

Metodología para cuantificar diferencias entre las respuestas pupilares evocadas por estímulos lumínicos cromáticos.

E. Villarreal-Calva¹, E. Suaste-Gomez²

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, DF, México. Estudiante de Doctorado.

² Departamento de Ingeniería Eléctrica, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, DF, México. Investigador Titular.

Resumen— La finalidad de esta investigación es el cuantificar la respuesta pupilar a un estímulo luminoso para evaluar la existencia o no de diferencias entre las respuestas pupilares a diferentes cromaticidades. A partir de los resultados presentados podemos afirmar que la contracción pupilar debida al reflejo a la luz es más rápida al azul, siguiendo en rapidez la contracción al rojo, posteriormente la respuesta al verde y al amarillo. Las diferencias en las contracciones pupilares podrían ser de utilidad para el diagnostico de algún padecimiento sistémico, de ahí la importancia de continuar con el estudio de las respuestas pupilares a diferentes estímulos evocados.

Palabras clave— Pupila, respuestas pupilares, estímulos cromáticos, tiempo de latencia, velocidad de contracción pupilar, reflejo pupilar a la luz, pupilograma y perimetria.

I. INTRODUCCIÓN

La técnica de perimetría consiste en colocar el ojo en el centro de curvatura de un instrumento hemisférico o en forma de arco, y someter al ojo a estímulos de prueba (luminosos u opacos) de un tamaño angular y distancia constantes.

El campo visual se ha comparado con una isla de visión en un mar de ceguera por Traquair [1]. Esta isla de la visión se representa como una estructura tridimensional. Las coordenadas x-y representan la ubicación de los puntos en el campo visual. La fovea es considerada el origen (0,0) en las coordenadas x-y. La ubicación de todos los puntos del campo visual se describen a lo largo del eje x-y, con respecto a la fijación central. En una perimetría, se mide la sensibilidad diferencial de la luz en diferentes partes de la retina para detectar desviaciones en los valores de sensibilidad normal [2]. La evaluación de los campos visuales es un recurso muy usado en oftalmología y en neurología, tanto como método de diagnostico focal o como método de seguimiento en enfermedades oculares o de las vías visuales [3]. La pupila juega dos roles importantes en sus condiciones normales de trabajo: controla la iluminación retiniana y determina la calidad de imagen retiniana. El tamaño de la pupila disminuye con la edad y con ciertos niveles de luminancia [4]. El diámetro de la pupila puede variar entre 2 mm y 8 mm en función del nivel de luminancia [5]. Esta reacción es conocida como el reflejo pupilar a la luz [6].

La pupiloperimetría (PLP) representa un método objetivo para evaluar los campos visuales examinando la

respuesta pupilar a un estímulo luminoso focal proyectado en la retina. Los defectos en el campo visual determinados por medio de la PLP son reconocidos por la ausencia o disminución de la respuesta pupilar a la luz en dichas áreas [7]. En la PLP la amplitud del reflejo pupilar a la luz, debido a un estímulo luminoso pequeño, es medido gracias a la adquisición de imágenes de la pupila por medio de una videocámara, para después, hacer un análisis computarizado y así obtener los cambios de área pupilar [6][7]. Puesto que el campo visual central (30°) posee una sensibilidad pupilomotora alta [8] no representa problemas para ser cuantificada por medio de la PLP.

La perimetría objetiva elimina la posibilidad de engaño durante la prueba y permite evaluar a pacientes que presentan dificultades cooperando con la perimetría convencional [9]. La perimetría cromática es la determinación del umbral diferencial a lo largo de la retina mediante estímulos de color, es decir, permite el estudio de la visión cromática central y periférica del campo visual mediante estímulos coloreados. Se acepta que la visión tricromática es procesada fundamentalmente por los 30°-60° centrales del campo visual. Es por tanto una función importante, aunque no exclusiva de la mácula.

La perimetría cromática cuenta con aplicaciones clínicas interesantes, debido a las variaciones en los umbrales cromáticos que producen algunas patologías como la degeneración macular o las afecciones del nervio óptico. Ello hace que la perimetría cromática sea más sensible que la convencional para el diagnostico y la detección de determinadas afecciones oculares [5].

II. METODOLOGÍA

A. Instrumentación

Se utiliza la técnica de video-oculografía para monitorear, detectar y calcular el área pupilar. El perímetro automatizado utilizado consiste en: 1) Un estímulo luminoso cromático programable en posición, color (rojo[$\lambda=625\text{nm}$], verde[$\lambda=525\text{nm}$] y azul[$\lambda=475\text{nm}$]) y luminancia; 2) Iluminación de fondo en color blanco, programable en luminancia; 3) Videocámara a una velocidad de adquisición de imágenes de 30 cuadros por segundo; 4) Interfaz de usuario para programar el color, luminancia, posición y duración del estímulo; 5) Software que permite el procesamiento automático de imágenes para obtener el área

pupilar por cuadro; 6) Código para calcular automáticamente el centroide de la pupila; 7) Código que detecte automáticamente la existencia o no de respuesta pupilar al estímulo luminoso, midiendo parámetros como tiempo de latencia, amplitud de respuesta, velocidad y aceleración de la contracción pupilar evocada. El diseño del campímetro se encuentra detallado en trabajos previos [10] [11] [12].

B. Procedimiento de Prueba

Se coloca en el sujeto de estudio un parche para ocluir el ojo contrario al que será examinado. Se sitúa al sujeto de estudio en una silla confrontando la estructura del perímetro. Se le pregunta al sujeto de estudio si puede distinguir un punto marcado en el perímetro (lugar del punto ciego), en caso de que el sujeto de prueba pueda distinguir el punto es necesario buscar la posición en la cual deje de percibirlo, ya que al no ver ese punto nos aseguramos del correcto posicionamiento del sujeto. Se espera cinco minutos para permitir que la pupila se adapte a la luz de fondo del perímetro. Para esta serie de pruebas se evaluó únicamente el punto central del perímetro, emitiendo un estímulo con duración de 100 ms, con luminancia de 20 cd/cm² sobre un fondo de luz blanca de 10 cd/cm². El equipo envía el estímulo y adquiere la cantidad de imágenes requeridas, una vez que se termina la adquisición, el software las procesa y despliega un pupilograma en la pantalla, indicando como respuesta positiva si se alcanza una contracción mayor o igual al 2% del diámetro pupilar inicial. El procedimiento se repite hasta completar la ronda de 4 estímulos: rojo, verde, azul y amarillo (30% Rojo y 70% Verde). Una vez que se toman los registros por un color se deja descansar cinco minutos al sujeto antes de continuar con el siguiente tono. Una vez que se terminó la ronda de estímulos para el ojo derecho, se repite el procedimiento para evaluar el ojo izquierdo.

C. Sujetos

Se realizaron pruebas en doce sujetos, quienes no reportaron padecimientos sistémicos, todos en un rango de edad de 24 a 31 años (27.6±3 años [Media±Desviación Estandar]), 9 hombres y 3 mujeres (veinticuatro ojos). Las pruebas se llevaron de acuerdo a la Declaración de Helsinki, se obtuvo aprobación por escrito de cada uno de los sujetos de estudio, previo a las pruebas y posterior a una explicación detallada del procedimiento.

III. RESULTADOS

Los resultados presentados son: tiempo de latencia a la contracción, tiempos previos a la contracción, velocidades de las tres fases de contracción, así como los porcentajes de contracción obtenidos tomando el diámetro mínimo de la respuesta y como punto máximo el diámetro previo a la contracción. Adicionalmente se calculó el radio de curvatura

para cada uno de los pupilogramas -a partir de la velocidad y aceleración Instantáneas- y con dicho valor se calculó la curvatura de los trazos, entendiendo a la curvatura como la medida de cuán rápidamente se encorva una curva [13].

El método que se ha generalizado para la obtención del tiempo de latencia (TL) consiste en la obtención de la primera y segunda derivada del registro pupilográfico, con lo cual obtenemos la velocidad y aceleración instantánea de la respuesta pupilar a los estímulos emitidos [14][15][16][17]. Estudios han mostrado que el tiempo de latencia de la contracción pupilar (tiempo en el cual se presenta la máxima aceleración absoluta) cae en una ventana con rango de 200 a 450 ms posteriores a la emisión de un estímulo con duración menor a 200 ms. Estos estudios han evaluado la contracción pupilar, considerando que aquella que excede una velocidad máxima o aceleración máxima instantánea a los 0.1 mm/s o 0.1 mm/s², es una contracción pupilar debida a una respuesta del sistema responsable del reflejo pupilar a la luz, de lo contrario si no se detecta movimiento pupilar que cumpla con dichas características (tiempo y velocidad o aceleración) entonces la respuesta pupilar es considerada como “nula” [15].

A pesar de que el TL se ha convertido en un parámetro popular de estudio y es posible encontrar literatura respecto a dicho tema, no se puede decir lo mismo sobre los otros parámetros calculados, si bien se han descrito previamente [18], creemos que el tiempo invertido para la obtención de dichos puntos es lo que ha mermado el interés en su estudio. Se propone un método para segmentar los pupilogramas obtenidos, encontrando el tiempo inicial de 3 fases del periodo de contracción pupilar debido al reflejo pupilar a la luz. Sabiendo que el TL es tomando a partir del punto mínimo en la curva de la aceleración instantánea, decidimos tomar los siguientes tres puntos mínimos locales de la curva de la aceleración instantánea, ya que dichos puntos son puntos críticos de la curva. Los dos primeros puntos encontrados son los candidatos a ser los tiempos iniciales de la segunda y tercera fases de contracción y el tercer punto será candidato a ser el tiempo final de la tercera fase. Para tal fin se implementó un código en Matlab® con el fin de encontrar dichos puntos. Mostramos la figura 1 en la cual presentamos marcados con un asterisco (*) los puntos encontrados. Con líneas rojas se destacan los tiempos en que se encontraron los puntos mínimos locales, y en azul el tiempo de latencia (LT).

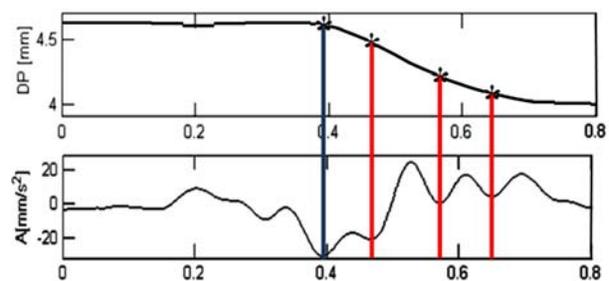


Fig. 1 Gráfica que muestra una contracción pupilar y su aceleración instantánea.

A pesar de que el tiempo de latencia es uno de los parámetros más estudiados de la respuesta pupilar a la luz los autores aún no llegan a un acuerdo sobre los principios que debe cumplirse para tomar una medición del TL óptima. La determinación del TL no es simple, como podemos observar en la figura 2 el criterio de la segunda derivada nos entrega una aproximación del tiempo en el cual ya decayó el diámetro pupilar, sin embargo notamos que el punto de máxima aceleración absoluta es dependiente del tipo de curva descrita por el decaimiento en el diámetro pupilar.

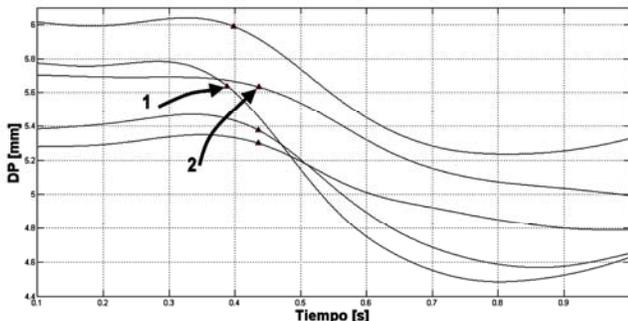


Fig. 2 Pupilograma mostrando el TL obtenido a partir del criterio de la segunda derivada.

En la gráfica de la figura 2 observamos que los dos pupilogramas marcados con flechas 1 y 2, muestran el TL determinado por medio del criterio de la segunda derivada, ambos pupilogramas presentan decaimiento en los diámetros pupilares típicos, sin embargo el punto determinado como TL para el caso 1 presenta un decaimiento de aproximadamente el doble del presentado en el caso marcado como 2.

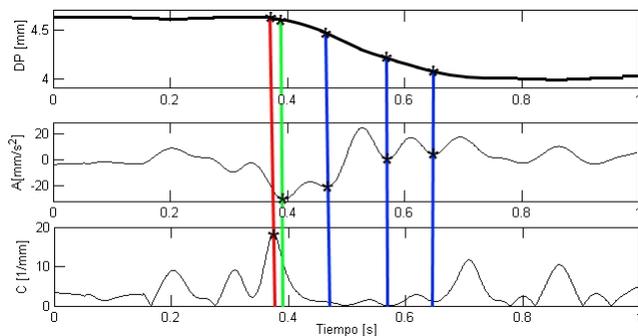


Fig. 3 Gráfica en la que observamos los puntos encontrados para realizar el análisis de los pupilogramas. En línea roja destacamos el TPC, en línea verde el TL y en línea azul los tiempos finales (TFF) de las tres fases de la contracción pupilar.

En la figura 3 se muestra un ejemplo de la segmentación de los pupilogramas. A partir de los tiempos encontrados TPC, TL, TFF1, TFF2 y TFF3, obtendremos los diámetros pupilares en esos puntos y aproximaremos la rapidez (o celeridad promedio) de cada una de las tres fases tomando como puntos de referencia: rapidez de la primera fase: de TL

a TFF1; rapidez de la segunda fase: de TFF1 a TFF2; y rapidez de la tercera fase: de TFF2 a TFF3.

También reportaremos la rapidez del punto TPC a TL. Observamos que no todos los pupilogramas pueden segmentarse en tres fases, hay algunos que pueden segmentarse en más partes y otros que pueden segmentarse en menos partes. En la figura 4 mostramos los pupilogramas obtenidos en la prueba, para el estímulo rojo, resaltando en marcador rojo el TPC, en verde TL y en azul los puntos usados para segmentar la contracción pupilar.

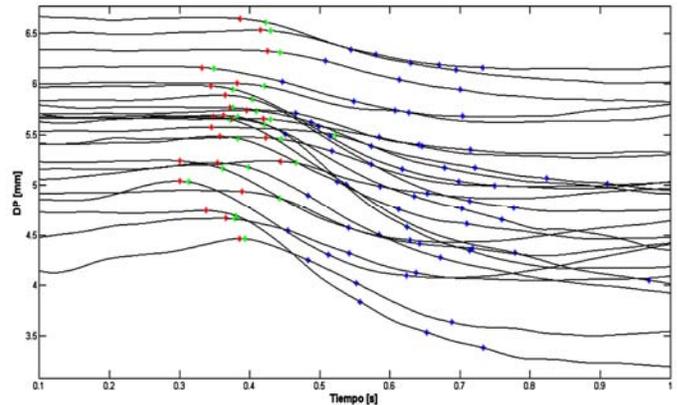


Fig. 4 Pupilogramas obtenidos con estímulo rojo de 100 ms.

En la tabla I presentamos los tiempos y celeridades medias tomadas a partir de los puntos marcados en las figuras antes mostradas. En la tabla II mostramos la media de los porcentajes de contracción calculados por estímulo luminoso.

TABLA I

Media \pm SD, de TPC, TL, R TPC-TL, R Fase I, R Fase II y R Fase III para los cuatro estímulos evaluados.

Medias	Rojo [625 nm]	Verde [525 nm]	Azul [475 nm]	Amarillo [30% rojo 70 % verde]
TPC (mm)	0.369 \pm 0.036	0.360 \pm 0.032	0.333 \pm 0.054	0.354 \pm 0.030
TL (mm)	0.405 \pm 0.043	0.396 \pm 0.042	0.390 \pm 0.031	0.385 \pm 0.033
R TC-TL (mm/s)	0.728 \pm 0.323	0.737 \pm 0.408	0.904 \pm 0.414	0.614 \pm 0.390
R Fase I	2.377 \pm 1.105	2.337 \pm 1.194	2.876 \pm 1.154	2.035 \pm 1.098
R Fase II	2.168 \pm 1.135	2.116 \pm 1.055	2.557 \pm 1.166	2.118 \pm 0.921
R Fase III	1.576 \pm 0.702	1.321 \pm 0.820	1.562 \pm 0.808	1.451 \pm 1.089

Realizamos la prueba T Student ($\alpha=0.05$) para medias de 2 muestras emparejadas comparando la Rapidez de la Fase I entre las respuestas obtenidas a los diferentes colores, encontrando diferencias estadísticamente significativas entre la R Fase I_R- R Fase I_V (P=0.029), R Fase I_R- R Fase I_A (P=0.009), R Fase I_V- R Fase I_A (P=0.008), R Fase I_A- R Fase I_V (P=0.0008), y diferencias no significativas entre R

Fase I_R- R Fase I_V (P=0.421), y R Fase I_V- R Fase I_Y (P=0.117).

TABLA II

Media ± SD de porcentajes de contracción por fase (el 100% es la distancia total contraída) y por color.

% de Contracción	Fase TL	TPC- Fase I	Fase II	Fase III
Rojo	3.472±1.56	38.25±16.418	28.472±12.49	15.963±6.75
Verde	3.452±1.38	39.263±15.94	25.145±10.17	15.930±6.21
Azul	5.407±2.03	38.56±16.09	26.652±11.16	15.445±6.73
Amarillo	2.279±0.71	29.034± 13.4	23.705±11.00	12.233±5.53

En la tabla III mostramos las medias de las diferencias entre los TCP calculados entre cada uno de los estímulos.

TABLA III

Diferencias absolutas medias entre los tiempos previos a la contracción de las contracciones pupilares en respuesta a los 4 colores de estímulo.

Parámetro	Diferencias medias [s]
TPC _R -TPC _V	0.026
TPC _R -TPC _A	0.049
TPC _R -TPC _Y	0.025
TPC _V -TPC _A	0.043
TPC _V -TPC _Y	0.029
TPC _A -TPC _Y	0.042

Adicionalmente realizamos la prueba T Student ($\alpha=0.05$) para medias de 2 muestras emparejadas comparando los TPCs y TLs entre las respuestas obtenidas a los diferentes colores, encontrando diferencias estadísticamente significativas entre los TPCs: TPC_R-TPC_A (P=0.001), TPC_R-TPC_Y (P=0.008), TPC_V-TPC_A (P=0.008), TPC_A-TPC_Y (P=0.028), y valores de P para TPC_R-TPC_V (P=0.106) y TPC_V-TPC_Y (P=0.247). Los valores encontrados en el análisis del TL fueron: diferencias estadísticamente significativas para TL_R-TL_A (P=0.036) y TL_R-TL_Y (P=0.009) y no significativas para TL_R-TL_V (P=0.119), TL_V-TL_A (P=0.243), TL_V-TL_Y (P=0.133) Y TL_A-TL_Y (P=0.277).

IV. DISCUSIÓN

Los resultados nos muestran que los tiempos definidos como TPC y TL muestran una tendencia a ser menores para el estímulo en color azul y mayores para el estímulo rojo.

Los resultados obtenidos de la prueba T student aplicada sobre los valores de los TCPs y TLs confirman que existen diferencias significativas en dichos valores entre las respuestas pupilares a la luz roja y la luz azul. Encontrando mayor probabilidad de encontrar diferencias al comparar el TPC sobre el TL.

A partir de los resultados obtenidos y mostrados en las tablas 1 y 2 y a los resultados de la prueba T student mostrados, podemos afirmar que la respuesta pupilar del reflejo a la luz presenta diferencias en base a la cromaticidad

de la luz usada como estímulo. Se observa una clara diferencia en la rapidez de contracción pupilar siendo la contracción a la luz azul un 10% mayor al rojo, un 11% mayor al verde, un 24% mayor al amarillo en el tiempo transcurrido de TPC a TL. Comparando la rapidez promedio calculada para la fase I, la contracción al azul fue 14% más rápida que el rojo, un 13.6% más rápido que el verde, un 25% más rápido que el amarillo. Comparando la rapidez promedio para la fase II la contracción al azul fue un 1.6% mayor que al rojo, un 6.7% mayor que al verde y un 14.3% mayor que al amarillo. El 63% del total de las contracciones, la rapidez de la fase I en el azul fue la mayor.

V. CONCLUSIONES

Considerando que el tiempo de muestreo del sistema de adquisición de imágenes es de 0.033 s notamos que las diferencias entre los TPC y TL no son determinantes, pues se encuentra el valor de la diferencia muy cercana al tiempo de muestreo. Así en base a los resultados obtenidos sugerimos el uso de una cámara de mayor velocidad, en la cual el tiempo de muestreo sea por lo menos 3 veces menor. Ya que el TPC y el TL no fueron parámetros robustos para asegurar diferencias en las respuestas pupilares a los diferentes estímulos, se optó por tomar las celeridades medias de las fases en las cuales se segmentó la contracción pupilar. El tomar las celeridades medias asegura un parámetro mucho más robusto, pues presenta una dependencia menor del tiempo de muestreo, en promedio son usados dos puntos previos a la interpolación para calcular la celeridad de TPC a T, 4 puntos para calcular la celeridad de la fase I, 3 puntos para calcular la celeridad de la fase II y 2 puntos para obtener la celeridad de la fase III. Consideramos de mayor confiabilidad la medición en las fases I y II ya que en ellas se consigue más del 50% contracción total.

A partir de las graficas y tablas presentadas podemos afirmar que la contracción pupilar debida al reflejo a la luz es más rápida al azul, siguiendo en rapidez la contracción al rojo, posteriormente la respuesta al verde y al amarillo.

Las diferencias en las contracciones pupilares podrían ser de utilidad para el diagnostico de algún padecimiento sistémico, de ahí la importancia de continuar con el estudio de las respuestas pupilares a diferentes estímulos.

RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por el CONACYT para la realización de este proyecto (#141194).

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Traquair, Harry Moss. An Introduction to clinical perimetry. London, Henry Kimpton, 1927, pp.264.
- [2] H.V. Nema, Nitin Nema, "Diagnostic Procedures in Ophthalmology", Ed. Alpha Science International Ltd, 2003, pp.76-99.

- [3] Harrington David, O, "Campos Visuales, Texto y atlas de perimetría clínica", Editorial Medica Panamericana, 1979.
- [4] O. Bergamin, A. Schoetzan, K. Sugimoto y M. Zulauf, "The influence of iris color on the pupillary light reflex", Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, Vol.236 No.8, pags.567-570, 1998.
- [5] J.M. Artigas, P. Capilla, A. Felipe, J. Pujol, "Óptica Fisiológica, Psicofísica de la visión". Edit. Interamericana McGraw-Hill, 1ra edición en español, pp.6, 505-564, 1995.
- [6] I. Lee, B. Choi, K.S. Park, S.S. Kim y J. Hwang, "Development of Pupillography Using Image Processing", Korean Journal of Ophthalmology, Vol 19 No.2, pags.149- 152, Diciembre de 2004.
- [7] K. Skorkovská, H. Wilhelm, H. Lüdtke y B. Wilhelm, "How sensitive is pupil campimetry in hemifield loss?", Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, Vol.247 No.7, pags.947-953, 2009.
- [8] Urtubia Vicario, César, "Neurobiología de la Visión", Ediciones de la Universidad Politécnica de Valencia, España, pp.55-97, 1997.
- [9] B. L. Laguna Mena, "Evolución de la Función Macular con la Edad", Tesina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España., 1990.
- [10] E. Villareal, E. Suaste. Diseño y desarrollo de un perímetro cromático objetivo automatizado basado en videopupilometria. IV Congreso Colombiano de Bioingeniería e Ingeniería Biomédica. Barranquilla, Colombia. 22 al 24 de Septiembre de 2011. ISSN: 1909-9991.
- [11] E. Villareal, E. Suaste. Valoración de respuestas pupilares por medio de un perímetro basado en pupilometria. Terceras Jornadas Chilenas de Ingeniería Biomédica, JCIB 2012, pp. 13.
- [12] E. Suaste Gómez y A. S. Sánchez Sánchez, "Biomedical Instrumentation to Analyze Pupillary Responses in White-Chromatic Stimulation and Its Influence on Diagnosis and Surgical Evaluation" en *Biomedical Engineering - Technical Applications in Medicine*, Dr. Radovan Hudak (Ed.), ISBN: 978-953-51-0733-0, InTech, DOI: 10.5772/48704, 2012, ch. 3, pp. 191-212.
- [13] Purcell, Varberg, Rigdon, "Cálculo", 9na Ed., Ed. Pearson Educación, México, pp.593-599, 2007.
- [14] J.E. Bos, "Detection of the pupil constriction latency", Medical & Biological Engineering & Computing, Septiembre 1991, 29(5): pp.529-34.
- [15] Oliver Bergamin, Randy H. Kardon, "Latency of the Pupil Light Reflex: Sample Rate, Stimulus Intensity, and Variation in Normal Subjects", Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 44, No. 4, Abril 2003, pp.1546-54.
- [16] S. Hong, J. Narkiewicz and R.H. Kardon, "Comparison of Pupil Perimetry and Visual Perimetry in Normal Eyes: Decibel Sensitivity and Variability", Investigative Ophthalmology & Visual Science, Vol. 42, No. 5, Abril 2001, pp. 957-65.
- [17] W. Tasman y E.A. Jaeger, "Duane's Ophthalmology on CD-ROM", Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, Chapter 9, Vol. 8, 2006.
- [18] S. Duke-Elder y G.I. Scott, "System of Ophthalmology", vol.XII, Ed. Henry Kimpton, Londres, 1971, pp.371-376.