

Líneas de investigación del Grupo de Óptica de la Visión de la Universidad de Valladolid

Research areas of the Visual Optics Group at the University of Valladolid

S. Mar⁽¹⁾, J. A. Aparicio⁽¹⁾, I. Arranz⁽¹⁾, J. T. Blanco-Mezquita⁽²⁾, V. R. González⁽¹⁾, C. Martínez-García⁽³⁾, B. M. Matesanz⁽¹⁾, J. A. Menéndez⁽⁴⁾, J. M. Merayo-Llodes⁽²⁾, S. B. Nájera⁽¹⁾, L. Padierna⁽¹⁾, G. Rodríguez⁽²⁾, R. M. Torres⁽²⁾ y J. G. Vizmanos⁽¹⁾

1. Departamento de Física Teórica, Atómica y Óptica, Facultad de Ciencias, Universidad de Valladolid, 47076 Valladolid. Email: santiago@opt.uva.es
2. Instituto Universitario de Oftalmobiología Aplicada, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, 47076 Valladolid.
3. Departamento de Biología Celular e Histología, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid, 47076 Valladolid.
4. Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Facultad de Ciencias, Universidad de Valladolid, 47076 Valladolid.

RESUMEN

Se presenta las líneas de investigación del grupo de Óptica de la Visión de la Universidad de Valladolid. La primera de las líneas se centra en la medida de la transmitancia y difusión de los tejidos corneales, la segunda, en los cambios celulares y tisulares durante la cicatrización corneal y por último la tercera línea se dedica al estudio de la influencia de las variaciones espacio-temporales de la iluminación retiniana, en la respuesta del sistema visual.

Palabras clave: Física de la Visión, Biología Celular, Radiometría, Bioóptica.

ABSTRACT

Research lines of the Visual Optics Group at the University of Valladolid are presented in this work. First of them is devoted to the measurement of transmittance and scattering in corneal tissues; second one is devoted to the analysis of cellular changes during corneal healing. Finally, the third one is devoted to the analysis of the influence of the spatial and temporal changes of the retinal illumination on the visual response.

Key words: Physics of Vision, Cellular Biology, Radiometry, Biooptics.

REFERENCIAS Y ENLACES

- [1] J. A. del Val, S. M. Barrero, B. Yáñez, J. Merayo, J. A. Aparicio, V. R. González, J. C. Pastor, S. Mar, "Experimental measurement of corneal haze after excimer laser keratectomy", *Appl. Opt.* **40**, 1727-1734 (2001).
- [2] G. B. Benedek, "Theory of transparency of the eye", *Appl. Opt.* **10**, 459-473 (1971).
- [3] J. R. Mourant, M. Canpolat, C. Brocker, O. Esponda-Ramos, T. M. Johnson, A. Matanock, K. Stetter, J. P. Freyer, "Light scattering from cells: The contribution of the nucleus and the effects of proliferative status", *J. Biomed. Opt.* **5**, 131-137 (2000).
- [4] R. A. Farrell, R. L. McCally, "Corneal transparency" in *Principles and Practice of Ophthalmology*, Eds. D. M. Albert, F. A. Jakobiec, pp. 629-643 (2000).
- [5] T. J. Freegard, "The physical basis of transparency of the normal cornea", *Eye* **11**, 465-471 (1997).

- [6] C. Martínez-García, J. Merayo-Llves, T. Blanco-Mezquita, S. Mar-Sardaña, "Wound healing following refractive surgery in hens", *Exp. Eye Res.* En prensa (2006).
- [7] D. G. Dawson, T. R. Kramer, H. E. Grossniklaus, G. O. Waring, H. F. Edelhauser, "Histologic, ultrastructural, and immunofluorescent evaluation of human laser-assisted in situ keratomileusis corneal wounds", *Arch. Ophthalmol.* **123**, 741-756 (2005).
- [8] R. R. Mohan, A. E. Hutcheon, R. Choi, J. Hong, J. Lee, R. Jr. Ambrosio, J. D. Zieske, S. E. Wilson, "Apoptosis, necrosis, proliferation, and myofibroblast generation in the stroma following LASIK and PRK", *Exp. Eye Res.* **76**, 71-87 (2003).
- [9] W. J. Power, A. H. Kaufman, J. Merayo-Llves, V. Arrunategui-Correa, C. S. Foster, "Expression of collagens I, III, IV and V mRNA in excimer wounded rat cornea: analysis by semi-quantitative PCR", *Curr. Eye Res.* **14**, 879-886 (1995).
- [10] R. A. Del Pero, J. E. Gigstad, A. D. Roberts, G. K. Klintworth, C. A. Martin, F. A. Jr. L'Esperance, D. M. Taylor. "A refractive and histopathologic study of excimer laser keratectomy in primates", *Am. J. Ophthalmol.* **109**, 419-429 (1990).
- [11] S. E. Wilson, R. R. Mohan, R. Ambrosio, J. Hong, J. Lee, "The corneal wound healing response: cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells", *Prog. Retin. Eye Res.* **20**, 625-637 (2001).
- [12] F. Schieber. "Age and glare recovery time for low-contrast stimuli". Proceedings of the Human Factors and Ergonomics Society. Santa Monica, CA: Human Factors and Ergonomics Society. 1994 pp. 496-499. Also reprinted in Rogers, W.A. (Ed.), Designing for an Aging Population. Santa Monica, CA: Human Factors and Ergonomics Society.
- [13] J. Vizmanos, I. de la Fuente, B. M. Matesanz, J. A. Aparicio. "Influence of surround illumination on pupil size and contrast sensitivity", *Ophthalm. Physiol Opt.* **24**, 464-468 (2004).
- [14] B. M. Matesanz, I. Arranz, J. G. Vizmanos, J. A. Aparicio, S. Mar. "Diseño de una prueba psicofísica para la evaluación del tiempo de recuperación al deslumbramiento: aplicación a la conducción nocturna", *Opt. Pura Apl.* En prensa (2006).
- [15] J. M. Harrison, R. A. Applegate, J. T. Yates, C. Ballentine, "Contrast sensitivity and disability glare in the middle years", *J. Opt. Soc. Am. A.* **10**, 1849-1855 (1993).

1. Introducción

El grupo de Óptica de la Visión de la Universidad de Valladolid se ha creado recientemente con la finalidad de agrupar a diferentes equipos que llevaban a cabo su investigación en asuntos relacionados con la calidad de visión. Por lo tanto el grupo es multidisciplinar y tiene como objetivo general el estudio de fenómenos que influyen en la calidad de visión. Este objetivo general se aborda desde tres puntos de vista diferentes, que constituyen las tres líneas de investigación del grupo. La primera de las líneas se centra en la medida de la transmitancia y difusión de los tejidos corneales, la segunda, en los cambios celulares y tisulares durante la cicatrización corneal y, por último, la tercera línea se dedica al estudio de la influencia de las variaciones espacio-temporales de la iluminación retiniana, en la respuesta del sistema visual. Obviamente las relaciones, intercambio de ideas, experimentos conjuntos, intercambio de resultados, etc. entre las tres líneas son permanentes.

2. Línea de investigación: Transmitancia y difusión corneal

2.a. Objetivos

Dentro de la línea investigación sobre medidas de transmitancia y difusión (scattering) en córneas, los objetivos del grupo son:

1. La medida en tejidos corneales de magnitudes ópticas como transmitancia, absorción y difusión, tanto en el visible como en el infrarrojo y el ultravioleta cercanos.
2. Identificación de los elementos determinantes de la falta de transmisión y por lo tanto de la pérdida de calidad visual.

En concreto el grupo pretende evaluar la luz difundida, transmitida y absorbida por la córnea durante los procesos de cicatrización, como los que aparecen en cirugía refractiva. Una vez determinadas estas magnitudes físicas de forma objetiva, se pretende conocer las causas que las originan, para proponer tratamientos que reduzcan los problemas asociados a esta cirugía.

Estos objetivos concretos forman parte de un proyecto más general con el que se pretende poner a punto y demostrar que las técnicas de medida de la luz difundida que tan excelentes resultados han suministrado en otros campos (contaminación atmosférica, análisis químico, etc.) también son aplicables en tejidos oculares. El disponer de una técnica objetiva de evaluación, abre las puertas a nuevos estudios. En concreto, no sería difícil evaluar el comportamiento de los nuevos materiales de las lentes de contacto y su toxicidad utilizando la técnica propuesta. En el terreno de las patologías ya ha sido aplicada con éxito por nuestro grupo a la evaluación de los efectos en la transmitancia corneal en ojo tratados con PRK y la influencia de los distintos tratamientos farmacológicos [1]. En un futuro podría aplicarse a la medida de la luz difundida (scattering) en córneas vivas.

2.b. Transmitancia y difusión

Existen diferentes modelos para explicar la transparencia corneal y en particular la pequeña cantidad de luz difundida que produce este tejido. Todas las teorías que explican la transparencia corneal se centran en la propagación de la luz en la matriz extracelular estromal. Benedek [2] propone que la luz difundida aparece por las fluctuaciones del índice de refracción. El tamaño de éstas debe ser mayor que la semilongitud de onda de la luz en el medio. Las fluctuaciones del índice pueden ser producidas por alteraciones microestructurales, organización irregular de la matriz extracelular o por las propias células del tejido. Muchos estudios han tratado de relacionar la forma, densidad y tamaño de las células con la estructura de la luz difundida. Mourant et al. [3] sugiere que las propias células serían responsables de la difusión en ángulos pequeños, los núcleos lo serían en ángulos mayores y por último, las pequeñas organelas como mitocondrias y lisosomas, las responsables de la difusión en ángulos grandes. Para un estudio más detallado se remite al lector a las revisiones de Farell y McCally [4] y la de Freegard [5].

En general la medida de la luz difundida hacia la retina sólo puede realizarse de modo directo "in vitro", ya que en este tipo de medida los detectores deben estar del lado de la retina. Con pacientes humanos se puede medir "in vivo" de modo indirecto evaluando la pérdida de sensibilidad al contraste, pero en este caso la experimentación es prácticamente imposible en animales, ya que se precisa de la respuesta del paciente para evaluar la pérdida de la sensibilidad al contraste. También se puede obtener una medida objetiva "in vivo" con cualquier tipo de ojo si se utiliza como hipótesis que, del conocimiento preciso de la luz difundida hacia

atrás (back scattering) puede evaluarse la densidad y tamaño de los elementos difusores, y en consecuencia la luz difundida hacia la retina (forward scattering). Este tipo de medida es objetiva, cuasi-directa "in vivo" pero depende críticamente del modelo teórico que evalúa la luz difundida hacia la retina.

Independientemente de la técnica utilizada, si las medidas se realizan con haces de luz de diferente longitud de onda y polarización, puede obtenerse información relevante sobre la forma y densidad de las partículas difusoras. Como un caso especialmente relevante de esta situación se puede citar la técnica conocida con el nombre de difusión de luz cuasi-estática, en la que se evalúa la función de correlación temporal de la luz difundida, típicamente con procedimientos de recuento de fotones. La técnica permite obtener la densidad, tamaño y movilidad de las partículas difusoras, pero es prácticamente inviable debido a la complejidad del método en el caso de ser usado sobre tejidos vivos. Por este motivo se ha optado por la medida directa de la luz difundida hacia la córnea con ayuda de un nefelómetro o escaterómetro.

2.c. Dispositivo Experimental

El esquema del dispositivo experimental puede verse en la Figura 1. En esencia es un nefelómetro a tres longitudes de onda construido en el Laboratorio de Óptica de la Universidad de Valladolid, para optimizar algunas de sus prestaciones. La luz que proviene de tres láseres – He-Ne rojo 632.8 nm, He-Ne verde 543.5 nm y diodo infrarrojo 830.0 nm – es conducida hacia la cámara que contiene la muestra a medir, mediante la ayuda de espejos y láminas separadoras. La luz difundida en la cámara es recogida por tres fibras ópticas y enviada a sendos fotomultiplicadores. Las fibras están montadas sobre una plataforma que gira en un plano horizontal, accionada por un motor paso a paso. El eje de giro coincide con el punto de impacto de los láseres sobre la muestra. Las fibras se encuentran a 44.5 mm del eje de giro y formando un ángulo entre ellas de 30°. De esta forma y suponiendo un scattering simétrico, una rotación de la plataforma de 30° permite obtener la distribución angular completa de la luz difundida. La razón de disponer de tres canales de detección es la gran diferencia de intensidad de la luz difundida con el ángulo de scattering. Gracias a esta disposición, cada uno de los canales se programa con una sensibilidad diferente según el intervalo angular que vaya a medir. Con este procedimiento se ha conseguido obtener la distribución angular de la luz difundida en un intervalo superior a seis órdenes de magnitud. Existe un cuarto canal que recoge directamente las luces emitidas por los láseres, con

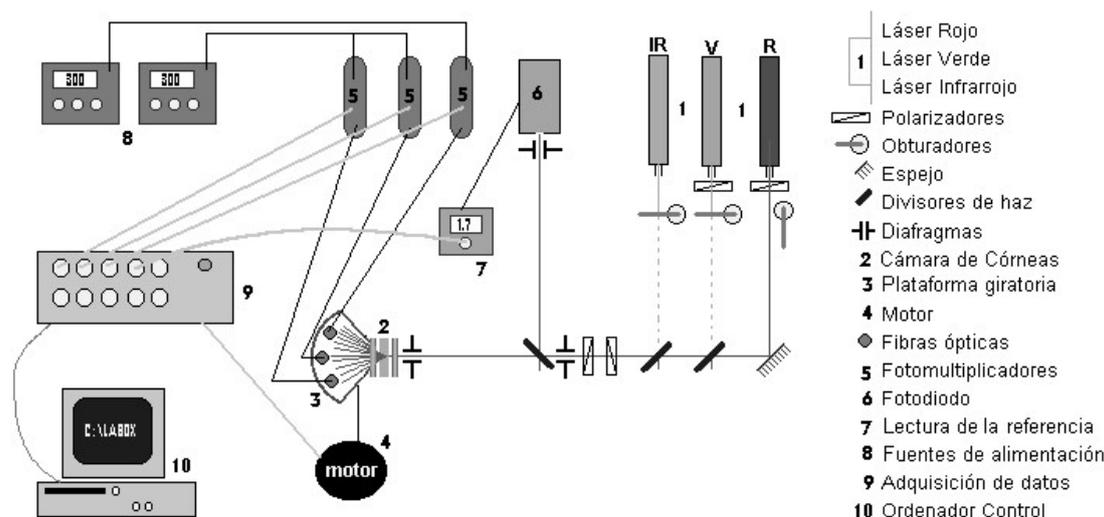


Figura 1. Dispositivo experimental

el objeto de controlar las variaciones en intensidad que pudieran tener.

La cámara que contiene a la córnea está hecha en acero inoxidable y posee en sus extremos dos ventanas paralelas de vidrio Pyrex de 26 mm de diámetro, separadas 17 mm. Con esta geometría no existe prácticamente ninguna limitación en el ángulo externo de medida que está comprendido entre -85° y $+85^\circ$ respecto al haz incidente. Las principales limitaciones las imponen la geometría del portacórneas y el ángulo límite de la segunda cara de la ventana de salida. Dependiendo del índice de refracción del líquido que contiene la cámara, el máximo ángulo de difusión medible en el interior es de 54° . Sin embargo la geometría del portacórneas impone un límite en 38° . Un líquido de mantenimiento termostatzado que generalmente suele ser suero fisiológico, circula permanentemente por el interior de la cámara.

La córnea se introduce en la cámara con ayuda de un portacórneas formado por dos láminas de acero inoxidable que contienen la córnea a modo de "sándwich". En las láminas se ha tallado un alojamiento de nylon con la misma curvatura que la córnea y en ellas se ha practicado un orificio para que pase la luz.

El resto del montaje son polarizadores para modificar las intensidades de los láseres. El último polarizador, a la entrada de la cámara, se mantiene siempre con la misma inclinación para garantizar que la luz que incide en la muestra tenga su plano de polarización vertical. Un conjunto de obturadores permite seleccionar el láser de medida. Todo el sistema está controlado por ordenador, de modo que cada medida se puede programar con facilidad. Un

proceso completo dura unos pocos minutos lo que evita que la córnea se deteriore. Con estas medidas se obtienen diferentes magnitudes, las más relevantes son: a) Distribución angular de la luz difundida, b) Relación entre el flujo transmitido en la dirección de la luz incidente y el flujo incidente (Transmitancia directa), c) Relación entre el flujo total transmitido y el flujo incidente (Transmitancia total).

2.d. Resultados

La córnea de las gallinas, igual que las humanas, tienen cinco capas: Epitelio, Membrana de Bowman, Estroma, Capa de Descemet y Endotelio. La mayor parte del espesor de la córnea (90%) lo constituye el estroma. Este tejido está compuesto por queratocitos y fibras de colágeno dispuestas en capas (lamelas) en la dirección del plano de la córnea. La diferencia entre las córneas humanas y las aviares es la orientación de los sucesivos niveles de las capas y la asimetría bilateral.

Durante el proceso de cicatrización la conformación natural de la matriz extracelular se altera y aparecen cambios en la densidad celular y fenotipo, asociados a la producción de componentes de la matriz extracelular desorganizada. El resultado final es una disminución de transparencia [6].

A pesar de la dispersión de los datos, nosotros hemos encontrado (Figura 2) que el transmitancia total es aproximadamente el 85%. Este resultado confirma que la absorción, backscattering o haze y la reflexión son pequeñas, aproximadamente 15%. Este comportamiento era conocido en córneas sanas, pero este resultado extiende la conclusión a córneas con opacidades severas.

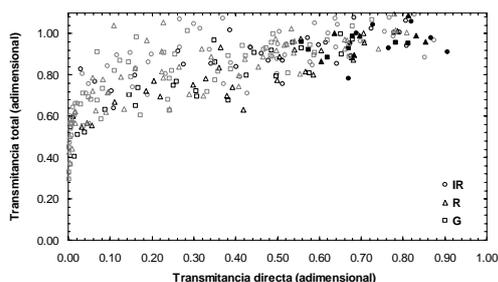


Figura 2. Transmitancia total frente a transmitancia directa. IR: Infrarrojo 830 nm, R: Rojo 633 nm, G: Verde 543 nm. Símbolos: Cerrados, córneas de control; Abiertos, córneas operadas; Negros, córneas sin tratamiento; Grises, córneas con tratamiento.

La forma de la curva de difusión se relaciona con los tipos de células que forman el tejido corneal. Por otro lado, la transmitancia depende de la estructura organizada del tejido. Por consiguiente, la difusión y la transmitancia no deberían estar relacionadas necesariamente. Obviamente, cuanto mayor es la herida corneal, más desorganizado está el tejido, y además hay un número más grande de elementos que contribuyen a la difusión. Por esta razón, siempre hay una correlación entre difusión y transmitancia. En cualquier caso la difusión concentra la luz en ángulos muy pequeños, comparada con la difusión en otros tejidos. Este comportamiento es razonable en córneas sanas o con lesiones pequeñas, sin embargo se conserva en córneas con lesiones severas. Este hecho permite que córneas con opacidades altas todavía conserven una cierta capacidad de formar imágenes en la retina.

3. Línea de Investigación: Cirugía refractiva y cicatrización corneal

3.a. Objetivos

Nuestro objetivo principal dentro del equipo de investigación es estudiar desde el punto de vista celular y/o tisular los cambios que sufre la córnea durante la cicatrización después de diferentes cirugías refractivas (Lasik, Lasek, PRK anillos intraestromales, etc). Estos cambios son seguidos en el tiempo y en los diferentes tipos celulares, así como en la organización del colágeno y la reinervación de la córnea.

Por otra parte, tratamos de correlacionar las manifestaciones clínicas y las medidas físicas durante todo el proceso con los cambios tisulares.

Nuestros pasos se encaminan hacia la modulación farmacológica de estos procesos y un mejor conocimiento de los factores reguladores para poder intervenir con éxito en ellos.

3.b. Antecedentes

Muchos de los acontecimientos que tienen lugar durante la cicatrización han sido estudiados en el humano clínicamente y muy pocos y tardíos desde un punto de vista anatomopatológico [7]. Algunos estudios han sido realizados en otros animales de experimentación como conejo [8], rata [9], y mono [10], pero como estudios puntuales enfocados a momentos o procesos concretos, sin un seguimiento clínico y celular.

Los primeros acontecimientos que tienen lugar durante la cicatrización postquirúrgica refractiva fueron descritos como una cascada por Wilson en 2001 [11]. En primer lugar se produce la muerte de las células que componen el estroma, debido al daño epitelial y a la interacción del haz láser con el estroma corneal, que produce un choque térmico y un aumento de radicales oxidativos. Posteriormente aparece la proliferación de nuevas células a partir de las células no dañadas. Muchas de estas células se diferencian a miofibroblastos para conseguir la aproximación de los bordes de la herida y la síntesis y remodelación del nuevo colágeno.

Durante este tiempo se sintetiza matriz extracelular de nuevo, que no está bien organizada, por lo que deben intervenir varias enzimas, metaloproteinasas, para la remodelación de dicho tejido.

Cada uno de estos acontecimientos tiene numerosos factores que los controlan y que intervienen tanto en la proliferación como en la diferenciación de fibroblastos a miofibroblastos y en la desdiferenciación de los mismos a fibroblastos y posteriormente a queratocitos quiescentes.

Nuestros experimentos se llevan a cabo en un modelo animal, la gallina, con las mismas técnicas quirúrgicas que en el humano, Lasik, PRK, Lasek y anillos intraestromales.

A estos animales se les realiza un seguimiento clínico, semejante al realizado en la clínica a humanos, para observar cuando se realiza la reepitelización, si hay alguna complicación quirúrgica (infecciones, heridas por rascado o picoteo posterior) y aparición y grado de haze a lo largo de la cicatrización.

Después de unas horas (4h, 12h, 24h, 48h, 72h) y 5, 7, 15, 30 y 60 días tras la cirugía, los animales son sacrificados. A las córneas recién extraídas se le mide transmitancia directa y total y dispersión de la luz, luego, las córneas se incluyen en parafina. Determinando posteriormente la apoptosis mediante técnica de TUNEL, proliferación por inmunohistoquímica anti-brdU y determinación de

miofibroblastos por anticuerpos anti-actina de músculo liso. La regeneración nerviosa mediante anticuerpos anti betatubulina neuronal.

3.c. Resultados

Nuestros resultados muestran que en las primeras 3-4 horas se produce un gran número de muertes celulares, después a las 12 horas aparece un segundo aumento por la liberación de diferentes factores apoptóticos (Figura 3). El número de células muertas disminuye progresivamente aunque manteniéndose durante toda la cicatrización un número pequeño y continuado de apoptosis.

La proliferación de las células estromales comienza a las 24h y tiene su máximo a las 72h decreciendo esta actividad paulatinamente hasta los 10 días.

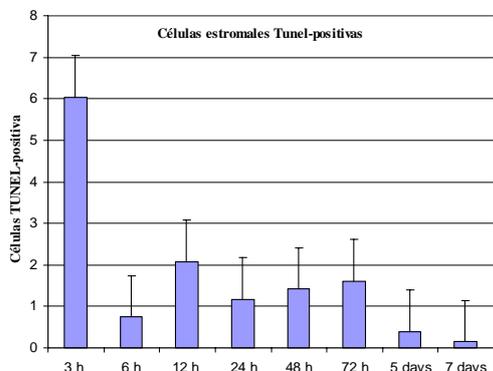


Fig. 3. Cuantificación de las células TUNEL-positivas en córneas de gallina que fueron sometidas a PRK

A los cinco días aparecen los primeros miofibroblastos, células que poseen en su interior filamentos de actina. Estos se encuentran siempre muy próximos a la membrana basal. Durante estos mismos días y desde el punto de vista clínico, comienza la aparición del haze. El número de estas células se incrementan paulatinamente durante los 15 primeros días y se mantiene su número hasta el mes (Figura 4). De manera semejante ocurre con el haze como se observa en la Figura 5 se incrementa

durante los 7 a 10 primeros días y luego se mantiene hasta el mes, disminuyendo después, hasta a hacerse semejante a la córnea previa a la operación a los dos meses.

Estas observaciones nos hacen pensar que el haze va unido, entre otras cosas, a la aparición de los miofibroblastos.

La transmisión directa de la luz medida mediante un equipo diseñado por nuestro grupo de investigación, tiene un comportamiento diferente, comienza siendo baja a los 7 y 15 días pero mejora notablemente a los 30 y a los 60 en las córneas operadas con PRK (Figura 6).

Sin embargo en córneas operadas con Lasik las diferencias en las transmitancias entre las córneas operadas y las córneas control no muestran diferencias significativas.

La reducción de la transmitancia puede estar relacionada con la reflexión, la absorción y la dispersión de la luz. La absorción podría ser debida a algunos factores intracelulares que tendrían índices de refracción complejos.

La reflexión podría estar relacionada con un incremento de la separación de las fibras que genera una interferencia destructiva hacia delante y constructiva hacia atrás. Durante los tres primeros días la muerte de las células conlleva una pérdida del mantenimiento de la matriz apareciendo grandes huecos en el tejido.

La dispersión de la luz por las células y sus componentes dependen de su tamaño, forma y del tamaño y forma de sus organelas. Los miofibroblastos son mucho más grandes, tienen mayor número de organelas y haces de actina en su parte periférica, todos estos componentes tienen diferentes índices de refracción. Además estas células producen colágeno, glucosaminoglicanos y metaloproteinasas enzimas que realizan la remodelación de la matriz. Todo ello produce irregularidades en la matriz y por tanto fluctuaciones en el índice de refracción. Los miofibroblastos son

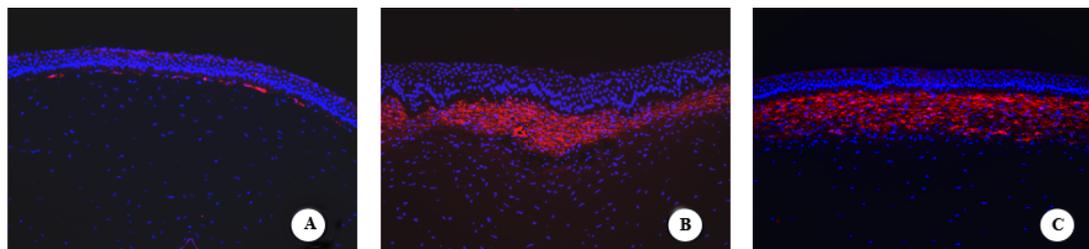


Fig. 4. Immunolocalización de alpha-actina de músculo liso (SMA) en córneas de gallina operadas con PRK. A: 5 días; B: 15 días; y C: 30 días de postoperatorio. Núcleos teñidos con DAPI. Magnificación, 200x.

más abundantes entre los 15 días y el mes, realizando durante este periodo las funciones antes descritas.

A medida que se sintetiza y se remodela la nueva matriz, se rellenan huecos y disminuyen las fluctuaciones del índice de refracción, lo cual ocurre entre los 15 días y el mes, por ello la transmisión mejora considerablemente como muestra la Figura 6.

Por todo ello, parece coherente pensar que la transmisión es más bien debida a esta matriz y no al número de células, que se sólo disminuiría ligeramente.

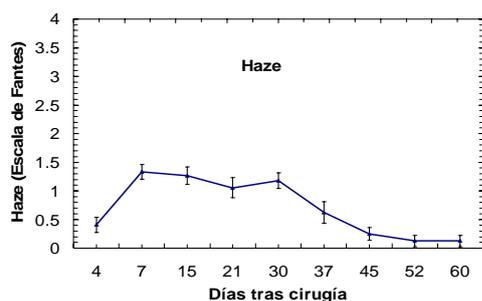


Fig. 5. Medias de las puntuaciones según la escala de Fantes et al. (1990), a diferentes tiempos después PRK. Las barras de error significan errores estándar de las medias.

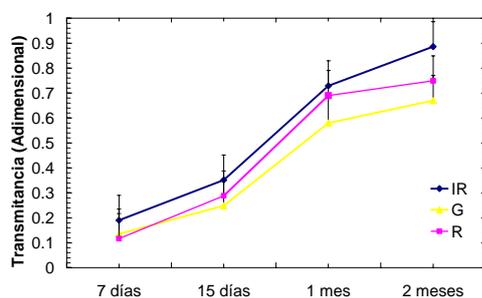


Fig. 6. Media de los valores de la transmitancia directa después de PRK. IR indica láser infrarrojo, R láser rojo, y G láser verde.

4.- Línea de Investigación: Iluminación y Visión

4.a. Objetivos

El objetivo general de esta línea de investigación es el estudio de la influencia de las variaciones espacio-temporales en la distribución retiniana de la iluminación sobre la respuesta del sistema visual, particularmente sobre su sensibilidad al contraste.

Este objetivo general se materializa desde tres puntos de vista, cada uno de los cuales puede considerarse un objetivo específico en si mismo.

- a) Puesta a punto de una técnica para medir la sensibilidad retiniana antes, durante y después

de un deslumbramiento transitorio, con resoluciones angular y temporal suficientes.

- b) Análisis de la influencia de las variaciones de iluminación extrafoveal sobre la sensibilidad al contraste foveal para distintas frecuencias espaciales.
- c) Diseño de tests psicofísicos para evaluar el tiempo de recuperación de la sensibilidad al contraste foveal tras deslumbramientos transitorios foveales y la influencia de la edad del individuo sobre dicho tiempo de recuperación.

Aparte de intentar conseguir un mejor entendimiento de los fenómenos de adaptación retiniana a los cambios de su distribución espacio-temporal de iluminación, estos tres objetivos específicos abren las puertas a nuevos estudios y campos de aplicación donde dichos fenómenos de adaptación juegan un papel relevante. Así, por ejemplo, los estudios sobre la influencia de la edad en las habilidades adaptativas, los límites de la adaptación retiniana local, la influencia de ciertas patologías oculares sobre dichas habilidades, etc.

4.b. Introducción y estado actual del tema

4.b.1. Medida de la sensibilidad retiniana

Una de las características que hacen del sistema visual humano algo singular es su gran sensibilidad retiniana, es decir, su habilidad para adaptarse a ambientes luminosos cuya luminancia varía hasta en un factor 10^8 , manteniendo una capacidad casi constante de detectar pequeñas variaciones de luminancia en el campo visual. Sin embargo, es un hecho bien constatado en la literatura que dicha capacidad, medida usualmente como contraste umbral detectable, se reduce en presencia de cambios bruscos de la luminancia ambiental para, transcurrido un cierto tiempo, habitualmente corto, volver a recuperar sus valores normales. Los resultados obtenidos no dependen tanto de si el deslumbramiento provocado es directo o indirecto como de si es estacionario o transitorio. En este segundo caso la pérdida en la capacidad de detectar contrastes es sensiblemente mayor que en el primero.

Este hecho ha servido para complementar teorías previas que afirmaban que la pérdida de sensibilidad al contraste y de la consiguiente capacidad de detectar objetos o señales luminosas se debía exclusivamente a efectos de scattering de los medios oculares, poniendo de manifiesto que hay ciertos procesos, especialmente aquellos vinculados a transitorios en la luminosidad retiniana, que dan

lugar a pérdidas de sensibilidad al contraste ligadas a la saturación de los trasductores neuronales.

La pérdida de la sensibilidad retiniana ante deslumbramientos transitorios incapacitantes puede ser una de los primerísimos y más incipientes indicios de muchas de las patologías de polo ocular posterior que desembocan en Baja Visión. Muchas de las enfermedades que generan esta situación no presentan signos claramente aparentes al paciente en sus primeros estadios, lo que da lugar a que las primeras manifestaciones perceptibles por el paciente ya estén asociadas a daños retinianos más o menos graves, pero normalmente irreversibles. La existencia de una técnica que permitiera detectar la presencia de dichas patologías en estado incipiente permitiría una más eficaz labor de la medicina preventiva y de los tratamientos tempranos.

Los estudios realizados hasta la fecha en este sentido son muy parciales, dejando muchas lagunas en la comprensión de fenómenos de recuperación de fotorreceptores ante estos deslumbramientos. Así, por ejemplo, hay muy poco conocimiento relativo a la recuperación de las prestaciones visuales extrafoveales, cuando es sabido que la mayor parte de las respuestas ante estímulos peligrosos, así como la eficacia en la movilidad de una persona requieren una correcta capacidad de detección de indicativos visuales periféricos.

Un mejor entendimiento de los fenómenos de recuperación de fotorreceptores requeriría la construcción de un dispositivo que, con resolución retiniana, permitiera inducir deslumbramientos transitorios controlados en tiempo, intensidad, cromaticidad y localización, en distintas zonas de la retina, al tiempo que cuantificar la señal luminosa umbral que cierta parte de la retina, expuesta o no a dicho deslumbramiento, es capaz de detectar transcurrido un tiempo dado entre la señal deslumbrante y la señal a detectar.

4.b.2. Influencia de la luminancia ambiental sobre la medida de la sensibilidad al contraste

La respuesta del sistema visual humano depende críticamente del patrón de luminancias existente en su campo receptivo. Es bien conocido que la luminancia del test, de su entorno y la iluminación general de la habitación donde se desarrollan las pruebas visuales tradicionales (agudeza visual y sensibilidad al contraste) juegan un importante papel en la determinación de las funciones visuales.

Hay muy pocos estudios relativos a la influencia de la luminancia del entorno sobre la medida de la agudeza visual y muchos menos los relacionados con la sensibilidad al contraste. Sin embargo, de cara a su utilización en clínica,

parecería recomendable la existencia de normativas que fijarán las condiciones ambientales de iluminación bajo las que desarrollar estas pruebas visuales.

4.b.3. Diseño de pruebas psicofísica para la evaluación del tiempo de recuperación al deslumbramiento: aplicación a la conducción

La visión es, de todos los sentidos, el que más información aporta para la seguridad en la conducción. Es importante tener en cuenta que, cuando la conducción es nocturna, las condiciones luminosas pueden hacernos mover en ámbitos de verdadera discapacidad visual, ya que las dificultades crecen y el tiempo de reacción ante posibles peligros se reduce al reducirse la luminancia de adaptación.

Hasta el momento algunos estudios han valorado la influencia del deslumbramiento en la medida de la sensibilidad al contraste con la edad o la medida del tiempo de recuperación de la sensibilidad al contraste ante fuentes deslumbrantes periféricas con la edad. Esta última medida es de gran interés para valorar el tiempo de reacción en la conducción así como la velocidad más adecuada. Shieber [12] utiliza en su estudio una luminancia del test de 22 cd/m² y un tamaño de letra de 2°. Sin embargo, cálculos sencillos revelan que, para simular más fielmente las condiciones de conducción nocturna, el test no debería superar los 15 minutos de arco y su luminancia las 2 cd/m². Estas son precisamente las características en luminancia y tamaño del test empleado en las pruebas diseñadas por nosotros. Se considera adecuado el test de sensibilidad al contraste de letras debido a que la imagen retiniana de objetos tales como árboles o automóviles contienen diferentes frecuencias espaciales y la habilidad para reconocer la forma de un objeto complejo no se puede predecir por la sensibilidad al contraste con redes sinusoidales.

La legislación actual dictamina los requisitos mínimos imprescindibles para poder conducir. Dicha normativa, que establece los procedimientos para evaluar las capacidades visuales que ha de poseer un conductor, incluye entre estos una medida de agudeza visual con deslumbramiento foveal. Esta es la razón para utilizar este tipo de deslumbramientos.

4.c. Dispositivo experimental

Por lo que respecta a la medida de la sensibilidad retiniana, un esquema básico del dispositivo que se está montando sería el representado en la figura 7. Básicamente, el dispositivo consta de una lámpara S cuya emisión es desdoblada por el separador de haz BS1 en dos haces, uno cuyo objetivo es

desensibilizar la zona retiniana deseada en nuestro sujeto y un segundo, que llamaremos de “señal” que porta la señal luminosa que ha de ser detectada por dicho sujeto. En el camino de ambos haces se colocan obturadores con precisión de apertura y cierre del entorno del milisegundo y filtros neutros que, en el caso del haz señal, permiten modificar su transmitancia hasta en tres órdenes de magnitud con pasos de 0.1 unidades logarítmicas. El separador de haz BS2 tiene como misión redirigir ambos haces hacia el ojo. El giro de dicho separador de haz y la posibilidad de variación del punto de fijación ocular permiten seleccionar tanto la zona retiniana a desensibilizar como aquella cuya sensibilidad luminosa se ha de determinar. En el montaje experimental que se está montando, tanto la etapa de filtrado del haz señal como el control de aperturas, cierres y retrasos entre ambos obturadores son controlados desde un ordenador.

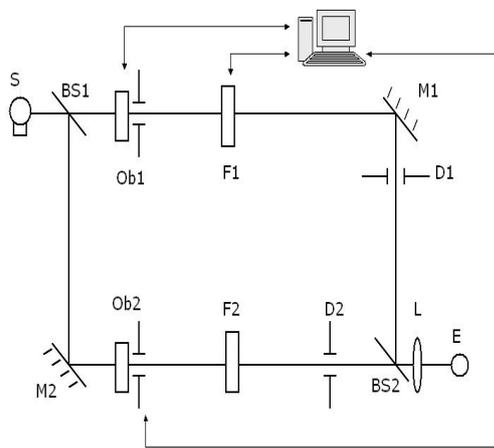


Figura 7 Montaje experimental para la medida de la sensibilidad retiniana.

Por lo que se refiere al análisis de la influencia de la luminancia ambiental sobre la medida de la sensibilidad al contraste y al diseño de pruebas psicofísicas en general, en particular las orientadas a la conducción, la figura 8 muestra un dispositivo genérico que responde a los montajes experimentales utilizados.

Se dispone una habitación con paredes blancas, aislada de la luz exterior, de medidas 5.0x2.7x2.7 m en la que se ha construido una pared de corcho blanco y se coloca una caja cuadrada de 0.7 m de lado detrás de la misma, pintada de blanco mate en su interior. En el interior de la caja se sitúan los tests de sensibilidad al contraste los cuales son visibles a través de un agujero en la pared de corcho. Unas lámparas de luz incandescente estabilizadas, también localizadas en el interior de la caja proporcionaban una iluminación constante y homogénea, con variaciones menores del 2% al test, de forma que

éste presenta una luminancia controlable entre 0 y 600 cd/m². El entorno inmediatamente exterior a la caja cuya semiamplitud angular es de unos 25° aproximadamente se puede iluminar con un número variable de lámparas incandescentes de 500 W cada una cuya intensidad es controlable por un transformador de tensión de salida variable. Para el diseño de pruebas psicofísicas que incorporan deslumbramientos foveales, son éstas lámparas las que se utilizan como fuentes deslumbrantes. Todas las luminancias se miden con un luminancímetro Spectra Pritchard.

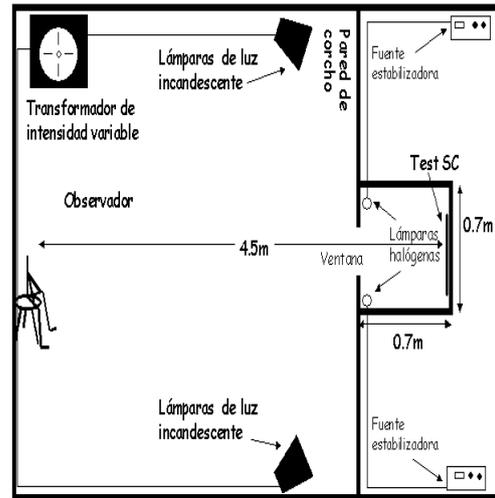


Figura 8 Montaje experimental para la medida de la sensibilidad al contraste..

En todos los casos se utilizan tests de sensibilidad al contraste basados en el conjunto de letras de Sloan, diseñados y fabricados por nosotros con saltos de contraste que oscilan entre 0.02 y 0.10 unidades logarítmicas (dependiendo del contraste en concreto). Dichos saltos son siempre inferiores a las 0.15 unidades logarítmicas que utilizan la mayoría de los tests comerciales, permitiendo apreciar variaciones más pequeñas de dicha función visual. Las razones para utilizar tests de reconocimiento en lugar de tests de detección residen, bien en que las aplicaciones psicofísicas de estas pruebas a la conducción nocturna están más vinculadas a esta labor cerebral, bien por su aplicación clínica.

El laboratorio dispone asimismo de todo el material de biomicroscopía y oftalmoscopía necesario para el examen de la salud ocular de los sujetos que participan en cada uno de los estudios.

4.d. Resultados

Como ya se ha indicado en varias ocasiones, nos encontramos en el primer año de ejecución del proyecto de puesta a punto de la medida de sensibilidad retiniana, razón por la cual no existen

resultados reseñables al respecto y dedicaremos esta sección para mostrar algunos de los resultados obtenidos en los otros proyectos.

Por lo que respecta a la evaluación de la influencia de la luminancia ambiental sobre la medida de la sensibilidad al contraste, un primer trabajo [13] publicado por este grupo demostró que dicha influencia existía de hecho y era superior incluso a la reflejada en la literatura. Los resultados provisionales obtenidos con 26 de los 30 sujetos (jóvenes, sin patología ocular y con edades entre 19 y 24 años) que participan en el presente estudio, más completo que el anterior pues incorpora medidas de la sensibilidad al contraste (SC) para luminancias de entorno que varían desde 1 a 1000 cd/m^2 y frecuencias espaciales entre 3 y 30 ciclos/grado apuntan, como resultado más relevante, una falta de significación estadística en la correlación entre la luminancia ambiental y la frecuencia espacial, es decir, se puede considerar que la influencia cuantitativa y funcional de la luminancia sobre las variaciones medidas en la sensibilidad al contraste es la misma independientemente de la variable frecuencia espacial F, tal y como refleja la figura 9. La luminancia del test en todos los casos fue de 200 cd/m^2 .

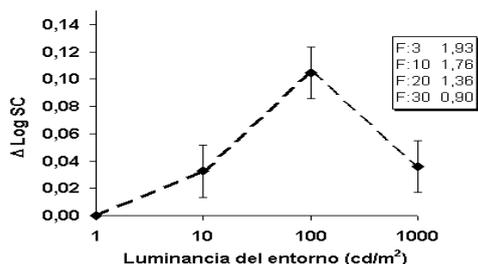


Figura 9 Variación de la sensibilidad al contraste con la luminancia del entorno y valor a 1 cd/m^2 (ver leyenda) para las distintas frecuencias espaciales F analizadas en este estudio.

El incremento de la sensibilidad al contraste con el aumento de la luminancia ambiental puede tener una simple explicación en la reducción pupilar y en el consiguiente incremento de la calidad de imagen retiniana por la reducción de las aberraciones ópticas. Un primer intento para explicar el descenso observado en la sensibilidad al contraste al pasar de 100 a 1000 cd/m^2 podría basarse en fenómenos de falta de adaptación local por la saturación de fotorreceptores en retina periférica, fenómeno que, aún probablemente presente a luminancias menores, es compensado entonces por la mejoría en la calidad de imagen. En este tipo de experimentos no son descartables los efectos del deslumbramiento, el cual, aún existente físicamente en todos los rangos de luminancia, podría ser

fisiológicamente perceptible sólo para valores altos de ésta.

Por lo que se refiere al diseño de pruebas psicofísicas y a su aplicación a la conducción, se ha diseñado una prueba [14] que evalúa el tiempo de recuperación de la sensibilidad al contraste tras un deslumbramiento foveal de 10 segundos. El resultado más relevante de este estudio fue que, pese a ser realizado exclusivamente sobre 10 sujetos ocularmente sanos con edades comprendidas entre los 25 y los 72 años, ha permitido reproducir los resultados del estudio [15] (realizado sobre 100 sujetos) que hoy por hoy es referencia en cuanto a la influencia de la edad sobre la sensibilidad al contraste y su recuperación tras deslumbramiento. En la figura 10 se observan los resultados del incremento del tiempo de recuperación ΔTRD debido al efecto del deslumbramiento para tres grupos diferentes de edad y 5 contrastes C distintos. Los resultados de esta prueba, basada en el reconocimiento de letras revelaron que, para contrastes iguales o inferiores al 10%, la edad tiene un efecto muy significativo sobre la capacidad de recuperación del sistema visual a este deslumbramiento, especialmente a partir de los 65 años, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los resultados obtenidos para los grupos más jóvenes. Las causas de este resultado podrían explicarse de nuevo en el efecto combinado de los efectos de difusión intraocular (más evidentes para las personas mayores, aún ocularmente sanos) y de la pérdida de la capacidad del sistema neuronal para adaptarse a cambios bruscos y transitorios en la iluminación retiniana.

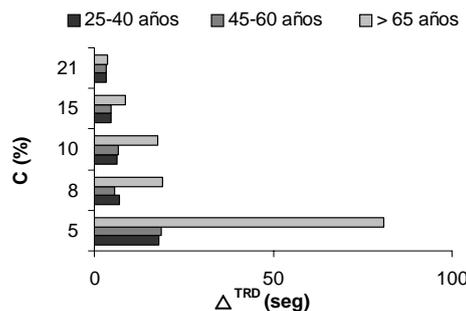


Figura 10 Variación del tiempo de recuperación por efecto de un deslumbramiento foveal de 10 s para distintos contrastes de letra y distintos grupos de edad.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer a S. González por su colaboración en el diseño del montaje experimental, así como la financiación aportada por las Consejerías de Sanidad y Educación de la Junta de Castilla y León (VA28/04, VA021A05), el

Ministerio de Educación y Ciencia (FIS2005/05451) y el Ministerio de Sanidad y Consumo (FIS-PI 98/1373, FIS-PI 01/ 0270, FIS PI 05/ 2841). El Dr. J. Merayo y D. J.T. Blanco-Mezquita desean agradecer la financiación obtenida de la red temática de investigación cooperativa en Oftalmología

“Investigación clínica y básica para la prevención de la ceguera, subproyecto cirugía refractiva (C0/13)”. Por último los autores desean agradecer Alcon-Cusi SA la donación y mantenimiento de láser excimer.