superficial temporal VD	Mean	47.711	46.015	49.925	48.271	**<0.001†**
	SD	2.369	3.461	2.602	2.307	
Image quality	Mean	63.42	63.44	61.950	64.120	0.452†
	SD	3.220	5.044	5.162	3.100	
FAZ area	Mean	0.223	0.210	0.411	0.343	**<0.001†**
	SD	0.150	0.017	0.022	0.026	
Deep central VD	Mean	15.495	15.762	12.430	11.388	**0.002***
	SD	4.613	4.068	5.382	3.933	
Deep inferior VD	Mean	51.507	53.223	53.324	52.645	0.7347*
	SD	5.327	3.974	3.809	3.218	
Deep superior VD	Mean	51.066	50.996	52.466	51.361	0.484†
	SD	3.606	3.167	3.451	3.175	
Deep nasal VD	Mean	49.497	46.551	50.707	49.419	**0.010†**
	SD	3.693	3.021	4.499	3.650	
Deep temporal VD	Mean	48.034	48.430	50.092	47.708	**0.043***
	SD	2.898	2.893	3.027	2.769	

Significant values shown in bold.
*H Kruskal-Wallis.
†ANOVA test.
ANOVA, analysis of variance; FAZ, foveal avascular zone; VD, vessel density.

Normally distributed data of superficial temporal and nasal deep VD were analysed with ANOVA, and a statistical difference was noted (p=0.002; p=0.010). After Bonferroni correction for multiple measurements, a statistical difference was found only between group 1 and group 2 (p<0.001, p=0.006) with no differences among other groups. Non-normally distributed data from temporal deep VD was analysed using Kruskal-Wallis, with a significant statistical difference in means among groups (p=0.043) which, after a Mann Whitney U test, was found to be between the control group and group 2 (p=0.021) and between group 2 and group 3 (p=0.011).

No other statistically significant results were found. Table 2 shows a summary of all comparisons.

VD differences between male and female within every group were also examined (online supplemental table) as general tendency to lower values in female data were found. The following statistically significant different means were found: superficial central VD at baseline for group 1 was higher in women than men (p=0.034); superficial inferior VD at baseline for group 2 was higher in men than women (p=0.009); deep central VD for group 2 at 8-month follow-up was higher in men than women (p=0.039) also for group 3 at 8-month follow-up (p=0.031); and deep inferior VD for group 2 at 8-month follow-up was higher in women group than men group (p=0.018).

Prospective results

A paired t-test was performed for normally distributed data and a Wilcoxon signed rank test for non-normally distributed variables (table 3). Comparison of the VD means of every area of the superficial plexus between baseline and its value at the 8month follow-up was made. FAZ areas are also included in the prospective analysis. No statistically significant differences were found (online supplemental figure 2).

DISCUSSION

The main finding of this study is lower central retinal VD in superficial and deep plexuses in patients who have suffered from moderate and severe COVID-19 pneumonia. This is the first study to provide evidence of the persistence of these findings after 8-month follow-up.

Table 3 Prospective analysis

SCP VD	Global	Group 1	Group 2	Group 3	Control group
Central	p=0.143*	p=0.102*	p=0.835*	p=0.647*	p=0.147*
Inferior	p=0.065*	p=0.215*	p=0.073*	p=0.369*	p=0.094*
Superior	p= 0.105†	p=0.756*	p=0.230 *	p=0.616*	p=0.313 *
Nasal	p=0.714*	p=0.679*	p=0.375*	p=0.557*	p=0.117*
Temporal	p=0.612 *	p=0.619 *	p=0.58 *	p=0.811*	p=0.108*
FAZ area	p=0.181†	p=0.330†	p=0.141†	p=0.453†	p=0.082†

Significant values shown in bold.
Superficial plexus VD mean comparison at baseline and at 8-month examination.
*Wilcoxon signed rank test.
†Paired t-test.
FAZ, foveal avascular zone; SCP, superficial capillary plexus; VD, vessel density.

SARS-CoV-2 virus is suspected to cause a type of microvascular angiopathy[14] consisting of acute endothelial dysfunction mediated by proinflammatory cytokines such as tumour necrosis factor alpha or IL-6 that lead to an enhanced risk of microvascular thrombosis and eventually multiorgan dysfunction. Direct injury as a result of the infection via this process has been reported in postmortem studies in organs such as brain,[15] liver[16] and kidney.[17] This increase in micro thrombosis could lead to diminished vascular density in affected organs such as the vascular plexuses of the retina.

The severe and moderate infection groups in our study showed signs of respiratory distress and increased IL-6 in the latter group, which are believed to be signs of an underlying thrombotic microangiopathy.[18] IL-6 increase is a sign of inflammation in SARS-CoV-2 disease linked to an unfavourable outcome of the disease and the best predictor for the requirement of invasive mechanical ventilation.[19] IL-6 correlates with macrophage activation in severe COVID-19 cases[20] and seems to have a role in microvascular angiopathy by inhibition of ADMTS-13 activity, raising levels of fibrinogen, plasminogen inhibitor-1 and C reactive protein.[21 22] In our first study,[10] we demonstrated the existence of a reduction in the central VD of the superficial plexus via OCT-A and a tendency to a larger FAZ area. Other groups have ratified our findings with similar results.[2 23 24] There may be three reasons for this: one, ACE2 expressed in the endothelium of the retina[20] with direct effect; two, induced-endothelitis; and three, metabolic changes by serum IL-6 leading to disturbances of the blood retina barrier and dysfunction of vessels.[25]

In the present study, reduction of vascular density remains stable after 8 months (online supplemental figure 2). This is the most important finding of the present study, that is, the persistence of significant lower VDs in severe and moderate disease. A comparison with the control group to evaluate the impact of ageing was undertaken, which proves the consistency of the persistently reduced central SCP, DCP and enlarged FAZ area, and this correlates with the results of other groups at 6 months.[23] As a tendency to a negative correlation was found regarding sex and central VD in our previous study,[10] we decided to examine possible differences in VD data between male and female groups at baseline and at follow-up (online supplemental material). Guemes-Villahoz *et al*[23] suggested that women could undergo either slower recovery or progressive worsening of retinal VD and questioned whether this might have any relationship to major persistence of neurological symptoms after the illness in the female population. In our study, VDs of all areas in the female group, although generally lower than in the male group, were mostly no different. We found no other reports in the literature with evidence supporting the possibility that women would be at higher risk of COVID-19 vascular-related events. Further research in this direction is planned.

The long-term consequences of COVID-19 in the retina have not been examined. As far as we know, no clinical or fundoscopic macroscopic abnormalities were discovered at follow-up, such as we could expect as a consequence of the reduced VD. We found only one isolated case report of persistent cotton wool spots on fundus examination at 6 months.[23] For the moment, none of our patients presented any clinical consequences of the microvascular abnormalities evidenced herein. Some studies have tried to relate retinal fibre nerve layer and ganglion cell layer thicknesses with decreases in VD, but no structural correlations have been found.[24] It is still not known whether vasculature structures of the retinal plexuses are more vulnerable to thrombotic events than other body plexuses, as these abnormalities seem to remain clinically silent. We believe long-term follow-up is needed to assess future possible ischaemic/neovascular diseases of the retina, especially in patients who have suffered from severe COVID-19.

If persistent microvascular changes are found in the retina beyond 8 months, it may be presumed that other organs and their plexuses may have sustained long-term damage. Current studies focus their attention on 'persistent COVID-19'[26] and reveal frequencies of up to 72% of concentration ability difficulties, 68% of insomnia, 64% of memory impairment, 75% of fatigue, 55% of tachycardia and 63% of nonproductive cough,

among other symptoms. There is currently a controversy regarding the relationship between psychological and functional impairment, systemic consequences and initial severity. Some studies, such as that of Huang *et al*,[27] did find an association between acute COVID-19 disease severity, persistence of symptoms such as fatigue, weakness, anxiety, impaired pulmonary diffusion capacities and chest imaging abnormalities. Further studies are needed to assess whether recovery symptoms in critical illness patients are comparable with those typically seen in acute respiratory distress syndrome survivors,[28] or whether persistent poor health after COVID-19 is finally not associated with respiratory complications.[29] How perfusion reduction during acute SARS-CoV-2 infection leads to long-term sequelae of the virus in several organs and how this correlates to later symptoms is currently being examined in research papers: pancreatic islets,[30] heart,[31] brain[32] or kidney.[26]

If this were the case, VD of the retina measured by OCT-A would be of use as a marker of widespread organ injury in post-COVID-19 patients. Hekimsoy *et al*[33] have already established a negative correlation between retinal perfusion and idiopathic pulmonary arterial hypertension, a pathology that has been studied in recent times in the context of COVID-19[34] and that results in a higher fatality rate when SARS-CoV-2 infection occurs. Further studies to correlate systemic signs/symptoms are necessary to elucidate this question. Interestingly, perfusion studies with tomography angiography in the lungs and kidneys of COVID-19 patients showed perfusion deficits suggestive of microvascular occlusion with no detectable major dysfunction, similar to our findings.[35]

We acknowledge a series of limitations in our study. First, the small sample size of the case cohort, as a consequence of the prospective nature of the study, with reduced number of patients willing to attend a second ophthalmic examination, lower surveillance rates in moderate and severe disease groups, and the study of only one eye per patient. Second, the absence of comorbidities in our population might need to be taken into account when assessing comparability to our studies. Cotton wool spots and retinal haemorrhages are reported in patients with COVID-19 who commonly also have other pre-existing comorbid conditions.[36] We believe that the lack of comorbidities might be beneficial for measuring the real impact of the SARS-CoV-2 infection on VD, since the presence of multiple pathologies might affect its values. Third, no retinal periphery studies have been performed, and we lack any information regarding functional translation of our changes, for example, via electroretinography or microperimetry, which would be of use to state with confidence that there are no clinical consequences. Fourth, a longer follow-up than 8 months should be carried out. Prospective studies on larger cohorts will be needed for follow-up of retinal microvascular abnormalities in post-COVID-19 patients, especially in moderate and severe cases, to detect progression, reversibility or vascular consequences.

In conclusion, this is the first study to find persistently reduced VDs in the retina 8 months after COVID-19 infection. We demonstrate persistent tendency towards a larger FAZ area and reduction in the central area of the superficial and deep plexuses, with correlation to disease severity. Therefore, we believe close follow-up of patients with severe disease should be performed, in order to detect possible long-term systemic and ophthalmological disease sequelae.

Acknowledgements We would like to acknowledge the contribution of the Surgery Department of the Autonomous University of Barcelona (UAB – Departament de Cirurgia i Ciències Morfològiques).

Contributors MAZ and SBG made a substantial contribution to the present work in the design of the study, acquisition, analysis and interpretation of data, manuscript drafting and approval of the version of the manuscript to be published. AS-M and SO-R contributed to acquisition of data, conception and design of the study, critical revision for important intellectual content and approval of the version to be published. DA, BA, XG-S and FT participated in the data acquisition, critical revision for important intellectual content and approval of the present version of the manuscript. JG-A's contribution to the present work included conception and design of the study, critical revision for important intellectual content and approval of the present document. SBG is the guarantor and accepts full responsibility for the work, conduct of the study, had access to the data, and controlled the decision to publish. All the authors hereby mentioned meet all four ICMJE criteria for authorship and are accountable for all aspects of the work regarding its accuracy and integrity.

Funding The authors have not declared a specific grant for this research from any funding agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Competing interests None declared.

Patient consent for publication Consent obtained directly from patient(s)

Ethics approval The study was approved by the Vall d'Hebron University Hospital ethical committee under the number PR (AG) 337/2020, and all enrolled subjects signed an informed consent statement. Participants gave informed consent to participate in the study before taking part.

Provenance and peer review Not commissioned; externally peer reviewed.

Data availability statement Data are available on reasonable request. All data relevant to the study are included in the article or uploaded as supplementary information. All data relevant to the study are included in the article or uploaded as supplementary information, but additional data are available on reasonable request.

Supplemental material This content has been supplied by the author(s). It has not been vetted by BMJ Publishing Group Limited (BMJ) and may not have been peer-reviewed. Any opinions or recommendations discussed are solely those of the author(s) and are not endorsed by BMJ. BMJ disclaims all liability and responsibility arising from any reliance placed on the content. Where the content includes any translated material, BMJ does not warrant the accuracy and reliability of the translations (including but not limited to local regulations, clinical guidelines, terminology, drug names and drug dosages), and is not responsible for any error and/or omissions arising from translation and adaptation or otherwise.

Open access This is an open access article distributed in accordance with the Creative Commons Attribution Non Commercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited, appropriate credit is given, any changes made indicated, and the use is non-commercial. See: http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/.

ORCID iD

Sandra Banderas García http://orcid.org/0000-0002-3641-3806

REFERENCES

1 Magro C, Mulvey JJ, Berlin D, *et al*. Complement associated microvascular injury and thrombosis in the pathogenesis of severe COVID-19 infection: a report of five cases. *Transl Res* 2020;220:1–13.

2 González-Zamora J, Bilbao-Malavé V, Gándara E, *et al*. Retinal microvascular impairment in COVID-19 bilateral pneumonia assessed by optical coherence tomography angiography. *Biomedicines* 2021;9:247.
3 Tang N, Li D, Wang X, *et al*. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020;18:844–7.
4 Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, *et al*. Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr Physiol* 2014;4:1201–28.
5 Shagdarsuren E, Wellner M, Braesen J-H, *et al*. Complement activation in angiotensin II-induced organ damage. *Circ Res* 2005;97:716–24.
6 Forrester SJ, Booz GW, Sigmund CD, *et al*. Angiotensin II signal transduction: an update on mechanisms of physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2018;98:1627–738.
7 Bekassy Z, Lopatko I, Bader M. Crosstalk between the renin–angiotensin, complement and kallikrein–kinin systems in inflammation. *Nat Rev Immunol* 2021:1–18.
8 Zhou F, Yu T, Du R, *et al*. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020;395:1054–62.
9 Savastano A, Crincoli E, Savastano MC, *et al*. Peripapillary retinal vascular involvement in early Post-COVID-19 patients. *J Clin Med* 2020;9:2895.
10 Zapata Miguel Ángel, Banderas García S, Sánchez-Moltalvá A, *et al*. Retinal microvascular abnormalities in patients after COVID-19 depending on disease severity. *Br J Ophthalmol* 2020;317953. doi:10.1136/bjophthalmol-2020-317953. [Epub ahead of print: 16 Dec 2020].
11 Invernizzi A, Torre A, Parrulli S, *et al*. Retinal findings in patients with COVID-19: results from the SERPICO-19 study. *EClinicalMedicine* 2020;27:100550.
12 Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, *et al*. Optical coherence tomography angiography. *Prog Retin Eye Res* 2018;64:1–55.
13 Moussa M, Leila M, Khalid H. Imaging choroidal neovascular membrane using en face swept-source optical coherence tomography angiography. *Clin Ophthalmol* 2017;11:1859–69.
14 Iba T, Connors JM, Levy JH. The coagulopathy, endotheliopathy, and vasculitis of COVID-19. *Inflamm Res* 2020;69:1181–9.
15 Younger DS. Postmortem neuropathology in COVID-19. *Brain Pathol* 2021;31:385–6.
16 Zhao CL, Rapkiewicz A, Maghsoodi-Deerwester M, *et al*. Pathological findings in the postmortem liver of patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Hum Pathol* 2021;109:59–68.
17 Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, *et al*. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet* 2020;395:1417–8.
18 Dolhnikoff M, Duarte-Neto AN, de Almeida Monteiro RA, *et al*. Pathological evidence of pulmonary thrombotic phenomena in severe COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020;18:1517–9.
19 Aziz M, Fatima R, Assaly R. Elevated interleukin-6 and severe COVID-19: a meta-analysis. *J Med Virol* 2020;92:2283–5.
20 McGonagle D, Sharif K, O'Regan A, *et al*. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. *Autoimmun Rev* 2020;19:102537.
21 Libby P, Simon DI. Inflammation and thrombosis: the clot thickens. *Circulation* 2001;103:1718–20.
22 Lee DD, Schwarz MA. Cell-Cell communication breakdown and endothelial dysfunction. *Crit Care Clin* 2020;36:189–200.
23 Guemes-Villahoz N, Burgos-Blasco B, Vidal-Villegas B, *et al*. Reduced retinal vessel density in COVID-19 patients and elevated D-dimer levels during the acute phase of the infection. *Med Clin* 2021;156:541–6.
24 Cennamo G, Reibaldi M, Montorio D, *et al*. Optical coherence tomography angiography features in Post-COVID-19 pneumonia patients: a pilot study. *Am J Ophthalmol* 2021;227:182–90.
25 Teuwen L-A, Geldhof V, Pasut A, *et al*. COVID-19: the vasculature unleashed. *Nat Rev Immunol* 2020;20:389–91.
26 Rando HM, Bennett TD, Byrd JB, *et al*. Challenges in defining long COVID: striking differences across literature, electronic health records, and patient-reported information. *medRxiv* 2021. doi:10.1101/2021.03.20.21253896. [Epub ahead of print: 26 Mar 2021].
27 Huang C, Huang L, Wang Y, *et al*. 6-Month consequences of COVID-19 in patients discharged from Hospital: a cohort study. *Lancet* 2021;397:220–32.
28 Parker AJ, Humbir A, Tiwary P, *et al*. Recovery after critical illness in COVID-19 ICU survivors. *Br J Anaesth* 2021;126:e217–9.
29 Townsend L, Dowds J, O'Brien K, *et al*. Persistent poor health after COVID-19 is not associated with respiratory complications or initial disease severity. *Ann Am Thorac Soc* 2021;18:997–1003.
30 Hayden MR. An immediate and long-term complication of COVID-19 may be type 2 diabetes mellitus: the central role of β-cell dysfunction, apoptosis and exploration of possible mechanisms. *Cells* 2020;9:2475.
31 Liu J, Deswal A, Khalid U. COVID-19 myocarditis and long-term heart failure sequelae. *Curr Opin Cardiol* 2021;36:234–40.
32 Guedj E, Campion JY, Dudouet P, *et al*. ^{18}F-FDG brain PET hypometabolism in patients with long COVID. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2021;48:2823–33.
33 Hekimsoy V, Kılınç Hekimsoy H, Şekeroğlu MA, *et al*. The relationship between retinal microcirculation and right heart catheterization and echocardiography findings in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Microcirculation* 2021;28:e12704.
34 Sulica R, Cefali F, Motschwiller C, *et al*. COVID-19 in pulmonary artery hypertension (PAH) patients: observations from a large PAH center in New York City. *Diagnostics* 2021;11:128.
35 Idilman IS, Telli Dizman G, Ardali Duzgun S, *et al*. Lung and kidney perfusion deficits diagnosed by dual-energy computed tomography in patients with COVID-19-related systemic microangiopathy. *Eur Radiol* 2021;31:1090–9.
36 Sim R, Cheung G, Ting D. Retinal microvascular signs in COVID-19. *Br J Ophthalmol* 2021.