

# Systems for selective stimulation of retinal pathways

## Sistemas para la estimulación selectiva de las vías retinianas

Oscar U. Preciado<sup>1,2</sup>, María L. Sandoval-Salinas<sup>1,3</sup>, Luis A. Issolio<sup>1,2</sup>, Pablo A. Barrionuevo<sup>1,4\*</sup>

1. Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión. CONICET - Universidad Nacional de Tucumán, Argentina

2. Departamento de Luminotecnia, Luz y Visión. Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina

3. Instituto de Investigaciones en Biodiversidad Argentina. Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina

4. Allgemeine Psychologie, Justus-Liebig-Universität, Giessen, 35394, Germany

(\*) E-mail: [pbarrionuevo@herrera.unt.edu.ar](mailto:pbarrionuevo@herrera.unt.edu.ar)

Received: 12/05/2023

Accepted: 30/06/2023

DOI: 10.7149/OPA.56.2.51150

### ABSTRACT:

In this paper, we present a review of the most common current technologies to selectively stimulate retinal pathways used in visual function studies. We develop in detail the method to achieve selective stimulation of retinal pathways, its implementation in multiprimary photostimulators, the optical systems for the evaluation of the retinal response, and some of its most common applications are addressed. Finally, the technological limitations that these systems currently present are analyzed and some aspects of the calibrations used to guarantee the reliability of the data obtained with these stimulation systems are mentioned.

**Key words:** Multiprimary systems, Retina, Selective stimulation

### RESUMEN:

En este trabajo se presenta una revisión de las tecnologías actuales más comunes que se utilizan en los estudios de la función visual para estimular de manera selectiva las vías retinianas. En este marco, desarrollamos en detalle el método para lograr la estimulación selectiva de las vías retinianas, su implementación en los fotoestimuladores multiprimarios, los sistemas ópticos para la evaluación de la respuesta de la retina, y se abordan algunas de sus aplicaciones más comunes. Finalmente, se analizan las limitaciones tecnológicas que presentan estos sistemas en la actualidad y se mencionan algunos aspectos sobre las calibraciones usadas para garantizar la confiabilidad de los datos que se obtienen con estos sistemas de estimulación.

**Palabras clave:** Estimulación selectiva, Retina, Sistemas multiprimarios

### REFERENCES AND LINKS / REFERENCIAS Y ENLACES

- [1] B. B. Lee, "Paths to colour in the retina", *Clin. Exp. Optom.* **87**, 239-248 (2004).
- [2] A. J. Zele, D. Cao, "Vision under mesopic and scotopic illumination", *Front. Psychol.* **5**, 1594 (2015).
- [3] S. L. Buck, "The interaction of rod and cone signals: pathways and psychophysics", in J. S. Werner and L. M. Chalupa editors, *The New Visual Neurosciences*, The MIT Press, Cambridge, MA, pp. 485-497 (2014).
- [4] P. A. Barrionuevo, O. U. Preciado Olvera, M. L. Sandoval Salinas, L. A. Issolio, "Optical stimulation systems for studying human vision", in N. Santhi, and M. Spitschan editors, *Progress in Brain Research, Circadian and Visual Neuroscience*, Elsevier, Vol. 273, pp. 13-32 (2022).

- [5] T. D. Lamb, "Photoreceptor spectral sensitivities: Common shape in the long-wavelength region", *Vision Res.* **35**, 3083-3091 (1995).
- [6] D. E. Mitchell, W. A. H. Rushton, "Visual pigments in dichromats", *Vision Res.* **11**, 1033-1043 (1971).
- [7] O. Estévez, H. Spekreijse, "The "silent substitution" method in visual research", *Vision Res.* **22**, 681-691 (1982).
- [8] J. Pokorny, D. Cao, "Rod and cone contributions to mesopic vision", in CIE Symposium "Lighting Quality & Energy Efficiency", X035, pp. 9-20 (2010).
- [9] M. Spitschan, T. Woelders, "The method of silent substitution for examining melanopsin contributions to pupil control", *Front. Neurol.* **9**, 41 (2018).
- [10] T. W. Nugent, D. D. Carter, S. Uprety, P. Adhikari, B. Feigl, A. J. Zele, "Protocol for isolation of melanopsin and rhodopsin in the human eye using silent substitution", *STAR Protoc.* **4**, 102126 (2023).
- [11] A. Stockman, "CVRL main", <http://www.cvrl.org/>.
- [12] V. C. Smith, J. Pokorny, "The design and use of a cone chromaticity space: A tutorial", *Color Res. Appl.* **21**, 375-383 (1996).
- [13] V. C. Smith, J. Pokorny, "Spectral sensitivity of the foveal cone photopigments between 400 and 500 nm", *Vision Res.* **15**, 161-171 (1975).
- [14] P. A. Barrionuevo, D. Cao, "Contributions of rhodopsin, cone opsins, and melanopsin to postreceptoral pathways inferred from natural image statistics", *J. Opt. Soc. Am. A* **31**, A131-A139 (2014).
- [15] CIE, "CIE system for metrology of optical radiation for ipRGC-influenced responses to light", International Commission on Illumination (2018).
- [16] A. Stockman, "Cone fundamentals and CIE standards", *Curr. Opin. Behav. Sci.* **30**, 87-93 (2019).
- [17] G. Wyszecki, W. S. Stiles, *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*, Wiley (2000).
- [18] A. G. Shapiro, J. Pokorny, V. C. Smith, "Cone-rod receptor spaces with illustrations that use CRT phosphor and light-emitting-diode spectra", *J. Opt. Soc. Am. A Opt. Image Sci. Vis.* **13**, 2319-2328 (1996).
- [19] P. A. Barrionuevo, C. Tripolone, D. Cao, "Modulatory effect of melanopsin activation on contrast sensitivity and pupil response", in *ECVP 2017 Abstract: Perception: SAGE Journals*, SAGE (2017).
- [20] M. C. Tripolone, L. A. Issolio, C. Agüero, A. Lavaque, D. Cao, P. A. Barrionuevo, "Comparing flickering and pulsed chromatic pupil light responses", *JOSA A* **39**, 1505-1512 (2022).
- [21] H. Sun, J. Pokorny, V. C. Smith, "Control of the modulation of human photoreceptors", *Color Res. Appl.* **26**, S69-S75 (2001).
- [22] J. Pokorny, H. Smithson, J. Quinlan, "Photostimulator allowing independent control of rods and the three cone types", *Vis. Neurosci.* **21**, 263-267 (2004).
- [23] M. Ishihara, "Versuch einer Deutung der photoelektrischen Schwankungen am Froschauge", *Arch. Für Gesamte Physiol. Menschen Tiere* **114**, 569-618 (1906).
- [24] J. T. Martin, G. M. Boynton, D. H. Baker, A. R. Wade, M. Spitschan, "PySilSub: An open-source Python toolbox for implementing the method of silent substitution in vision and non-visual photoreception research", 2023.03.30.533110 (2023).
- [25] T. W. Nugent, A. J. Zele, "A five-primary Maxwellian-view display for independent control of melanopsin, rhodopsin, and three-cone opsins on a fine spatial scale", *J. Vis.* **22**, 20 (2022).
- [26] S. Uprety, P. Adhikari, B. Feigl, A. J. Zele, "Melanopsin photoreception differentially modulates rod-mediated and cone-mediated human temporal vision", *iScience* **25**, 104529 (2022).
- [27] S. Uprety, A. J. Zele, B. Feigl, D. Cao, P. Adhikari, "Optimizing methods to isolate melanopsin-directed responses," *JOSA A* **38**, 1051-1064 (2021).
- [28] H. Sun, J. Pokorny, V. C. Smith, "Brightness induction from rods", *J. Vis.* **1**, 4-4 (2001).
- [29] D. Cao, J. Pokorny, V. C. Smith, "Matching rod percepts with cone stimuli", *Vision Res.* **45**, 2119-2128 (2005).
- [30] D. Cao, J. Pokorny, V. C. Smith, A. J. Zele, "Rod contributions to color perception: Linear with rod contrast", *Vision Res.* **48**, 2586-2592 (2008).
- [31] D. Cao, A. J. Zele, J. Pokorny, "Dark-adapted rod suppression of cone flicker detection: Evaluation of receptor and postreceptor interactions", *Vis. Neurosci.* **23**, 531-537 (2006).
- [32] C. Huchzermeyer, J. Kremers, "Perifoveal S-cone and rod-driven temporal contrast sensitivities at different retinal illuminances", *JOSA A* **34**, 171-183 (2017).
- [33] D. Cao, A. J. Zele, J. Pokorny, "Linking impulse response functions to reaction time: Rod and cone reaction time data and a computational model", *Vision Res.* **47**, 1060-1074 (2007).



- [34] D. Cao, B. B. Lee, H. Sun, "Combination of rod and cone inputs in parasol ganglion cells of the magnocellular pathway", *J. Vis.* **10**(11), 4 (2010).
- [35] D. Cao, N. Nicandro, P. A. Barrionuevo, "A five-primary photostimulator suitable for studying intrinsically photosensitive retinal ganglion cell functions in humans", *J. Vis.* **15**, 27 (2015).
- [36] P. A. Barrionuevo, D. Cao, "Luminance and chromatic signals interact differently with melanopsin activation to control the pupil light response", *J. Vis.* **16**, 29 (2016).
- [37] A. J. Zele, B. Feigl, P. Adhikari, M. L. Maynard, D. Cao, "Melanopsin photoreception contributes to human visual detection, temporal and colour processing", *Sci. Rep.* **8**, 3842 (2018).
- [38] A. J. Zele, P. Adhikari, D. Cao, B. Feigl, "Melanopsin driven enhancement of cone-mediated visual processing", *Vision Res.* **160**, 72-81 (2019).
- [39] P. A. Barrionuevo, D. Cao, "Rod-Cone Interactions in Mesopic Spatial Vision", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **55**, 6239-6239 (2014).
- [40] I. Cormenzana Méndez, A. Martín, B. O'Donnell, D. Cao, P. A. Barrionuevo, "Temporal integration of rod signals in luminance and chromatic pathways", *JOSA A* **39**, 1782-1793 (2022).
- [41] F. S. Bayer, V. C. Paulun, D. Weiss, K. R. Gegenfurtner, "A tetrachromatic display for the spatiotemporal control of rod and cone stimulation", *J. Vis.* **15**, 15 (2015).
- [42] A. E. Allen, E. M. Hazelhoff, F. P. Martial, C. Cajochen, R. J. Lucas, "Exploiting metamerism to regulate the impact of a visual display on alertness and melatonin suppression independent of visual appearance", *Sleep* **41**(8), zsy100 (2018).
- [43] A. E. Allen, F. P. Martial, R. J. Lucas, "Form vision from melanopsin in humans", *Nat. Commun.* **10**, 2274 (2019).
- [44] P.-L. Yang, S. Tsujimura, A. Matsumoto, W. Yamashita, S.-L. Yeh, "Subjective time expansion with increased stimulation of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells", *Sci. Rep.* **8**, 11693 (2018).
- [45] T. DeLaywer, S. Tsujimura, K. Shinomori, "Relative contributions of melanopsin to brightness discrimination when hue and luminance also vary", *JOSA A* **37**, A81-A88 (2020).
- [46] A. C. Hexley, A. Ö. Yöntem, M. Spitschan, H. E. Smithson, R. Mantiuk, "Demonstrating a multi-primary high dynamic range display system for vision experiments", *JOSA A* **37**, A271-A284 (2020).
- [47] VPixx Technologies Inc., "PROPixx Multispectral", <https://vpixx.com/products/propixx-multispectral/>.
- [48] R. Lee, C. Ripamonti, "A multi-channel visual stimulator for selective photoreceptor stimulation", *J. Vis.* **22**, 3587 (2022).
- [49] G. Westheimer, "The maxwellian view", *Vision Res.* **6**, 669-682 (1966).
- [50] J. C. Maxwell, "IV. On the theory of compound colours, and the relations of the colours of the spectrum", *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* **150**, 57-84 (1860).
- [51] S. A. Burns, R. H. Webb, "Optical generation of the visual stimulus", in M. Bass editor, *Handbook of Optics*, 3rd ed., McGraw Hill, New York, NY, Vol. III: Vision Vision Optics, p. 5.1-5.27 (2010).
- [52] T. J. van den Berg, "Analysis of intraocular straylight, especially in relation to age", *Optom. Vis. Sci. Off. Publ. Am. Acad. Optom.* **72**, 52-59 (1995).
- [53] B. M. Matesanz, L. A. Issolio, I. Arranz, C. de la Rosa, J. A. Menéndez, S. Mar, J. A. Aparicio, "Temporal retinal sensitivity in mesopic adaptation", *Ophthalmic Physiol. Opt.* **31**, 615-624 (2011).
- [54] A. H. Gloriani, B. M. Matesanz, P. A. Barrionuevo, I. Arranz, L. Issolio, S. Mar, J. A. Aparicio, "Influence of background size, luminance and eccentricity on different adaptation mechanisms", *Vision Res.* **125**, 12-22 (2016).
- [55] P. A. Barrionuevo, B. M. Matesanz, A. H. Gloriani, I. Arranz, L. Issolio, S. Mar, J. A. Aparicio, "Effect of eccentricity and light level on the timing of light adaptation mechanisms", *JOSA A* **35**, B144-B151 (2018).
- [56] C. Hogg, "Stimulus devices, calibration, and measurement of light", in J. R. Heckenlively and G. B. Arden editors, *Principles and Practice of Clinical Electrophysiology of Vision*, MIT Press, Cambridge, MA, Vol. 19, pp. 265-283 (2006).
- [57] P. A. Barrionuevo, N. Nicandro, J. J. McAnany, A. J. Zele, P. Gamlin, D. Cao, "Assessing Rod, Cone and Melanopsin Contributions to Human Pupil Flicker Responses", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. IOVS-13-13252* (2014).
- [58] C. Tripolone, P. Romano, L. A. Issolio, P. A. Barrionuevo, "Desarrollo de un sistema portátil para medir el tamaño pupilar bajo estimulación monocromática dinámica", in *Libro de Resúmenes ECIFACET 2019*, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología, Universidad Nacional de Tucumán (2019).



- [59] D. L. McCulloch, M. F. Marmor, M. G. Brigell, R. Hamilton, G. E. Holder, R. Tzekov, M. Bach, "ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography (2015 update)", *Doc. Ophthalmol.* **130**, 1-12 (2015).
- [60] A. G. Robson, J. Nilsson, S. Li, S. Jalali, A. B. Fulton, A. P. Tormene, G. E. Holder, S. E. Brodie, "ISCEV guide to visual electrodiagnostic procedures", *Doc. Ophthalmol.* **136**, 1-26 (2018).
- [61] I. Perlman, M. Kondo, E. Chelva, A. G. Robson, G. E. Holder, "ISCEV extended protocol for the S-cone ERG", *Doc. Ophthalmol.* **140**, 95-101 (2020).
- [62] J. Rabin, J. Lovell, N. Tahvilian, A. Ku, T. Contreras, J. Carachure, L. Geabou, J. Sies, D. Nguyen, "Putative retinal and cortical potentials from melanopsin sensitive ganglion cells", *Eye* 1-2 (2020).
- [63] P. A. Barrionuevo, J. J. McAnany, A. J. Zele, D. Cao, "Non-linearities in the Rod and Cone Photoreceptor Inputs to the Afferent Pupil Light Response", *Front. Neurol.* **9**, 1140 (2018).
- [64] P. A. Barrionuevo, L. A. Issolio, C. Tripolone, "Photoreceptor contributions to the human pupil light reflex", *J. Photochem. Photobiol.* **15**, 100178 (2023).
- [65] S. Lei, H. C. Goltz, M. Chandrakumar, A. M. F. Wong, "Full-field chromatic pupillometry for the assessment of the postillumination pupil response driven by Melanopsin-containing Retinal Ganglion Cells", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **55**, 4496-4503 (2014).
- [66] J. C. Park, J. J. McAnany, "Effect of stimulus size and luminance on the rod-, cone-, and melanopsin-mediated pupillary light reflex", *J. Vis.* **15**, 13 (2015).
- [67] R. Kardon, S. C. Anderson, T. G. Damarjian, E. M. Grace, E. Stone, A. Kawasaki, "Chromatic Pupillometry in Patients with Retinitis Pigmentosa", *Ophthalmology* **118**, 376-381 (2011).
- [68] B. Feigl, A. J. Zele, S. M. Fader, A. N. Howes, C. E. Hughes, K. A. Jones, R. Jones, "The post-illumination pupil response of melanopsin-expressing intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in diabetes", *Acta Ophthalmol. (Copenh.)* **90**, e230-e234 (2012).
- [69] A. Kawasaki, F. L. Munier, L. Leon, R. H. Kardon, "Pupillometric Quantification of Residual Rod and Cone Activity in Leber Congenital Amaurosis", *Arch. Ophthalmol.* **130**(6), 798-800 (2012).
- [70] G. L. Duque-Chica, C. P. B. Gracitelli, A. L. A. Moura, B. V. Nagy, K. S. Vidal, A. J. Paranhos, D. F. Ventura, "Inner and outer retinal contributions to pupillary light response: Correlation to functional and morphologic parameters in glaucoma", *J. Glaucoma* **27**, 723 (2018).
- [71] M. C. Tripolone, L. Issolio, C. Agüero, A. Lavaque, D. Pérez, P. Barrionuevo, "Assessment of flickering chromatic pupillometry in patients with risk of glaucoma", *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **63**, 127-A0289 (2022).
- [72] C. Kelbsch, T. Strasser, Y. Chen, B. Feigl, P. D. Gamlin, R. Kardon, T. Peters, K. A. Roeklein, S. R. Steinhauer, E. Szabadi, A. J. Zele, H. Wilhelm, B. J. Wilhelm, "Standards in pupillography", *Front. Neurol.* **10**, 129 (2019).
- [73] A. V. Rukmini, D. Milea, J. J. Gooley, "Chromatic pupillometry methods for assessing photoreceptor health in retinal and optic nerve diseases", *Front. Neurol.* **10**, 76 (2019).
- [74] I. J. Murray, J. Kremers, D. McKeefry, N. R. A. Parry, "Paradoxical pupil responses to isolated M-cone increments", *JOSA A* **35**, B66-B71 (2018).
- [75] S. Tsujimura, K. Ukai, D. Ohama, A. Nuruki, K. Yunokuchi, "Contribution of human melanopsin retinal ganglion cells to steady-state pupil responses", *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* **277**, 2485-2492 (2010).
- [76] F. Viénot, S. Bailacq, J. L. Rohellec, "The effect of controlled photopigment excitations on pupil aperture", *Ophthalmic Physiol. Opt. J. Br. Coll. Ophthalmic Opt. Optom.* **30**, 484-491 (2010).
- [77] J.-H. Lee, I.-C. Cheng, H. Hua, S.-T. Wu, *Introduction to Flat Panel Displays*, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ (2020).
- [78] M. N. Akram, X. Chen, "Speckle reduction methods in laser-based picture projectors", *Opt. Rev.* **23**, 108-120 (2016).
- [79] J. Pauwels, G. Verschaffelt, "Speckle reduction in laser projection using microlens-array screens", *Opt. Express* **25**, 3180-3195 (2017).
- [80] D.-K. Yang, S.-T. Wu, *Fundamentals of Liquid Crystal Devices*, John Wiley & Sons, Hoboken, NJ (2014).
- [81] J. M. Florence, L. A. Yoder, "Display system architectures for digital micromirror device (DMD)-based projectors" in *Projection Displays II*, International Society for Optics and Photonics, Vol. 2650, pp. 193-208 (1996).
- [82] H. Nyquist, "Certain Factors Affecting Telegraph Speed", *Trans. Am. Inst. Electr. Eng.* **XLIII**, 412-422 (1924).
- [83] C. E. Shannon, "Communication in the Presence of Noise", *Proc. IRE* **37**, 10-21 (1949).
- [84] A. Stockman, L. T. Sharpe, "Into the twilight zone: the complexities of mesopic vision and luminous efficiency", *Ophthalmic Physiol. Opt.* **26**, 225-239 (2006).



- [85] C. W. Tyler, "Colour bit-stealing to enhance the luminance resolution of digital displays on a single pixel basis", *Spat. Vis.* **10**, 369-378 (1997).
- [86] O. Packer, L. C. Diller, J. Verweij, B. B. Lee, J. Pokorny, D. R. Williams, D. M. Dacey, D. H. Brainard, "Characterization and use of a digital light projector for vision research", *Vision Res.* **41**, 427-439 (2001).
- [87] J. E. Farrell, H. Jiang, B. A. Wandell, "Characterization of visual stimuli using the standard display model" in *Handbook of Visual Optics, Volume One*, CRC Press, pp. 105-114 (2017).
- [88] S. Wilkinson, "LCD, LCoS, or DLP: Choosing a projector imaging technology", <https://www.projectorcentral.com/Digital-Projector-Imaging-Technologies-Explained.htm>.
- [89] E. H. A. Langendijk, S. Swinkels, D. Eliav, M. Ben-Chorin, "Suppression of color breakup in color-sequential multi-primary projection displays", *J. Soc. Inf. Disp.* **14**, 325-329 (2006).
- [90] B. Kaur, J. Olson, E. A. Flug, "Display MTF measurements based on scanning and imaging technologies and its importance in the application space", in *Infrared Imaging Systems: Design, Analysis, Modeling, and Testing XXVII*, SPIE, Vol. 9820, pp. 229-239 (2016).
- [91] L. Seime, J. Y. Hardeberg, "Colorimetric characterization of LCD and DLP projection displays", *J. Soc. Inf. Disp.* **11**, 349-358 (2003).
- [92] H. Ito, M. Ogawa, S. Sunaga, "Evaluation of an organic light-emitting diode display for precise visual stimulation," *J. Vis.* **13**, 6 (2013).
- [93] D. H. Brainard, D. G. Pelli, T. Robson, "Display Characterization", in *Encyclopedia of Imaging Science and Technology*, American Cancer Society (2002).

---

## 1. Introducción

En los estudios en los que se investiga cómo el sistema nervioso de los seres humanos procesa la radiación óptica, generalmente se desarrollan experimentos que requieren una caracterización física y un control cuidadoso de la estimulación radiante. A lo largo del tiempo, la comunidad científica ha empleado diferentes configuraciones ópticas, dependiendo del atributo que buscaban estudiar y del nivel de detalle que necesitaba alcanzar, siempre dependiendo de la tecnología disponible. El uso de computadoras personales junto con diferentes tecnologías de visualización y arreglos ópticos creados en los laboratorios, facilitó el desarrollo de este campo. Sin embargo, estos avances requirieron de procesos de caracterización y calibración de los nuevos sistemas para garantizar la fiabilidad de los parámetros y de las variables objeto de estudio. En ese contexto, se describen las tecnologías actuales más comunes que se utilizan en los estudios de la función visual para estimular de manera selectiva las vías retinianas.

Al hablar de las vías de la retina por las que se transmite la información visual, se debe tener en cuenta que este tejido no solo se limita a transformar la radiación que llega a los fotorreceptores en señales neuronales, sino que también lleva a cabo otros varios procesos fisiológicos complejos, como la adaptación a la iluminación ambiente y un primer procesamiento de la información espacial y cromática. En una descripción somera de esas vías, se puede comenzar con los fotorreceptores. Estos se dividen en fotorreceptores de la retina externa: conos (de tres tipos de acuerdo a su rango de longitud de onda de sensibilidad espectral: L, del inglés *long*, M, del inglés *medium*, y S, del inglés *short*) y bastones, y fotorreceptores de la retina interna: las células ganglionares intrínsecamente fotosensibles (ipRGCs, del inglés *intrinsically photosensitive Retinal Ganglion Cells*), que contienen el fotorpigmento melanopsina, por lo que también se las denomina células melanopsínicas. Los fotorreceptores de la retina externa transmiten señales a las células bipolares que a su vez establecen una conexión directa con las células ganglionares encargadas de enviar la información al cerebro central y luego a la corteza visual. Además, existen otras vías de procesamiento como la mediada por las células horizontales, que establecen conexiones en dirección horizontal entre conos y bastones y hacia las células bipolares en la llamada capa plexiforme externa. A su vez, las células amacrinas transmiten señales en dos direcciones: verticalmente, desde las células bipolares hacia las ganglionares, u horizontalmente en la capa plexiforme interna. Luego, la información visual se transmite desde la retina al cerebro a través de tres vías post-receptoras (para una revisión, ver Lee [1]). La vía magnocelular consta de células bipolares difusas y células ganglionares parasol e integra señales de conos L y M para mediar la información de luminancia y de movimiento. Por su parte, la vía parvocelular incluye células bipolares y ganglionares enanas y combina de manera antagónica las señales de conos L y M para proporcionar información cromática rojo-verde, dando cuenta a su vez de la visión de detalles. Finalmente, la vía koniocelular involucra células bipolares de conos S y células ganglionares biestratificadas pequeñas y combina antagónicamente señales de conos S con señales de conos L y M para proporcionar



información cromática azul-amarilla. Los bastones también contribuyen a las tres vías post-receptoras según lo confirman estudios fisiológicos y psicofísicos [2,3]. Por su parte, las células melanopsínicas son tradicionalmente relacionadas a los procesos no-formadores de imagen, como el reflejo pupilar a la luz y la sincronización del ciclo circadiano.

En esta revisión, describimos las tecnologías actuales más comunes que se utilizan en los estudios de la función visual para estimular de manera selectiva las vías retinianas. Para ello, primero describimos el Método de Estimulación Selectiva de vías retinianas en detalle y los fotoestimuladores multiprimarios usados para tal fin. Luego, abordamos los sistemas ópticos para la evaluación de la respuesta de la retina y algunas de sus aplicaciones más comunes. Estas configuraciones para la estimulación óptica, son comunes hoy en día en los laboratorios de investigación de la visión y pueden ser útiles en investigaciones circadianas [4]. Finalmente, analizamos las limitaciones tecnológicas que presentan estos sistemas en la actualidad y mencionamos algunos aspectos sobre las calibraciones necesarias para asegurar la confiabilidad de los datos obtenidos con estos sistemas de estimulación.

## 2. Método de Estimulación Selectiva (MES)

La respuesta eléctrica de un fotorreceptor resulta de la integración del total de cuantos de luz absorbidos en su rango de longitud de onda de sensibilidad espectral. La sensibilidad no es constante en este rango, sino que más bien tiene una forma de campana (Fig. 1A), debido principalmente al modelo basado en la absorción de la vitamina A [5]. Por lo tanto, la respuesta fotorreceptora no depende de la longitud de onda de la luz sino de la cantidad de fotopigmento excitado. Esta propiedad de los fotorreceptores se denomina principio de univariación [6] y, junto con la naturaleza de la superposición de las sensibilidades espectrales de los fotorreceptores, ha llevado al desarrollo del Método de Estimulación Selectiva (conocida en la literatura anglosajona como *Silent Substitution* [7], y que denominaremos de ahora en más como MES). Con esta técnica, es posible producir de manera eficaz excitaciones independientes para cada tipo de fotorreceptor y manteniendo la misma adaptación para todos los fotorreceptores estimulados (Fig. 1B). En esta técnica, las radiancias de  $n$  fuentes luminosas se modulan para silenciar la respuesta de hasta  $n-1$  tipos de fotorreceptores. Esto significa que, aunque haya cambios en la intensidad de los primarios, estos cambios no producen un cambio de respuesta o excitación en los fotorreceptores silenciados. En cambio, dichas modificaciones de intensidad de los primarios, generan un cambio de excitación controlado en el tipo de fotorreceptor no silenciado [8-10]. Para aplicar el MES, el estímulo debe estar compuesto por fuentes de luz independientes y espectralmente diferentes, por lo que usualmente se recurre a los LEDs. Por ejemplo, en la región mesópica baja, en la que están activos los bastones y los conos S, M y L [2], el sistema debe tener al menos cuatro tipos de LEDs. En el rango mesópico alto, se deben emplear sistemas con cinco primarios.

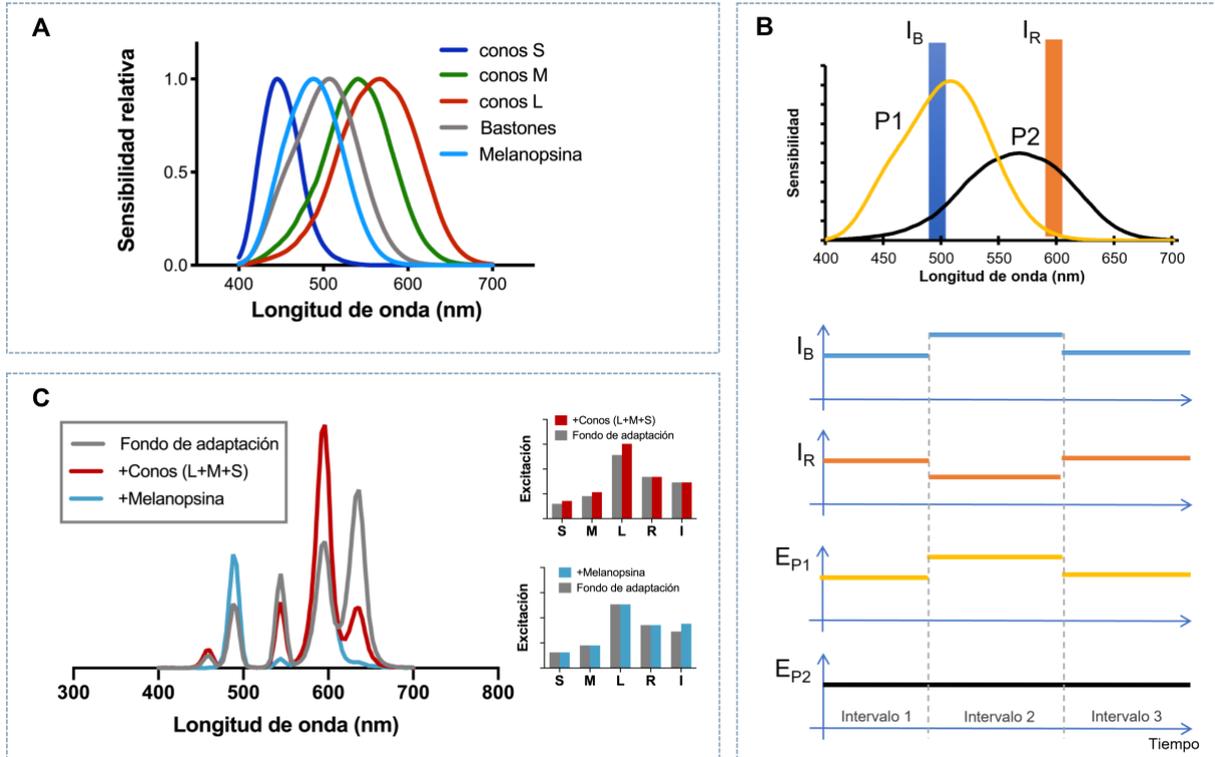


Fig.1. A) Curvas de sensibilidad espectral de los fotorreceptores en seres humanos; se puede ver el amplio solapamiento de las curvas, por lo que cualquier luz (por más monocromática que sea) generará una excitación de más de un tipo de fotorreceptor. B) Ejemplificación conceptual del MES para dos tipos de fotorreceptores (P1 y P2). Dos fuentes luminosas espectralmente distintas con intensidades  $I_B$  e  $I_R$ , producen una determinada excitación (E) de P1 y P2 (intervalo de tiempo 1). En el intervalo 2, un aumento de  $I_B$  produce un aumento de excitación en P1 y P2; sin embargo, una disminución de  $I_R$  genera una merma de ambas excitaciones. Debido a que  $I_R$  excita más eficazmente a P2 que a P1, por su ubicación espectral, se puede manipular  $I_R$  para que la merma compense el aumento producido por  $I_B$ . En el intervalo 3,  $I_B$  e  $I_R$  vuelven a niveles del intervalo 1, con lo que P1 genera una respuesta de pulso, mientras P2 no genera cambios de excitación o respuesta en los tres intervalos. En el panel C) se grafican las distribuciones espectrales de primarios reales cuando se aplica el MES para obtener contrastes de estimulación para conos (curva roja) o para melanopsina (curva celeste) respecto de un fondo de adaptación (curva gris). Notar que los valores de excitación de los otros fotorreceptores no cambian para cada caso (gráficos de barras).

Una de las suposiciones fundamentales en la aplicación del MES es que el sistema de estimulación se comporta de manera lineal, por lo tanto, la linealización es importante antes de aplicar el método (ver sección 5).

Para aplicar el MES, es necesario conocer la distribución espectral de los primarios a su máximo valor, a lo que llamamos  $\hat{P}$ . Por otro lado, se deben conocer las sensibilidades espectrales de los fotorreceptores ( $\bar{s}$ ,  $\bar{m}$ ,  $\bar{l}$ ,  $\bar{r}$ , y  $\overline{mel}$ ). En el caso de seres humanos, estas sensibilidades están tabuladas y pueden encontrarse en la web (p. ej., [11]). De acuerdo al tipo de normalización empleada, se definen los conjuntos de sensibilidades. Clásicamente, la normalización de acuerdo al área de integración propuesta por Smith y Pokorny para los conos [12,13], fue usada por investigadores/as en visión y extendida a los otros fotorreceptores [8,14]. Sin embargo, recientemente una nueva normalización, de acuerdo al valor máximo, fue adoptada por la Comisión Internacional de la Iluminación (CIE, del francés *Commission Internationale de l'Éclairage*) y es la que está adquiriendo mayor auge [15,16].

La excitación de cada tipo de fotorreceptor se define matemáticamente como la integral de la radiación a la que es sensible [17,18] (Ec. 1).

$$\begin{aligned}
 S &= \int \hat{P}(\lambda) \bar{s}(\lambda) d\lambda \\
 M &= \int \hat{P}(\lambda) \bar{m}(\lambda) d\lambda \\
 L &= \int \hat{P}(\lambda) \bar{l}(\lambda) d\lambda \\
 R &= \int \hat{P}(\lambda) \bar{r}(\lambda) d\lambda \\
 I &= \int \hat{P}(\lambda) \overline{mel}(\lambda) d\lambda
 \end{aligned} \tag{1}$$

Como generalmente se obtienen las distribuciones espectrales en forma discreta, entonces se puede calcular la excitación de cada primario usando la sumatoria (Ec. 2).

$$\begin{aligned} S_j &= \sum \hat{P}_j(\lambda) \bar{s}(\lambda) \Delta\lambda \\ M_j &= \sum \hat{P}_j(\lambda) \bar{m}(\lambda) \Delta\lambda \\ L_j &= \sum \hat{P}_j(\lambda) \bar{l}(\lambda) \Delta\lambda \\ R_j &= \sum \hat{P}_j(\lambda) \bar{r}(\lambda) \Delta\lambda \\ I_j &= \sum \hat{P}_j(\lambda) \overline{mel}(\lambda) \Delta\lambda \end{aligned} \quad (2)$$

Donde  $j$  toma los valores de 1 hasta  $n$ . Por lo tanto, para cada uno de los primarios se puede calcular la máxima excitación en cada tipo de fotorreceptor, generando así una matriz, que usualmente se denomina matriz  $A$  (Ec. 3).

$$A = \begin{bmatrix} S_1 & \cdots & I_1 \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ S_n & \cdots & I_n \end{bmatrix} \quad (3)$$

En el caso de contar con 5 primarios la matriz  $A$  queda de esta forma (Ec. 4):

$$A = \begin{bmatrix} S_1 & M_1 & L_1 & R_1 & I_1 \\ S_2 & M_2 & L_2 & R_2 & I_2 \\ S_3 & M_3 & L_3 & R_3 & I_3 \\ S_4 & M_4 & L_4 & R_4 & I_4 \\ S_5 & M_5 & L_5 & R_5 & I_5 \end{bmatrix} \quad (4)$$

La variación de las intensidades de los primarios puede representarse matemáticamente como un conjunto de factores que van de 0 a 1 y que llamamos  $p$ . Estos valores pueden agruparse en un vector que se denomina  $\alpha$ . La ecuación 5 muestra el vector en el caso de 5 primarios.

$$\alpha = [p_1 \ p_2 \ p_3 \ p_4 \ p_5] \quad p_i \text{ entre } [0 - 1] \quad (5)$$

Por lo tanto, para cada valor de dimerización  $p$ , pueden obtenerse los valores de excitación de fotorreceptores usando álgebra matricial (Ec. 6).

$$\beta = \alpha * A \quad (6)$$

Donde  $\beta$  representa un vector conteniendo las excitaciones  $[S, M, L, R, I]$  y cada excitación se calcula de la siguiente manera para el caso de 5 primarios (Ec. 7):

$$\begin{aligned} S &= p_1 \sum \hat{P}_1(\lambda) \bar{s}(\lambda) \Delta\lambda + p_2 \sum \hat{P}_2(\lambda) \bar{s}(\lambda) \Delta\lambda + p_3 \sum \hat{P}_3(\lambda) \bar{s}(\lambda) \Delta\lambda + p_4 \sum \hat{P}_4(\lambda) \bar{s}(\lambda) \Delta\lambda + p_5 \sum \hat{P}_5(\lambda) \bar{s}(\lambda) \Delta\lambda \\ M &= p_1 \sum \hat{P}_1(\lambda) \bar{m}(\lambda) \Delta\lambda + p_2 \sum \hat{P}_2(\lambda) \bar{m}(\lambda) \Delta\lambda + p_3 \sum \hat{P}_3(\lambda) \bar{m}(\lambda) \Delta\lambda + p_4 \sum \hat{P}_4(\lambda) \bar{m}(\lambda) \Delta\lambda + p_5 \sum \hat{P}_5(\lambda) \bar{m}(\lambda) \Delta\lambda \\ L &= p_1 \sum \hat{P}_1(\lambda) \bar{l}(\lambda) \Delta\lambda + p_2 \sum \hat{P}_2(\lambda) \bar{l}(\lambda) \Delta\lambda + p_3 \sum \hat{P}_3(\lambda) \bar{l}(\lambda) \Delta\lambda + p_4 \sum \hat{P}_4(\lambda) \bar{l}(\lambda) \Delta\lambda + p_5 \sum \hat{P}_5(\lambda) \bar{l}(\lambda) \Delta\lambda \\ R &= p_1 \sum \hat{P}_1(\lambda) \bar{r}(\lambda) \Delta\lambda + p_2 \sum \hat{P}_2(\lambda) \bar{r}(\lambda) \Delta\lambda + p_3 \sum \hat{P}_3(\lambda) \bar{r}(\lambda) \Delta\lambda + p_4 \sum \hat{P}_4(\lambda) \bar{r}(\lambda) \Delta\lambda + p_5 \sum \hat{P}_5(\lambda) \bar{r}(\lambda) \Delta\lambda \\ I &= p_1 \sum \hat{P}_1(\lambda) \overline{mel}(\lambda) \Delta\lambda + p_2 \sum \hat{P}_2(\lambda) \overline{mel}(\lambda) \Delta\lambda + p_3 \sum \hat{P}_3(\lambda) \overline{mel}(\lambda) \Delta\lambda + p_4 \sum \hat{P}_4(\lambda) \overline{mel}(\lambda) \Delta\lambda + p_5 \sum \hat{P}_5(\lambda) \overline{mel}(\lambda) \Delta\lambda \end{aligned} \quad (7)$$

Como  $A$  es conocida y divisible, entonces, pueden calcularse los valores  $p$ , a partir de una deseada excitación de cada fotorreceptor (Ec. 8).

$$\alpha = \beta * A^{-1} \quad (8)$$

Un ejemplo usando primarios reales basados en LEDs con filtros dicróicos [19,20] se puede ver en la Fig. 1C. En este arreglo de cinco primarios, se presentan dos casos. Caso 1: La generación de un contraste de 18% de un estímulo test ( $I_t$ ) sobre un fondo de adaptación ( $I_b$ ) sólo para la activación melanopsínica, mientras se mantiene constante la activación de los otros fotorreceptores. Caso 2: La generación de un contraste de excitación de 19% de conos L, M y S en forma combinada y simultánea (estímulo test [ $S_b$ ,  $M_t$  y  $L_t$ ] sobre un fondo de adaptación [ $S_b$ ,  $M_b$  y  $L_b$ ]), mientras los bastones y la melanopsina no cambian su respuesta.

Matemáticamente se deben definir el vector de línea base o fondo de adaptación ( $\beta_b$ ) y, para cada caso, el vector que contiene las excitaciones cambiantes (caso 1:  $\beta_{mel}$ , caso 2:  $\beta_{LMS}$ ) (Ec. 9).

$$\begin{aligned}\beta_b &= [S_b \ M_b \ L_b \ R_b \ I_b] \\ \beta_{mel} &= [S_b \ M_b \ L_b \ R_b \ I_t] \\ \beta_{LMS} &= [S_t \ M_t \ L_t \ R_b \ I_b]\end{aligned}\tag{9}$$

Empleando la ecuación 8 se obtienen los correspondientes vectores de dimerización de los primarios ( $\alpha_b$ ,  $\alpha_{mel}$  y  $\alpha_{LMS}$ ). Es importante aclarar que el rango de posibles valores  $p$  que generan un contraste de estimulación para cualquier fotorreceptor, es acotado. Esta cota se denomina gamut y depende, entre otras cosas, del ancho de banda de los primarios. Mientras más monocromáticas las fuentes luminosas, más gamut, es decir mayores contrastes de excitación.

El MES se lleva a la práctica mediante los llamados fotoestimuladores multiprimarios que fueron introducidos por primera vez por Pokorny y Smith [21,22]. Los sistemas fotoestimuladores de cuatro primarios permitieron controlar de forma independiente la estimulación de los bastones y los conos L, M y S y de esta forma evaluar el funcionamiento de los fotorreceptores para un mismo nivel de adaptación, locus retiniano y cromaticidad, así como controlar la intrusión de los fotorreceptores en las vías postreceptoras [8]. Aunque evidencias de este método datan de principios del siglo XX [23], recientemente se han generado nuevos desarrollos metodológicos para facilitar y perfeccionar su implementación. Por ejemplo, se diseñaron nuevos instrumentos para lograr un control temporal o espacio-temporal (resumen disponible en Barrionuevo et al. [4]), y recientemente se sumaron contribuciones sobre la aplicación del MES [10,24,25]. Este control de los fotorreceptores es fundamental porque la rodopsina y la melanopsina pueden interactuar para alterar las respuestas visuales [26]. Para garantizar un aislamiento correcto de los fotorreceptores mediante MES, también se requieren calibraciones del observador para corregir las diferencias individuales del observador estándar CIE (p. ej., [27]). Recientemente, el laboratorio del Dr. Zele ha desarrollado un protocolo para controlar la melanopsina, la rodopsina y las tres opsinas de conos utilizando cinco (o más) sistemas primarios [25]. Para más información sobre el MES y los sistemas multiprimarios, el lector puede dirigirse a Spitschan y Woelders [9] y Nugent et al. [10].

## 2.a. Fotoestimuladores de campo uniforme

El fotoestimulador de cuatro primarios mencionado, consiste en dos brazos ópticos, uno para producir un campo central y otro para iluminar un campo circundante, y ha sido utilizado en estudios psicofísicos y electrofisiológicos para estudiar los cambios en la claridad percibida en una región de la retina por efecto de la iluminación simultánea de otras regiones de la misma [28], la percepción del color [29], la discriminación cromática [30], la percepción del parpadeo [31], la sensibilidad al contraste temporal de los fotorreceptores [21,32], el procesamiento temporal [33], la interacción bastón-cono [3] y la fase inicial del procesamiento visual [34], entre otros estudios.

Posteriormente, se ha desarrollado un fotoestimulador de cinco primarios que produce altos niveles de luz fotópica (>2000 td) para el estudio de la activación de la melanopsina en las ipRGCs [35]. El alto nivel de luz producido y el control temporal y espectral hacen que el fotoestimulador de cinco primarios sea adecuado para la investigación circadiana. Con este dispositivo se estudió la contribución de la melanopsina a las respuestas pupilares [36] y al procesamiento visual [37,38].

## 2.b. Pantallas con múltiples primarios

Los fotoestimuladores basados en LEDs supusieron una gran ventaja técnica para estudiar la interacción retiniana y las vías post-retinianas en el dominio temporal y a diferentes niveles de iluminación. Sin embargo, con los arreglos de LEDs es difícil generar imágenes típicas de la estimulación en psicofísica como

las redes sinusoidales o cualquier otro patrón espacio-temporal complejo. Por esa razón, se busca construir estimuladores con múltiples pantallas que generen imágenes formadas con píxeles multiprimarios. La inclusión de más primarios es conveniente para generar unas excitaciones fotorreceptora y post-receptora (ipRGCs) independientes y combinadas. En las pantallas con múltiples primarios, cada píxel puede tratarse como un fotoestimulador independiente, por lo que, aplicando la estimulación selectiva de vías retinianas, es posible generar excitaciones controladas para fotorreceptores aislados o combinados y estudiar su variación espacio-temporal. A continuación, describimos diferentes enfoques para conseguir una pantalla con múltiples primarios con fines de investigación.

#### *Sistemas basados en monitores*

El enfoque presentado por Barrionuevo y Cao [39] consistía en superponer por medio de un semi espejo las imágenes de dos monitores colocados a 90° uno del otro para producir una visualización de cuatro primarios (Fig. 2). Los dos monitores se cubrieron con diferentes filtros espectrales para obtener primarios con diferentes distribuciones espectrales, particularmente en la región de longitud de onda media del rango visible. Se utilizaron los fósforos Azul (B) y Verde (G) del primer monitor y Verde (G) y Rojo (R) del segundo monitor. Tras la superposición, se obtuvieron cuatro primarios (B, G1, G2 y R) en cada píxel. Una ventaja de este enfoque es la alineación casi perfecta en la parte central de la pantalla; sin embargo, en los bordes es más difícil de conseguir la alineación debido a la curvatura de las pantallas CRT utilizadas por los autores. Con este sistema, se determinaron las funciones de sensibilidad al contraste espacial de bastones y conos [39] y se obtuvieron mediciones del tiempo de reacción de los bastones combinadas con señales post-receptoras [40].

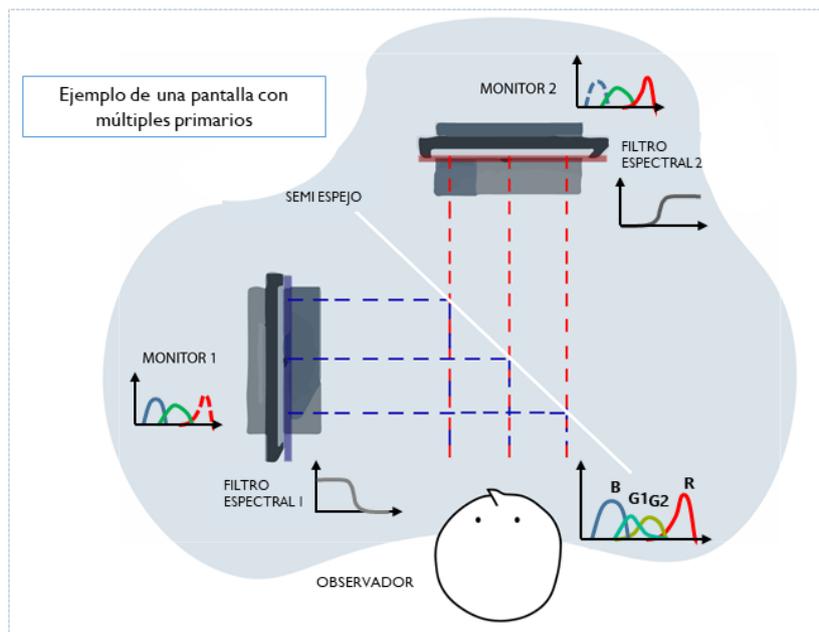


Fig. 2. Disposición óptica de un arreglo de multiprimarios. Las imágenes de dos monitores se superponen y mediante filtros espectrales se modifica la composición espectral de los primarios G para tener cuatro primarios en cada píxel (la representación se basa en la propuesta del laboratorio de Cao [39,40]).

#### *Sistemas basados en proyectores*

Bayer y colaboradores [41] utilizaron dos proyectores DMD (DMD, del inglés *Digital Micromirror Device*) fabricados en laboratorio para producir un sistema de cuatro primarios. Cada proyector contenía tres fuentes de luz LED independientes para generar los primarios RGB. En su configuración, la composición espectral del primario G se modifica entre ambos proyectores. Utilizaron los primarios B y G de un proyector, y los primarios G y R del otro proyector, para obtener en cada píxel los primarios B, G1, G2 y R. Para evitar la inclinación de la proyección, los autores aprovecharon que las lentes de los proyectores tienen un desplazamiento vertical y giraron 180° el proyector superior, para después montarlos uno encima del otro.

Allen y colaboradores [42] adoptaron un enfoque similar. Estos autores utilizaron dos proyectores DLP (del inglés, *Digital Light Processing*) disponibles en el mercado e insertaron filtros dentro de ellos para conseguir hasta cinco primarios diferentes con proyecciones superpuestas. Estudiaron la activación de la melanopsina a un nivel de luminancia fotópica de 79 cd/m<sup>2</sup> para explorar el efecto en la somnolencia del observador y los niveles de melatonina [42] en estudios en los que se usan grillas sinusoidales en la periferia para analizar la potencialidad de la intervención de la melanopsina en la visión espacial con luminancias mayores a 200 cd/m<sup>2</sup> [43].

También se propuso un sistema formado por las imágenes superpuestas de tres proyectores LCD (del inglés, *Liquid Crystal Display*) de gran tamaño apilados para conseguir cuatro primarios de alta intensidad [44,45], obteniéndose primarios espectralmente estrechos utilizando filtros al frente de cada proyector. Las tres proyecciones se visualizaron sobre una placa difusora blanca, que actuaba como pantalla transmisiva para el observador, y los estímulos se limitaron a una región homogénea de la pantalla. Con este sistema, se evaluó el efecto de la activación de la melanopsina tanto en la percepción del tiempo [44] como en la percepción de la luminosidad [45].

Recientemente, se reportó el desarrollo de un sistema con cinco primarios para el control en una detallada escala espacial [25]. Este sistema se basa en cinco proyectores DLP controlados mediante un arreglo de compuertas electrónicas programable (FPGA, del inglés *Field Programmable Gate Array*), de tal manera que la salida de video contiene los cinco primarios simultáneamente. Los estímulos producidos son proyectados mediante visión maxwelliana (ver sección 3.a) en la retina del observador.

#### *Sistemas de modulación doble*

Hexley y colaboradores [46] desarrollaron una pantalla de seis primarios, basada en el efecto combinado de dos proyectores DLP modificados y un panel transmisor LCD. Con este sistema, también pudieron mejorar el rango dinámico de la luz mediante la eliminación de la rueda de filtros de color, consiguiendo una luminancia máxima de 3200 cd/m<sup>2</sup>. La luz de ambos proyectores (uno apilado sobre el otro) pasa por diferentes filtros y después se proyecta a una lente de Fresnel colocada entre dos difusores antes de llegar al panel LCD transmisor. Debido al diseño óptico, necesitaron una corrección trapezoidal y definieron una zona de la pantalla donde los primarios tienen el máximo solapamiento. Además, la resolución espacial se ve comprometida por la utilización de los difusores. Este sistema es adecuado para la estimulación de la melanopsina, alcanzando contrastes tan altos como del 98% para este fotopigmento.

#### *Otras consideraciones*

En cuanto a los niveles de luz, dos de estos sistemas se desarrollaron para su uso en la región mesópica [39,41], mientras que los otros cuatro pueden alcanzar valores fotópicos superiores al umbral de melanopsina [25,42,45,46]). El dispositivo desarrollado por Hexley y colaboradores [46], se creó para lograr un alto rango dinámico de luz, lo cual es conveniente para experimentos en los que se desea “imitar” el rango dinámico de luz disponible en entornos naturales y para la investigación circadiana. Los procedimientos de construcción, caracterización y calibración se describen en detalle en los trabajos de Bayer y colaboradores y Hexley y colaboradores [41,46], que incluyen información útil para replicar el dispositivo. Por último, el dispositivo de Nugent y Zele permite obtener una mayor iluminancia retiniana que cualquiera de los otros dispositivos, debido al uso de visión maxwelliana, y además cuenta con un mayor rango de contraste de aislamiento [25].

Debido al aumento de la frecuencia de uso de estos dispositivos, se están desarrollando propuestas comerciales para uso en investigación. Por ejemplo, la empresa ViewPixx afirma incorporar entre cuatro y 16 primarios en los proyectores [47] e investigadores de Cambridge Research Systems presentaron recientemente en una conferencia especializada un dispositivo de este tipo [48].

### **3. Sistemas de estimulación óptica**

Los dispositivos ópticos clásicos para la estimulación de la retina contaban con lámparas incandescentes o de arco y la intensidad de la luz se controlaba mediante filtros, divisores de haz, obturadores, discos giratorios, etc. Con la incorporación a los laboratorios de investigación de los LEDs, su electrónica asociada,

las pantallas RGB y las herramientas informáticas, se facilitó el desarrollo de estimaciones más complejas para investigar los aspectos espaciales, temporales y espectrales de la visión. A continuación, se describen dos arreglos clásicos que son ampliamente utilizados entre la comunidad científica: el sistema de visión maxwelliano y el estimulador Ganzfeld.

### 3.a. Visión maxwelliana

Desde un punto de vista óptico, las pantallas de los monitores y aquellas donde se proyectan imágenes se caracterizan por permitir una visión libre o "newtoniana", en la que la imagen se forma en el plano retiniano por la óptica del ojo (Fig. 3A). Sin embargo, con estos dispositivos no es posible tener certeza de la luz que llega a la retina ni de la zona retiniana iluminada [49]. Maxwell [50] introdujo un enfoque óptico alternativo por medio de una lente que forma imagen en el plano de la pupila (Fig. 3B), con lo que el observador ve un campo uniformemente iluminado y el área de estimulación está determinada por la lente de campo [17]. Las ventajas de esta disposición son que puede producir estímulos en los que el enfoque, la forma y el tamaño son independientes de la iluminancia retiniana; además, los niveles de luz que llegan a la retina pueden ser superiores a los producidos por los sistemas de visión libre [51]; y la imagen retiniana está libre de la difusión intraocular que generan el iris y la esclerótica [52]. Una desventaja de esta disposición es que no es adecuada para fuentes de luz muy pequeñas [17]. Además, el ojo del observador tiene que estar situado en la posición correcta durante toda la sesión experimental para evitar cualquier desplazamiento del plano focal, por lo que, para satisfacer esta condición, en muchos experimentos se utiliza un mordillo con las impresiones dentales del observador junto con un sistema de posicionamiento XYZ [53].

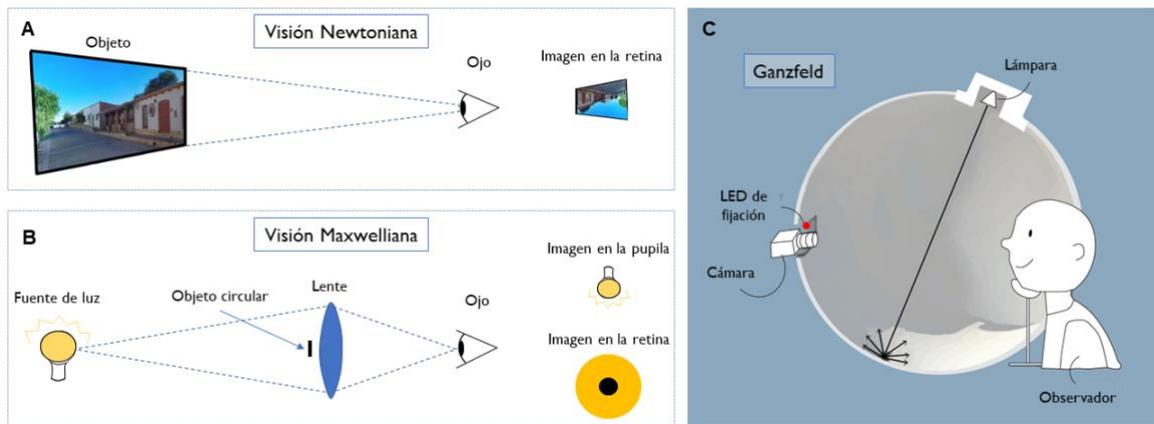


Fig. 3. Configuraciones ópticas. A) En una disposición newtoniana o de visión libre, las imágenes se forman en el plano de la retina. B) En una disposición de visión maxwelliana, las imágenes se sitúan en el plano pupilar, y en el plano retiniano las imágenes corresponden a las de la lente uniformemente iluminada. C) Representación esquemática de un estimulador Ganzfeld, que estimula uniformemente vastas porciones de la retina.

En la Fig. 3B se muestra una configuración óptica mínima para obtener una visión maxwelliana. En el plano de la pupila del sujeto se genera la imagen de una pequeña fuente de luz, como un LED, mediante una lente biconvexa que debe ser acromática para reducir las aberraciones ópticas y evitar la falla en la mezcla de los componentes primarios, ya que si estos están enfocados en diferentes planos no se logra tal mezcla. Normalmente, se sitúa junto al ojo una pupila artificial más pequeña que la pupila natural para controlar la iluminancia de la retina. Sin embargo, si la imagen de la fuente de luz es más pequeña que la apertura mínima de la pupila, la pupila artificial o el uso de midriáticos para la dilatación de la pupila no son necesarios. Como se mencionó, un problema potencial de esta disposición es que el ojo tiene que posicionarse cuidadosamente a una distancia determinada para enfocar la lente de campo, pues un pequeño cambio en dicha posición producirá un desenfoque en la imagen. Para superar este problema, se han propuesto disposiciones más complejas [51]; sin embargo, para muchos experimentos sin formación de imágenes, el montaje de la Fig. 1B es adecuado y se sigue utilizando, por ejemplo, para estudiar los mecanismos de adaptación a la luz en la retina [54,55]. Los sistemas de visión maxwelliana son muy útiles para evitar la modulación de la iluminación retiniana debida a las variaciones en el tamaño pupilar que pueden ser ocasionadas por otros factores que lo afectan, con lo que se logra un mejor control de las condiciones experimentales.

### 3.b. Estimuladores *Ganzfeld*

Los llamados estimuladores *Ganzfeld* (en español, estimuladores “de campo completo”), se utilizan para iluminar uniformemente una amplia porción de la retina y se inspiran en la esfera integradora utilizada en la práctica colorimétrica [17], que consiste en una cúpula semiesférica cuya superficie es blanca y totalmente difusora (Lambertiana); dicha cúpula se ilumina de forma tal que el observador sólo recibe las componentes reflejadas de la fuente de iluminación (Fig. 3C), y ve un campo iluminado uniforme y desestructurado [56]. Además, el sistema suele incluir uno o varios puntos de fijación y una cámara para el registro pupilar [57,58]. En los dispositivos comerciales antiguos, el iluminante constaba de lámparas incandescentes para una iluminación uniforme y una lámpara de descarga de gas xenón para producir estímulos transitorios como pulsos con perfil temporal cuadrado. Los dispositivos actuales llevan LEDs de diferentes colores que permiten manipular las características cromáticas de la estimulación. A continuación, se explican brevemente algunos de los principales usos de este tipo de dispositivos.

#### *Aplicaciones en electrofisiología*

Estos sistemas se utilizan en electroretinografía (ERG), donde es necesaria una estimulación de campo completo para producir una respuesta eléctrica significativa de la retina. En electrofisiología, la estimulación de campo completo proporciona información de la retina periférica y permite diferenciar entre la función de la retina externa e interna siguiendo distintos protocolos de prueba según el estímulo y el estado de adaptación [59,60]. Recientemente, se han propuesto nuevos protocolos que incluyen la estimulación cromática para discriminar diferentes tipos de fotorreceptores: por ejemplo, las respuestas del cono S [61], respuestas de la melanopsina [62], y respuestas mesópicas bastón-cono [63].

#### *Aplicaciones en pupilometría*

Actualmente, los *Ganzfelds* se están empleando ampliamente en la pupilometría cromática. Esta técnica consiste en el registro y la parametrización del reflejo pupilar a la luz bajo estimulación cromática, generalmente con estímulos rojos y azules para favorecer la activación de un tipo de fotorreceptor sobre otro [64]. En estos casos, se prefiere la estimulación de campo completo debido a que la respuesta pupilar parece integrar respuestas en áreas más amplias que aquellas propias del camino visual, caracterizado por dar cuenta de la imagen retiniana [65,66]. Ya que la respuesta pupilar es mucho mayor con un área de estimulación más extensa, es posible generar estímulos cromáticos que potencien las respuestas pupilares impulsadas por la activación de conos, bastones e ipRGCs y, por lo tanto, detectar anomalías en la función retiniana. De hecho, la combinación de estimuladores de campo completo con pupilometría cromática produjo resultados prometedores para detectar patologías como la retinosis pigmentaria [67], la diabetes [68], la amaurosis congénita de Leber [69] y el glaucoma [70,71]. La técnica ha alcanzado tal madurez que se propusieron nuevas técnicas de medida [20] y protocolos que facilitan la comparación de los estudios clínicos pupilográficos [72,73].

#### *Método de estimulación selectiva de vías retinianas en Ganzfelds*

Una técnica más sofisticada con estimulación de campo completo para estudiar el reflejo pupilar a la luz es el MES. Aplicando esta técnica en dispositivos comerciales de estimulación de campo completo, fue posible encontrar, por ejemplo, que la interacción bastón-cono es lineal en régimen parpadeante [57], que la contribución de los conos M puede aportar al camino inhibitorio [74] y que las alinealidades en el circuito neural pupilar están presentes desde la fotorrecepción [63]. También se utilizaron arreglos de campo completo construidos en laboratorio junto con el MES para estudiar la contribución de las ipRGCs en la respuesta pupilar en estado estacionario [75,76].

### 3.c. Uso de proyectores para estimulación

En las últimas décadas, los proyectores han ganado en portabilidad, eficiencia y calidad de imagen, siendo una buena opción para generar estimulación visual en un entorno de laboratorio. Aunque existen dispositivos dedicados a la investigación, para muchas necesidades experimentales basta con un proyector comercial. Un proyector suele estar compuesto por una fuente de luz de alta intensidad, un generador de

imágenes y una óptica para proyectar las imágenes en una pantalla. Normalmente, la fuente de luz es una lámpara de descarga, por ejemplo, de xenón, que tiene dos características importantes para una adecuada estimulación de la retina: un amplio espectro, que se logra mediante distintos filtros o espejos dicróicos para obtener los primarios RGB, y una muy alta intensidad, que permite lograr altos niveles fotópicos en cada componente pese a la atenuación producida por los filtros. En los últimos años, sin embargo, los láseres son cada vez más utilizados como fuente de luz en proyectores, emitiendo en el rango de longitud de onda corta (primario B) y, mediante una rueda de fósforo o LEDs, se obtienen los primarios R y G. En todo caso, ambas fuentes de luz cumplen dos criterios importantes: alta luminosidad y alta eficacia [77]. Los proyectores basados en láseres son más eficaces que los basados en lámparas de descarga, producen una mayor gama cromática y luminosidad, tienen una vida útil más larga y no contienen mercurio; sin embargo, son más caros. Además, la imagen puede verse afectada por el ruido de moteado debido a la naturaleza coherente de los láseres [78], que se observa como un patrón granulado superpuesto a la proyección [79].

### *Generador de imágenes*

Los proyectores que utilizan tecnología LCD generalmente incluyen tres paneles LCD transmisivos. La luz procedente de la fuente se divide mediante espejos dicróicos en tres componentes correspondientes a los primarios RGB. Cada luz primaria es procesada por un panel LCD y las imágenes generadas por los tres paneles se combinan en una imagen a todo color utilizando un prisma (Fig. 4A). El segundo tipo de proyector basado en LCD se denomina sistema de cristal líquido sobre silicio (LCoS, del inglés *Liquid Crystal on Silicon*), en los que la luz es reflejada en lugar de transmitirse. La luz entra en la capa de cristal líquido, que está detrás de un polarizador y un filtro de color, y después se refleja en un espejo que en su lado posterior tiene una capa CMOS (del inglés *Complementary Metal-Oxide Semiconductor*) encargada de controlar la polarización del LCD [80]. Por otro lado, en los proyectores DLP (Fig. 4B), el generador de imágenes es un dispositivo digital de microespejos. El DMD es un arreglo de espejos microscópicos en el que cada unidad puede inclinarse en dos direcciones ortogonales para reflejar la luz a la óptica de proyección. Los diferentes niveles de gris se consiguen cuando el espejo se mueve a gran velocidad y se modula el tiempo relativo en cada posición; esto se denomina modulación de ancho de pulso [81]. Para producir una imagen en color, estos proyectores contienen una rueda giratoria de filtros de color seccionada en al menos tres primarios. La luz atraviesa una parte de la rueda y la información digital de cada primario se sincroniza con la posición angular de la rueda. La aditividad del color se logra por la integración temporal del sistema visual ya que la rueda gira a una velocidad superior a la frecuencia de fusión del ojo.

No es menos importante considerar las pantallas que necesitan los sistemas proyectores. Tales pantallas pueden ser de proyección frontal o de retroproyección. Las pantallas de retroproyección son transmisivas, por lo que parte de la luz es absorbida o reflejada, lo que, en general, produce una importante reducción de la luminosidad en comparación con las pantallas de proyección frontal, en las que la mayor parte de la luz es reflejada con pequeñas pérdidas. Además, un sistema de retroproyección necesita una sala de mayores dimensiones. Una característica deseable, a efectos fotométricos y radiométricos, es que la superficie de la pantalla tenga difusión lambertiana.

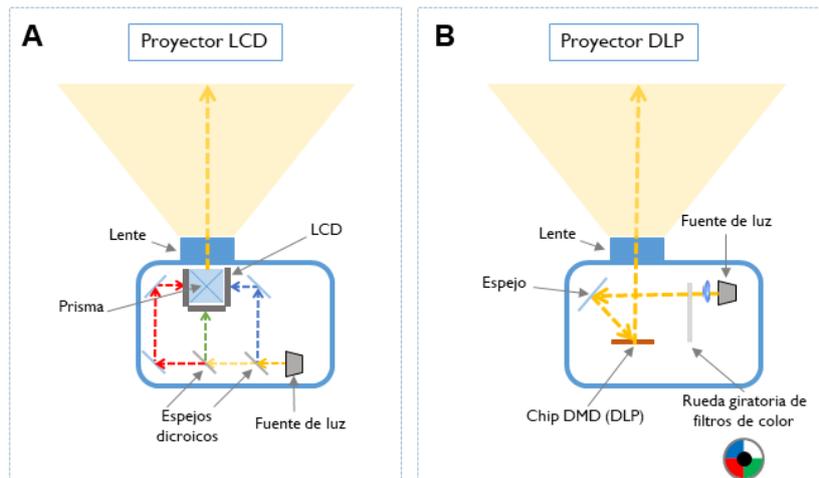


Fig. 4. Esquemas del funcionamiento óptico y los componentes en una vista superior de (A) un proyector LCD y (B) un proyector DLP.

#### 4. Análisis de las limitaciones tecnológicas en la actualidad

Los monitores y proyectores son generadores de imágenes autoiluminadas que permiten percibir escenas con movimiento y color que pueden imitar escenarios reales. Sin embargo, estos dispositivos tienen varias limitaciones que pueden tener implicancias importantes en la práctica de investigación.

##### 4.a. Gama de colores

Los distintos colores que un monitor es capaz de generar pueden representarse en un diagrama de cromaticidades siendo el subespacio obtenido la gama de colores. Los límites de la gama de colores de un monitor dependen de la composición espectral y de la longitud de onda dominante de los primarios RGB, por lo que la inclusión de más primarios puede aumentar la gama siempre que su cromaticidad no pueda representarse mediante la combinación de los primarios originales.

##### 4.b. Frecuencia de muestreo

Una escena visual generada en un monitor no se reproduce de forma continua, sino como una secuencia de fotogramas fijos a una cierta tasa de refresco o actualización determinada por el fabricante, típicamente entre 60 Hz y 120 Hz. A partir de la teoría de los sistemas de comunicación [82,83], sabemos que la frecuencia máxima para representar con precisión una señal que varía en el tiempo es la mitad de la frecuencia de actualización, siendo un punto importante a tener en cuenta para evitar efectos visuales cuando hay que representar escenas visuales con movimiento.

##### 4.c. Rango de luminancias

En entornos naturales, nuestros ojos están expuestos a diferentes niveles de luz, desde la noche más oscura hasta el mediodía más luminoso, que pueden variar hasta 11 unidades logarítmicas [84]. Los monitores tienen un rango dinámico limitado, normalmente 256 valores (algo más de dos unidades logarítmicas), que no suele ser suficiente para crear la misma sensación visual que los escenarios reales. Sin embargo, gracias a las propiedades adaptativas del sistema visual y a la compresión no lineal que sufren las escenas mostradas en los monitores, esta enorme diferencia de rango dinámico no es un problema significativo para fines generales. Aun así, para la comunidad científica que estudia visión y ritmo circadiano, es un problema potencial que hay que abordar. Existen varias técnicas para aumentar el rango dinámico de los monitores, como la generación de niveles intermedios a partir de píxeles compuestos, lo que disminuye la resolución espacial (conocido en la literatura anglosajona como *spatial dithering*) o el uso del canal B que en cada salto de un bit genera mínimos cambios de luminancia en un píxel con un corrimiento cromático casi imperceptible (conocido en la literatura anglosajona como *bit stealing* [85]).

#### 4.d. Resolución espacial

Son muchos los factores que afectan a la correcta reproducción de la imagen de un monitor en el dominio espacial; entre ellos están el tamaño de los píxeles, la resolución de la pantalla y las propiedades ópticas (como las aberraciones ópticas y la difracción) del sistema de imagen. Estas propiedades afectarán a la función de transferencia de modulación, que representa la capacidad de un monitor para mostrar elementos visuales con distintas frecuencias espaciales. Además, la electrónica implicada también puede afectar a la resolución espacial de estas pantallas [86].

### 5. Algunos aspectos sobre la calibración de los sistemas de estimulación

Las fuentes luminosas de los sistemas de estimulación mencionados en cualquiera de sus variantes necesitan ser calibradas para tener un control de las variables radiométricas y fotométricas relevantes del diseño experimental, como pueden ser la luminancia o la distribución espectral. A continuación, se tratan conceptualmente algunos aspectos que es necesario tener en cuenta al momento de la calibración. Una reciente publicación del laboratorio del Dr. Zele describe en detalle los pasos y el protocolo para llevar adelante la construcción y calibración de dispositivos multiprimarios en los que se desee aplicar el MES [10]. Se recomienda al lector consultar dicho trabajo para ampliar lo mencionado en esta sección.

#### 5.a. Linealidad

La relación entre la radiación del estímulo y la señal digital con la que se genera, se denomina curva de respuesta del estimulador. Esta curva por lo general no es lineal (Fig. 5A) y es necesario caracterizarla al menos para el rango de luminancias que se busca reproducir en la pantalla. En pantallas LCD u OLED (del inglés, *Organic Light Emitting Diode*), al igual que en la anterior tecnología de Tubos de Rayos Catódicos, la curva de respuesta se ajusta a una función potencia con un exponente  $\gamma$  que le da nombre a la función (Fig. 5B). Para una correcta representación de los estímulos luminosos requeridos, es necesario linealizar esta curva. Este proceso se puede llevar delante de diversas maneras, una forma es mediante la implementación de una función inversa y una LUT (del inglés, *Look Up Table*).

En el caso de un fotoestimulador, debido a que el arreglo óptico podría tener un rango de respuesta de varios órdenes de magnitud [35,46], el instrumento de medida que se utilice para caracterizar su desempeño debe tener una respuesta lineal en todo el rango funcional, con lo que se minimizan los errores debidos al instrumento. Obsérvese que la unidad de medida no es relevante en este caso, ya que puede normalizarse posteriormente con una única medición de otro instrumento (por ejemplo, un medidor de luminancia). Normalmente, se toman mediciones para incrementos y luego para decrementos para cada primario en todo el rango operativo (de 0 al valor máximo); estas dos curvas pueden promediarse luego para obtener una curva de respuesta única por cada primario (Fig. 5A). En los casos en los que es necesario reproducir estímulos acromáticos de muy baja luminancia, los instrumentos de medida pueden no tener suficiente sensibilidad, y en el rango bajo, el estimulador puede no ser lo suficientemente sensible como en el rango funcional medio (Fig. 5B). En tales casos, la caracterización podría llevarse a cabo en el rango funcional medio y luego utilizar filtros neutros para reducir la cantidad de luz hasta el nivel deseado ya que estos no modifican los contrastes. En dispositivos con varios primarios -por ejemplo, proyectores RGB (Fig.5C)- es necesaria la caracterización de cada primario en forma independiente y luego en forma conjunta para el estudio de la aditividad (ver sección 5. b.).

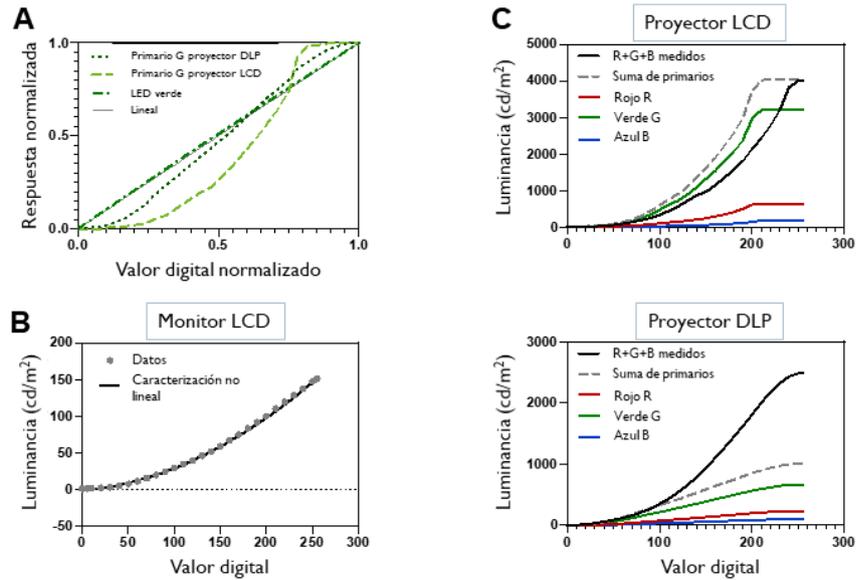


Fig. 5. A) Curvas de respuesta para primarios G de diferentes tecnologías. B) Función no lineal para un monitor LCD. C) Curvas de respuesta para cada primario de dos proyectores (LCD, arriba, y DLP, abajo). La suma de los tres primarios se añade para mostrar los fallos en la ley de aditividad.

### 5.b. Distribución espectral y aditividad

Por su parte, para garantizar una reproducción correcta del color a través de los distintos niveles de luz, es recomendable caracterizar los espectros de las fuentes de iluminación primarias para diferentes niveles de luz teniendo en cuenta que la radiancia espectral debe tener homogeneidad espectral, es decir, debe presentar el mismo espectro para las distintas intensidades de los primarios [87]. En caso contrario, la consecuencia directa será un cambio de color del estímulo. En un estudio de laboratorio, obtuvimos datos de radiancia espectral de los primarios de un proyector DLP (BenQ MS630ST) a diferentes niveles digitales (Fig. 6). Para esta configuración, encontramos que las coordenadas de cromaticidad de los primarios muestran un corrimiento hacia el centro del diagrama a medida que disminuye la intensidad, lo que significa que los primarios perdieron saturación para niveles de luz bajos, mientras que no se observó ningún corrimiento importante para los tres primarios mezclados. Este comportamiento debe ser evaluado en cada caso; por ejemplo, si se aplica el MES utilizando una disposición de proyectores múltiples similar a la evaluada aquí, el desplazamiento podría causar una excitación espuria no deseada de los fotorreceptores cuya respuesta se busca silenciar.

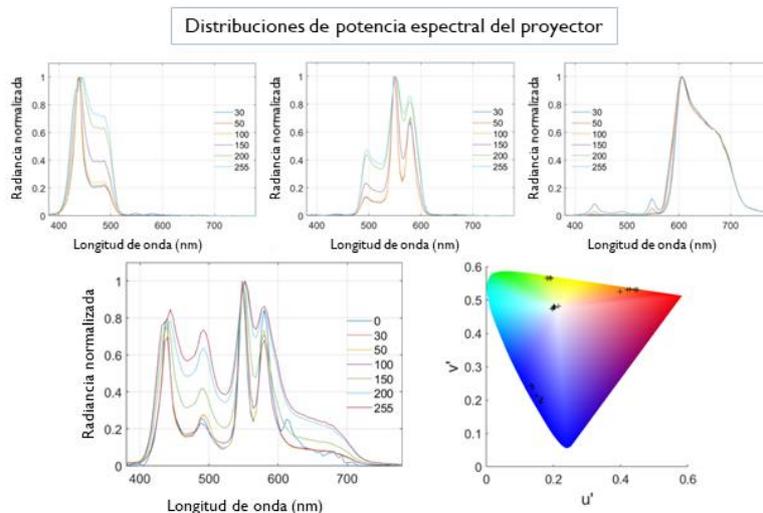


Fig.6. Distribuciones de potencia espectral normalizadas de los primarios aislados (recuadros superiores) y mezclados (recuadro inferior izquierdo) de un proyector DLP. La radiancia espectral se midió en varios pasos digitales (30 - 255). Las longitudes de onda pico en la configuración de luz más alta (255) fueron B = 444 nm, G = 552 nm y R = 608 nm. También se midió la radiancia espectral

del negro (paso digital cero) y se presentó junto con las mediciones de la radiancia espectral del blanco. Por último, las coordenadas colorimétricas de todos los estímulos se presentan en el diagrama de cromaticidad CIE 1976  $u^*10 v^*10$  (recuadro inferior derecho).

Las actuales pantallas comerciales no presentan la aditividad característica de las tecnologías antiguas o de los montajes ópticos creados en laboratorio. Mediciones propias en dos proyectores (LCD y DLP) mostraron que la adición de las luminancias individuales de los primarios no concuerda con la luminancia de los primarios mezclados (Fig. 5C). Para aumentar la resolución espacial, algunos dispositivos utilizan una placa refractiva oscilante para duplicar el número de píxeles de la pantalla [88]. Aún más, en el caso de los proyectores DLP, se incluyen más de tres filtros de color. Estos filtros adicionales se incluyen para mejorar el color en la imagen resultante [88]. Además, si la rueda de color contiene una sección transparente, la luminancia de un parche blanco puede ser mayor que la suma de las luminancias de los primarios individuales R, G y B (Fig. 5C), violando la ley de aditividad. Los proyectores pueden tener esta característica para aumentar artificialmente la luminosidad de las regiones blancas y, de la misma manera, en los monitores LCD también es común la pérdida de la aditividad, que suele ir acompañada de una saturación de las luminancias más altas y un aumento de la luminancia mínima. La mayoría de los monitores LCD tienen en su interior una electrónica que manipula los datos de vídeo produciendo este tipo de no linealidades (Seung Woo Lee, comunicación personal). La comunidad científica debe ser consciente de que los proyectores disponibles en el mercado contienen varias funciones automáticas, como la corrección trapezoidal, la corrección gamma, las transformaciones de color, etc., que pueden afectar a los procedimientos de caracterización y calibración. Estas funciones deben desactivarse o, al menos, controlarse durante la experimentación. Un efecto molesto de la técnica de fusión temporal en los proyectores DLP es la aparición de colores no deseados cuando el observador realiza, por ejemplo, movimientos oculares rápidos, lo que se denomina efecto "arco iris" [89] y es una ruptura de la adición de color. Se trata de un error que invalida el uso de la estimulación selectiva de vías retinianas para tareas visuales donde intervienen sacadas [41].

### 5.c. Función de Transferencia de Modulación (MTF)

La respuesta de las pantallas en el dominio de la frecuencia espacial, conocida como MTF (del inglés, *Modulation Transfer Function*), es una característica crítica cuando se evalúa la visión funcional. En las pantallas reales, existe una atenuación del contraste que aumenta a medida que crece la frecuencia espacial del patrón generado debido a factores ópticos y a la electrónica que produce la señal [86]. Se han propuesto dos procedimientos para obtener la MTF: uno de ellos es el barrido fotométrico y el otro la obtención de imágenes con una cámara [90]. En la primera, se miden los valores máximo y mínimo de luminancia de una red sinusoidal con los que se calcula el contraste. Este procedimiento se repite para distintas frecuencias espaciales y para una serie de contrastes nominales (por ejemplo, entre el 0.5% y el 10%). En este caso, es necesario utilizar un fotómetro que permita medir el valor de un solo píxel. Como alternativa, se puede obtener la función de punto extendido (PSF, del inglés *Point Spread Function*) de los píxeles con una cámara de alta sensibilidad en distintas áreas de la pantalla para luego obtener la MTF mediante la transformada de Fourier.

### 5.d. Uniformidad espacial

Idealmente, cuando todos los píxeles de una pantalla se ajustan a un mismo valor, debería mostrarse un campo luminoso homogéneo en toda la pantalla. Sin embargo, las pantallas y proyecciones no son espacialmente uniformes. Por ejemplo, medimos la uniformidad de la proyección de un proyector LCD (Epson VS335W) sobre 36 puntos distribuidos de manera uniforme (Fig. 7A). Para este proyector, la menor uniformidad obtenida resultó ser del 70%. Este desempeño es considerablemente mejor que los resultados obtenidos con la misma tecnología hace casi dos décadas por Seime y Hardeberg [91], quienes obtuvieron una uniformidad del 30%, lo que sugiere una mejora para esta característica en los nuevos dispositivos. En cuanto al rendimiento de los monitores LCD, esta falta de uniformidad es evidente (Fig. 7A), mientras que en las nuevas pantallas OLED esta característica mejora, ya que cada píxel actúa como una fuente de luz individual [92]. Dada esta falta de uniformidad en un entorno real, es importante realizar la caracterización en la zona de la pantalla donde se presenta el estímulo. En el caso de que los estímulos ocupen grandes áreas de la pantalla o estén distribuidos por toda su superficie, es conveniente caracterizar y corregir la falta de uniformidad para toda la pantalla. Una posibilidad es generar una matriz bidimensional de valores de luminancia normalizados, a partir de mediciones manuales (Fig. 7A) o con una cámara calibrada (Fig. 7B),

de la que se puede derivar una matriz de factores de corrección que pueda aplicarse a un estímulo nominalmente uniforme para compensar sus variaciones y obtener así una estimulación más uniforme.

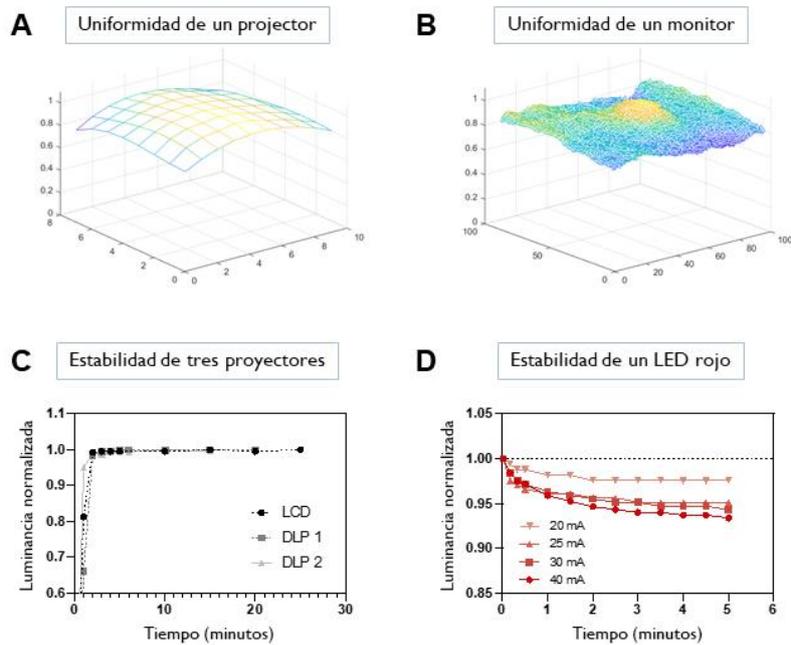


Fig. 7. Uniformidad espacial de: (A) un proyector LCD obtenida manualmente y (B) un monitor LCD obtenida mediante una cámara calibrada. Estabilidad temporal de: (C) tres proyectores y (D) un LED rojo a diferentes valores de corriente eléctrica.

### 5.e. Uniformidad temporal

Es habitual que tras el encendido de una pantalla LCD con retroiluminación fluorescente se produzcan cambios importantes en la luminancia y la cromaticidad por lo que se suele esperar entre 45 y 60 minutos para alcanzar la estabilidad [93], fenómeno que también se detectó en relación a los proyectores. Mediciones propias realizadas en un proyector DLP (ViewSonic PJD6353s) mostraron que la estabilidad temporal se alcanza en torno a los 2 minutos tras el encendido (Fig. 7C); sin embargo, todavía se observaron algunas variaciones mínimas a los 10 minutos. Además, en el caso de los arreglos ópticos basados en LED, la estabilidad temporal también se ve comprometida en el período de encendido (Fig. 7D) con variaciones que se deben al calentamiento tanto de la lámpara como del panel de cristal líquido en los proyectores LCD, mientras que en los dispositivos DLP el único componente variable es la lámpara. Por lo tanto, cabe esperar un periodo de estabilización más corto y una menor variación en los dispositivos DLP. Por otro lado, la estabilidad también podría verse afectada por la depreciación del iluminante, que suele observarse como una reducción de los niveles máximos de luz, proceso que se produce más rápidamente cuando se le demanda altos niveles de luz a la fuente luminosa [93].

## 6. Conclusiones

En este trabajo, hemos ahondado en la implementación del método de estimulación selectiva (MES) para estudiar respuestas funcionales ante la activación controlada de cada tipo de fotorreceptor de forma aislada o combinada. También hemos descrito un conjunto de sistemas de estimulación óptica. En particular, los sistemas multiprimarios que permiten la aplicación de dicho método. En lo que respecta a los sistemas no formadores de imágenes, destacamos el fotoestimulador multiprimario [35], ya que puede producir de forma eficaz la estimulación de fotorreceptores aislados. Un avance técnico interesante de los últimos años ha sido la introducción de pantallas con múltiples primarios. La mayoría de estos enfoques se han implementado para estudiar la contribución aislada o combinada de los fotorreceptores en el dominio espacial. Estos sistemas aún están en evolución, pero recientemente apareció un sistema con complejidad espacio-temporal que aparenta superar las limitaciones técnicas actuales [25].

En esta revisión, se comentan también un conjunto limitado de principios para caracterizar y calibrar las disposiciones ópticas que consideramos más generales en entornos de laboratorio. No obstante, pueden

caracterizarse otras variables en función de las necesidades experimentales y de la disposición óptica de que se trate. Se prestó especial atención a los proyectores, ya que no existe bibliografía actualizada sobre los procedimientos de caracterización y calibración de estos dispositivos.

Recientemente, varias publicaciones han hecho aportes sustanciales desde diferentes puntos de vista. Por ejemplo, Nugent y colaboradores han propuesto un protocolo para llevar adelante el MES en arreglos de múltiples primarios [10], Martín y colaboradores han generado herramientas de software para la aplicación del MES [24], y nosotros hemos resumido los arreglos ópticos usados en ciencias de la visión [4]. El presente documento complementa las anteriores publicaciones, haciendo principal hincapié en la implementación del MES.

## **Agradecimientos**

Este trabajo recibió apoyo de la Agencia I+D+i (PICT 2019-03673), el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (PIBAA-1234, PUE-0114, PIP-2721 y PIP-0939) y la German Research Foundation (DFG) (222641018 - SFB/TRR 135 TPs C2 and B2).