

# Pupilometría cromática en pacientes con sospecha de glaucoma primario de ángulo abierto

María Constanza Tripolone<sup>a</sup>, Luis Issolio<sup>a,b</sup>, Carlos Agüero<sup>c</sup>, Alejandro Lavaque<sup>c</sup>, Pablo Barrionuevo<sup>a,d</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión (ILAV-CONICET), San Miguel de Tucumán, Argentina.

<sup>b</sup> Departamento de Luminotecnia, Luz y Visión, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, Argentina.

<sup>c</sup> Centro de Especialidades Oftalmológicas (CEO), San Miguel de Tucumán, Argentina.

<sup>d</sup> Allgemeine Psychologie, Justus-Liebig-Universität, Giessen, Alemania.

**Recibido:** 8 de noviembre de 2023.

**Aprobado:** 20 de noviembre de 2023.

## Autor corresponsal

Dr. Pablo Barrionuevo

Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión,  
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas  
(ILAV-CONICET)

Av. Independencia 1800

San Miguel de Tucumán, Tucumán

Argentina.

+54 (381) 436-1936

pbarrionuevo@herrera.unt.edu.ar

**Oftalmol Clin Exp** (ISSNe 1851-2658)

2023; 16(4): e346-e356.

## Resumen

**Objetivo:** El reflejo pupilar a luces de distintos colores (pupilometría cromática) puede usarse como biomarcador del estado funcional de la retina. En este trabajo se evalúa la respuesta pupilar parpadeante a estímulos de color en pacientes con sospecha de glaucoma primario de ángulo abierto.

**Materiales y métodos:** Participaron en este estudio 41 voluntarios: 20 pacientes con sospecha de glaucoma y 21 individuos sanos. Se utilizó un sistema fotoestimulador pupilométrico para registrar las respuestas pupilares parpadeantes. Se emplearon estímulos luminosos sinusoidales (frecuencia = 1 Hz; duración = 10 segundos) de color azul, verde y rojo. Se evaluaron los parámetros pupilares en los dominios del tiempo y la frecuencia para cada grupo, y se analizaron las diferencias entre ambos.

**Resultados:** Los parámetros de constricción inicial, plateau, amplitud y fase se encontraron disminuidos en pacientes con sospecha de glaucoma respecto del grupo control para todas las condiciones de estimulación. Sin embargo, el tiempo al mínimo se mantuvo constante entre ambos grupos.

**Conclusiones:** La respuesta pupilar parpadeante se encuentra disminuida en pacientes con sospecha de glaucoma, sugiriendo una posible disfunción de las células retinales. Cambios funcionales

tempranos debidos al glaucoma podrían valorarse mediante pupilometría cromática parpadeante.

**Palabras clave:** sospecha de glaucoma, pupilometría cromática, respuesta pupilar parpadeante.

## Chromatic pupillometry in primary open-angle glaucoma suspected patients

### Abstract

**Purpose:** The pupil light reflex to different colors lights (chromatic pupillometry) can be used as a biomarker of the retina functional state. In this work, we assessed the flickering pupillary response to colored stimuli in patients with suspected primary open-angle glaucoma.

**Methods:** 41 volunteers participated in this study: 20 glaucoma suspects and 21 healthy controls. A photostimulator-pupillometric system was used to record the flickering pupillary responses. Blue, green and red sinusoidal light stimuli (frequency = 1 Hz; duration = 10 secs) were used. Pupillary parameters in time and frequency domain were assessed for each group, and the differences between them were analysed.

**Results:** Initial constriction, plateau, amplitude phase parameters were decreased in glaucoma suspected patients respect to the control group, for all stimuli conditions. However, time to minimum was constant between both groups.

**Conclusions:** The flickering pupillary responses were decreased in glaucoma suspected patients, suggesting a possible retinal cells dysfunction. Early functional changes due to glaucoma could be assessed by flickering chromatic pupillometry.

**Keywords:** glaucoma suspect, chromatic pupillometry, flickering pupillary responses.

## Pupilametria cromática em pacientes com suspeita de glaucoma primário de ângulo aberto

### Resumo

**Objetivo:** O reflexo pupilar a luzes de diferentes cores (pupilametria cromática) pode ser utilizado como biomarcador do estado funcional da retina. Neste trabalho, a resposta pupilar piscante a estí-

mulos coloridos é avaliada em pacientes com suspeita de glaucoma primário de ângulo aberto.

**Materiais e métodos:** Participaram deste estudo 41 voluntários: 20 pacientes com suspeita de glaucoma e 21 indivíduos saudáveis. Um sistema fotostimulador pupilométrico foi usado para registrar as respostas pupilares piscantes. Foram utilizados estímulos luminosos sinusoidais (frequência = 1 Hz; duração = 10 segundos) nas cores azul, verde e vermelha. Os parâmetros pupilares foram avaliados nos domínios do tempo e da frequência para cada grupo, e as diferenças entre eles foram analisadas.

**Resultados:** Os parâmetros de constrição inicial, platô, amplitude e fase foram encontrados diminuídos em pacientes com suspeita de glaucoma em comparação ao grupo controle para todas as condições de estimulação. Porém, o tempo mínimo permaneceu constante entre os dois grupos.

**Conclusões:** A resposta pupilar piscante está diminuída em pacientes com suspeita de glaucoma, sugerindo uma possível disfunção das células da retina. As alterações funcionais precoces devido ao glaucoma podem ser avaliadas pela pupilometria cromática cintilante.

**Palavras-chave:** suspeita de glaucoma, pupilometria cromática, resposta pupilar piscante.

## Introducción

El término glaucoma describe un conjunto de neuropatías ópticas caracterizadas por el daño progresivo de las células ganglionares retinales y el nervio óptico, conduciendo a la pérdida irreversible del campo visual y eventualmente a la ceguera si no se lo trata debidamente<sup>1</sup>. De los diferentes subtipos de glaucoma el que se presenta con mayor frecuencia en la población es el primario de ángulo abierto (GPAA)<sup>2</sup>. Al ser el glaucoma una de las principales causas de ceguera a nivel mundial<sup>3</sup> resulta imprescindible contar con herramientas que posibiliten su detección en los primeros estadios. El diagnóstico temprano permitirá aplicar el tratamiento adecuado, favoreciendo la conservación de la visión y la calidad de vida de las personas.

El descubrimiento de las células ganglionares intrínsecamente fotosensibles (ipRGCs, del inglés *intrinsically photosensitive retinal ganglion cells*)<sup>4-5</sup> ha renovado un especial interés en el estudio del reflejo pupilar a la luz (RPL)<sup>6</sup>. Estas células poseen un fotopigmento —la melanopsina— que les confiere la capacidad de responder a la luz por sí mismas<sup>7</sup>. Las ipRGCs, a su vez, reciben señales de conos y bastones proyectándose hacia el núcleo olivar pretectal, entre otros centros cerebrales, y son las principales responsables del RPL<sup>8-9</sup>. Debido a que los conos, los bastones y las ipRGCs presentan diferencias tanto en su distribución anatómica como en las propiedades de respuesta, se desarrollaron diversas técnicas pupilométricas que permiten la evaluación del estado funcional de los distintos fotorreceptores de la retina<sup>10</sup>.

La pupilometría cromática es una de las más difundidas en el campo de la oftalmología. Ésta emplea estímulos luminosos monocromáticos de diferentes longitudes de onda e intensidades para activar preferencialmente uno o más tipos de fotorreceptores, lo que permite evaluar su funcionamiento a partir del registro de la respuesta pupilar<sup>11</sup>. Con esta técnica se ha evaluado la función de los bastones y de los conos utilizando estímulos de luz azul de baja intensidad y de luz roja a alta intensidad, respectivamente<sup>8</sup>. Además, las respuestas pupilares dependientes de melanopsina se midieron para determinar la función de ipRGC mediante estímulos de luz azul de alta intensidad. Con este protocolo de medida, la pupilometría cromática ha mostrado resultados prometedores en pacientes con retinitis pigmentosa<sup>12-14</sup>, amaurosis congénita de Leber<sup>12, 15</sup>, diabetes tipo 2<sup>16</sup>, degeneración macular relacionada con la edad<sup>17-18</sup>, neuropatía óptica hereditaria de Leber<sup>19</sup> y glaucoma<sup>20-25</sup>.

Tradicionalmente, el PLR se evalúa mediante un pulso de luz continua que al encenderse produce una rápida constricción pupilar conocida como fase transitoria. Luego, la pupila alcanza un equilibrio mediante una respuesta sostenida denominada fase tónica. Al apagarse el pulso de luz comienza la fase de redilatación llamada respuesta pupilar postiluminación<sup>6</sup>. La respuesta pupilar pulsada se analiza mediante parámetros

obtenidos en el dominio del tiempo. Un enfoque alternativo es utilizar estímulos periódicos que producen una respuesta pupilar parpadeante<sup>26</sup>; es decir, la pupila se contrae y se dilata siguiendo la frecuencia de estimulación. Con estímulos sinusoidales es posible estudiar la dinámica del PLR mediante parámetros obtenidos en el dominio de la frecuencia con una buena estimación del ruido de la señal<sup>27-28</sup>. Los resultados de un estudio previo de nuestro grupo<sup>29</sup> mostraron que a partir de las respuestas parpadeantes es posible estimar los parámetros temporales de la estimulación pulsada y además obtener información adicional de la respuesta en el dominio de la frecuencia. Sin embargo, este paradigma ha sido poco estudiado en pacientes con enfermedades oftalmológicas.

Nuestras investigaciones se centran en encontrar nuevas herramientas para la detección de GPAA en etapas tempranas. En el presente trabajo se aplicó un protocolo de estimulación por parpadeo para determinar la respuesta pupilar en pacientes con sospecha de glaucoma y se compararon los parámetros en el dominio del tiempo y en el dominio de la frecuencia con los de un grupo control.

## Materiales y métodos

### Participantes

Un total de 41 participantes voluntarios de una clínica oftalmológica privada fue reclutado para formar parte de este estudio. Todos fueron examinados previamente por oftalmólogos especialistas que incluyeron medida de presión intraocular (PIO), valoración completa del disco óptico y nervio óptico, medida de agudeza visual (AV) y antecedentes familiares. Se seleccionaron pacientes con sospecha de GPAA, es decir, con la presencia de uno o más factores de riesgo durante esta examinación (PIO elevada, apariencia sospechosa de daño glaucomatoso del nervio óptico, historia familiar de glaucoma). Se excluyeron los pacientes con otras afecciones oculares y cualquier otra condición que afectase el nervio óptico.

El grupo de pacientes con sospecha de glaucoma se conformó con 20 participantes entre 41 a 78 años de edad (edad: 62,1 ± 10,7; AV mejor

corregida:  $9/10 \pm 2/10$ ; espesor de la capa de fibras nerviosas retinales:  $90 \pm 13 \mu\text{m}$ ; espesor del complejo de células ganglionares:  $99 \pm 9 \mu\text{m}$ ; PIO:  $14 \pm 3 \text{ mmHg}$ .

El grupo control se conformó con 21 participantes sanos entre 27 a 46 años, con visión normal y ausencia de patologías oculares y/o retinales determinadas durante la examinación (edad:  $34,4 \pm 5,6$ ; AV mejor corregida:  $10/10 \pm 1/10$ ; espesor de la capa de fibras nerviosas retinales:  $97 \pm 10 \mu\text{m}$ ; espesor del complejo de células ganglionares:  $97 \pm 6 \mu\text{m}$ ).

Todos los estudios se realizaron con el consentimiento escrito de cada participante, de acuerdo con los protocolos de medida aprobados por el Comité de ética en investigación (UNT-CONICET, resolución n° 28/2018) en concordancia con la declaración de Helsinki.

### Equipo

Para el registro y medida del diámetro pupilar se utilizó un sistema fotoestimulador-pupilmétrico de visión newtoniana, construido en el Instituto de Investigación en Luz, Ambiente y Visión (fig. 1a)<sup>30</sup>. Este sistema emplea diodos emisores de luz (LED, del inglés *light emitting diode*) de diferentes distribuciones espectrales en el rango visible (fig. 1b). El haz de luz de cada LED se transporta a través de fibras ópticas independientes hacia una esfera integradora. Allí, la luz se refleja de manera homogénea alcanzando el ojo del participante a través de una abertura monocular. En el lado opuesto a esa abertura se encuentra una cámara de infrarrojo cercano (Manta G-031, Allied Vision Technologies GmbH; resolución temporal 30-120 fps; resolución espacial 656 x 492 píxeles), la que captura en forma de video las pequeñas variaciones del diámetro pupilar producidas por el estímulo luminoso. Finalmente, una PC de escritorio controla y sincroniza todo el sistema.

La calibración del sistema se llevó a cabo con un espectrorradiómetro SpectraScan PR-715 (Photoresearch, Inc.) con el que se midió la distribución espectral de cada LED (pasos de 4 nm). Con un luminancímetro L1009 (LMT GmbH) se midió la luminancia, variando la intensidad de cada LED en pasos porcentuales (pasos de

1% entre 0% y 10%; pasos de 10% entre el 10% y 100%), y pertenecían al rango mesópico. La iluminación de la habitación se obtuvo con un luxímetro T-10M (Konica Minolta, Inc).

### Condiciones de registro y parámetros evaluados

Se obtuvo la respuesta pupilar parpadeante con estímulos sinusoidales, con una frecuencia de 1 Hz y una duración de 10 segundos (fig. 2a). Estas condiciones permiten maximizar la respuesta pupilmétrica al parpadeo<sup>28, 31-32</sup>. Se emplearon estímulos rojos (632 nm), verdes (516 nm) y azules (468 nm) con una luminancia media (50% de intensidad máxima) de  $0,75 \text{ cd/m}^2$ ,  $1,08 \text{ cd/m}^2$  y  $0,35 \text{ cd/m}^2$  respectivamente. Los estímulos tuvieron una amplitud de onda de 49% (máximo: 99%, mínimo: 1%).

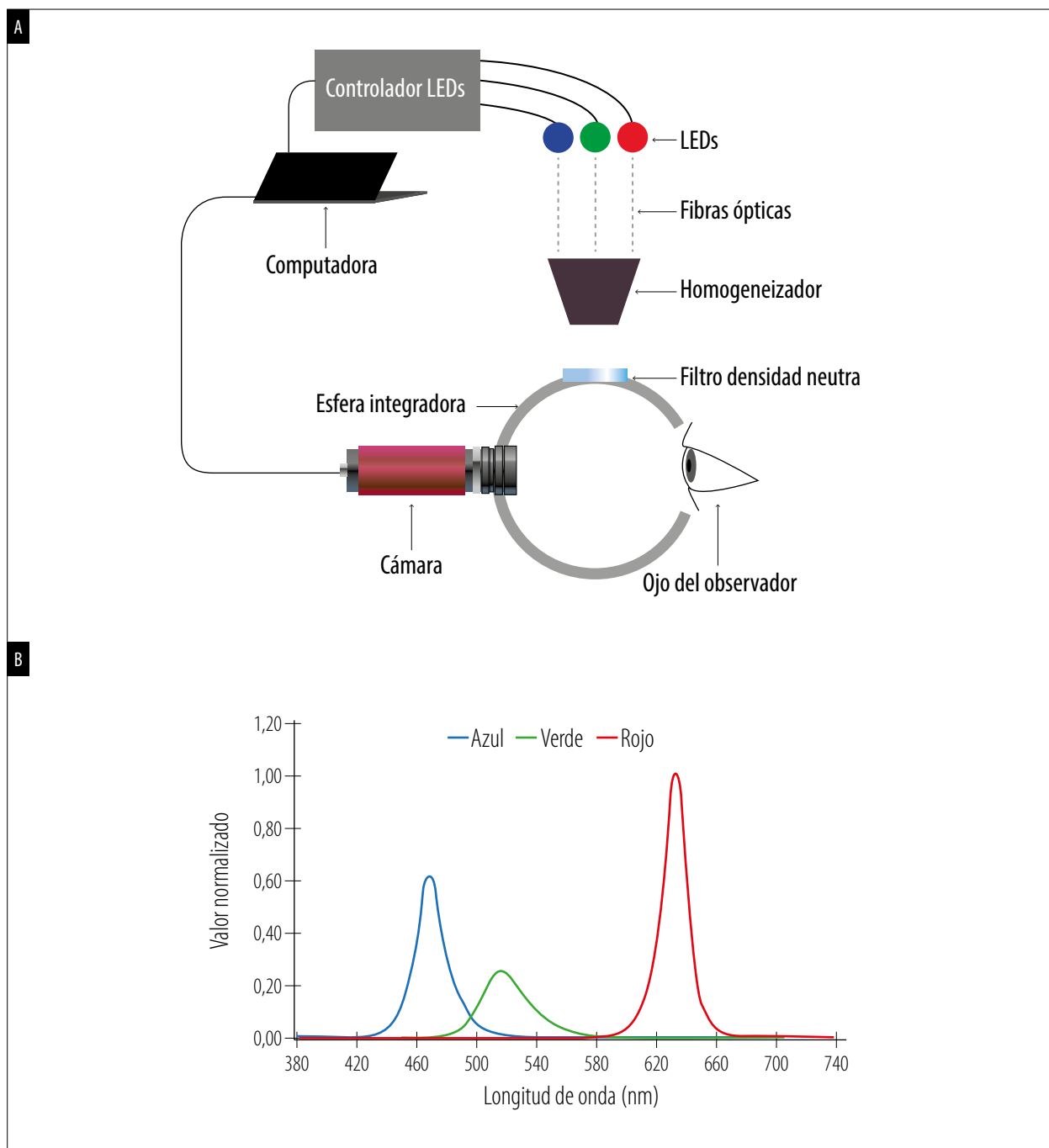
Cada participante fue adaptado a la iluminación media de la habitación igual a 10 lux (mínima obtenida en un entorno clínico) durante 5 minutos. Luego, previo al encendido, se adaptaron cromáticamente al color del estímulo a ser presentado y a su intensidad media durante 30 segundos. Los registros fueron monoculares con el ojo no testeado cubierto totalmente con un parche opaco. Se realizaron tres repeticiones por cada condición de medida que se promediaron para luego calcular los parámetros pupilares. La figura 2 muestra los parámetros pupilares evaluados en el dominio del tiempo y de la frecuencia, junto con la tabla 1 que incluye una descripción de los mismos. La constricción inicial y el plateau se calcularon respecto del diámetro pupilar inicial, según<sup>10</sup>:

$$\text{Parámetro (\%)} = \frac{\text{DPI (mm)} - \text{Parámetro (mm)}}{\text{DPI (mm)}} \times 100 \text{ (Exp.1)}$$

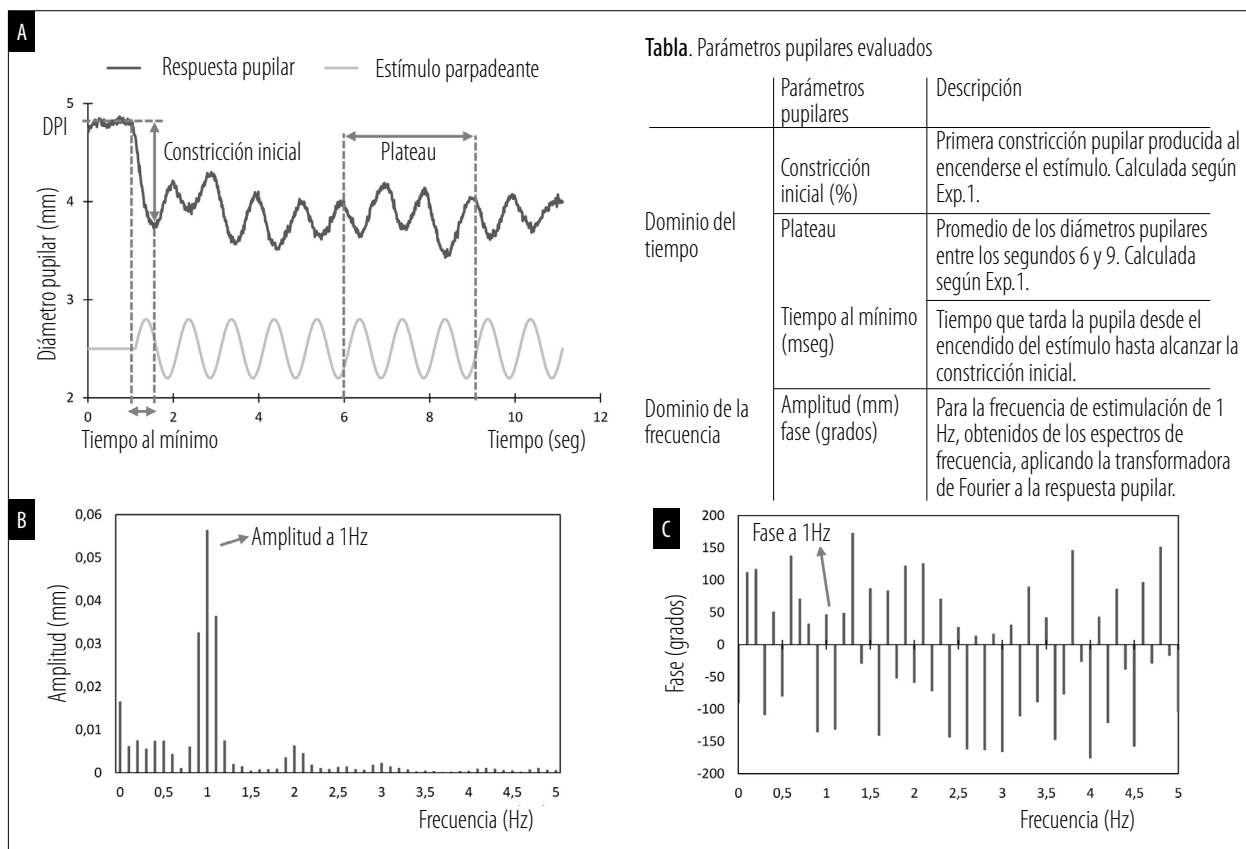
Donde Parámetro (%) es el que se calculará; Parámetro (mm) es el diámetro pupilar en milímetros correspondiente al parámetro; y DPI es diámetro pupilar inicial en milímetros obtenido justo antes del encendido del estímulo.

### Análisis estadístico

Se utilizó el *software* Minitab para realizar el análisis estadístico. Se llevaron a cabo pruebas



**Figura 1.** Sistema fotoestimulador-pupilométrico de visión newtoniana. A) Diagrama esquemático del sistema de medida utilizado. B) Distribución espectral de las fuentes LED.



**Figura 2.** Parámetros pupilares evaluados. A) Respuesta pupilar y estímulo parpadeante (representativo) en el dominio del tiempo. Se observan los parámetros de constricción inicial, plateau y tiempo al mínimo. B y C) Espectros de frecuencia de la amplitud y fase respectivamente. Se observan los parámetros de amplitud y fase a la frecuencia de estimulación (1 Hz). Tabla superior derecha: descripción de los parámetros mencionados.

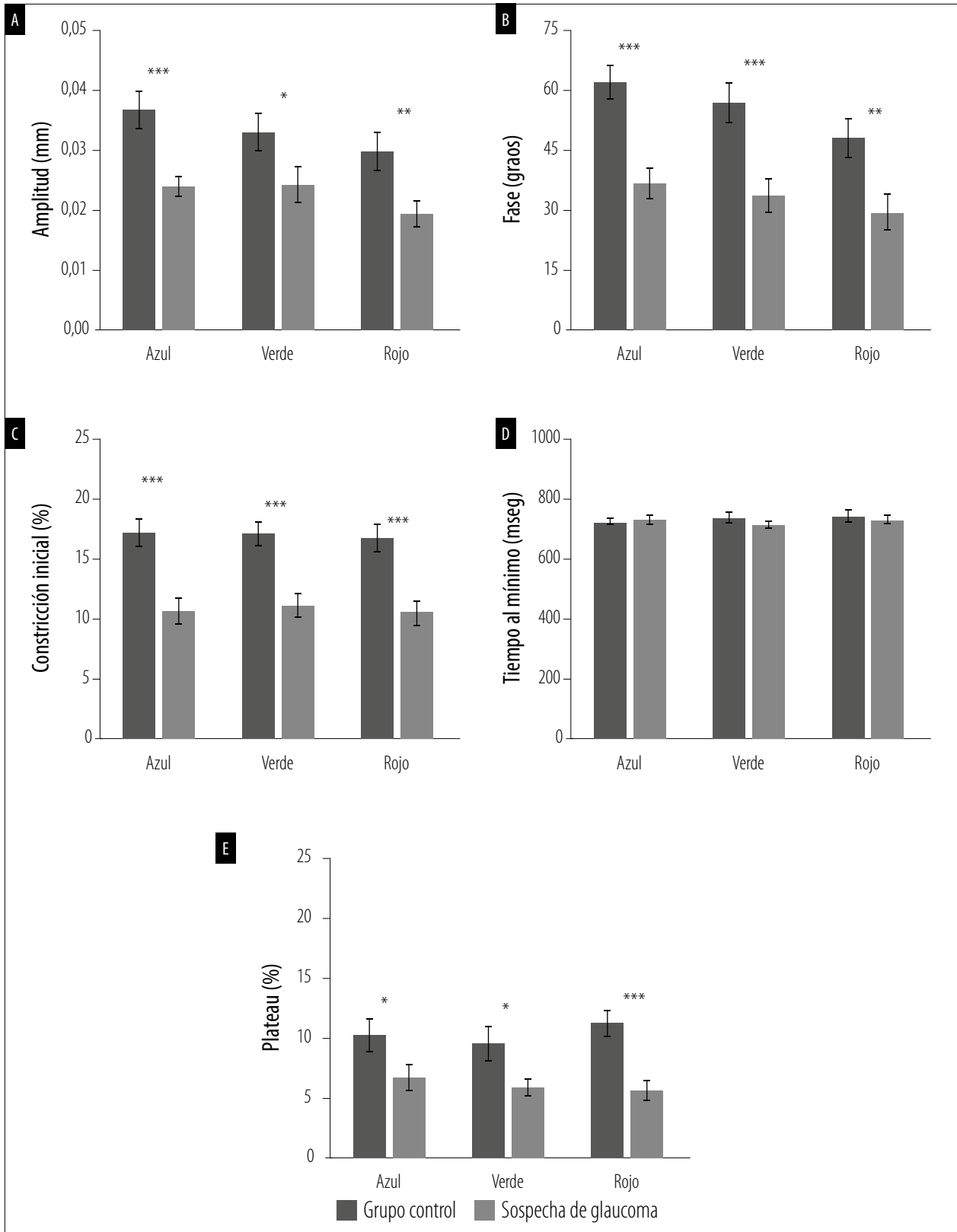
de análisis de la varianza (ANOVA) para comparar los parámetros pupilares obtenidos entre el grupo de pacientes con sospecha de glaucoma y el grupo control, considerando significativas las diferencias para  $p \leq 0,05$ .

## Resultados

Se registraron y analizaron las respuestas pupilares parpadeantes en pacientes con sospecha de GPAA y en individuos sanos. Las gráficas de la figura 3 muestran los resultados en términos del valor promedio obtenidos de los grupos control y sospecha de GPAA para los parámetros de *amplitud* (fig. 3a), *fase* (fig. 3b),

*constricción inicial* (fig. 3c), *tiempo al mínimo* (fig. 3d) y *plateau* (fig. 3e).

A partir del análisis estadístico se encontró una disminución significativa del grupo sospecha de glaucoma respecto del grupo control para la *amplitud* (azul:  $F = 11,69$ ,  $p < 0,001$ ; verde:  $F = 4,11$ ,  $p < 0,05$ ; rojo:  $F = 7,35$ ,  $p < 0,01$ ), la *fase* (azul:  $F = 19,06$ ,  $p < 0,001$ ; verde:  $F = 12,29$ ,  $p < 0,001$ ; rojo:  $F = 7,91$ ,  $p < 0,01$ ), la *constricción inicial* (azul:  $F = 17,76$ ,  $p < 0,001$ ; verde:  $F = 19,57$ ,  $p < 0,001$ ; rojo:  $F = 17,15$ ,  $p < 0,001$ ), el *plateau* (azul:  $F = 4,17$ ,  $p < 0,05$ ; verde:  $F = 5,17$ ,  $p < 0,05$ ; rojo:  $F = 16,99$ ,  $p < 0,001$ ). Sin embargo, para el parámetro de *tiempo al mínimo* no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos para ningún color de estimulación (azul:  $F = 0,5$ ,



**Figura 3.** Parámetros pupilares promedio del grupo control y el grupo sospecha de glaucoma para cada color de estimulación (azul, verde y rojo). A) Amplitud. B) Fase. C) Constricción inicial. D) Tiempo al mínimo. E) Plateau. Las barras corresponden al error estándar de la media. (\*)  $p \leq 0,05$ , (\*\*)  $p \leq 0,01$ , (\*\*\*)  $p \leq 0,001$ .

$p = 0,83$ ; verde:  $F = 1,27$ ,  $p = 0,27$ ; rojo:  $F = 0,25$ ,  $p = 0,62$ ).

## Discusión

En este trabajo se determinó y analizó la respuesta pupilar parpadeante en pacientes con sospecha de GPAA. Se encontró una disminución de los parámetros pupilares en pacientes con sospecha de GPAA respecto del grupo control, indicando una respuesta pupilar parpadeante reducida en tales pacientes.

En cuanto a los parámetros en el dominio del tiempo —asociados a la comúnmente empleada estimulación por pulso—, la constricción inicial se mostró reducida en el grupo de pacientes para los tres colores de estímulos. Esto implica que el porcentaje de constricción respecto del diámetro inicial es mayor en individuos sanos que en pacientes con sospecha de GPAA. De la misma manera se podría inferir para el *plateau*, similar a estudios previos<sup>23-24</sup>. Aunque, para el tiempo al mínimo se obtuvieron valores similares entre ambos grupos, lo que ya fue reportado en pacientes con sospecha de glaucoma<sup>25</sup>.

Si se consideran los resultados en el dominio de la frecuencia, tanto la amplitud como la fase se hallaron reducidas en pacientes con sospecha de GPAA. Por lo que la amplitud de la respuesta pupilar a estímulos sinusoidales de 1 Hz es menor en esos pacientes, con un mayor retraso respecto del estímulo (considerando que el estímulo se encuentra desfasado de la respuesta en 180°) (fig. 2a).

Estos resultados sugieren una disminución en la función de las células retinales en pacientes con sospecha de GPAA, particularmente de las células ganglionares. Estudios de electroretinografía evidenciaron la pérdida o disfunción de estas células en pacientes con sospecha de glaucoma<sup>33-35</sup> indicando además que esa pérdida funcional se produciría previamente a la detección de un daño estructural.

Al ser el RPL comandado principalmente por las ipRGCs<sup>36</sup> los resultados obtenidos podrían indicar una disminución en la función de estas células en pacientes con sospecha de glaucoma,

es decir precedente al diagnóstico de glaucoma. Diversos estudios han evidenciado respuestas pupilares reducidas en pacientes con distintos estadios de glaucoma, incluso en sospecha de glaucoma<sup>20-25</sup>. Para el análisis del funcionamiento de ipRGCs se han empleado pulsos azules de alta intensidad evaluando la respuesta pupilar postiluminación (etapa de redilatación), la que se encontró reducida en pacientes con glaucoma leve, moderado y avanzado<sup>21-22, 25</sup>. Aunque la activación preferencial de cada tipo de fotorreceptor escapa de los objetivos de este trabajo, los resultados encontrados se corresponden con los de estudios previos, hallándose una disminución significativa de parámetros que definen el RPL en pacientes con sospecha de glaucoma.

Una de las limitaciones de nuestro trabajo es la diferencia de edades entre ambos grupos, control y sospecha de glaucoma ( $F: 109,84$ ;  $p < 0,001$ ). Si bien se ha reportado una disminución de respuestas pupilares en individuos sanos mayores respecto de jóvenes, la dependencia con la edad es diferente para cada parámetro pupilar. El diámetro pupilar inicial, el mínimo diámetro pupilar alcanzado (en mm), la velocidad y la aceleración de constricción son parámetros asociados significativamente con la edad<sup>37-40</sup>. Sin embargo, no se hallaron disminuciones significativas de la máxima constricción y la respuesta pupilar sostenida durante la estimulación (*plateau*), calculadas en valores porcentuales respecto del diámetro inicial. De tal manera, se podría inferir que la normalización de los parámetros implicaría una independencia de los mismos con la edad. En ese caso, la disminución en la constricción inicial y el *plateau* de los pacientes con sospecha de glaucoma podrían atribuirse al efecto temprano de esta neuropatía óptica. Nuestro grupo está actualmente realizando mediciones en un grupo control con la misma distribución etaria que el grupo con sospecha de glaucoma para corroborar tales apreciaciones.

A diferencia de otros autores, en el que emplean pulsos de luz como estímulos, este trabajo implementó un protocolo de medida del RPL mediante estimulación parpadeante, no muy ampliamente utilizada aún para exploración de enfermedades oftalmológicas como lo es el glaucoma. Este paradigma ha sido validado previamente en indivi-



duos sanos, demostrando que puede brindar la misma información sobre la respuesta pupilar típicamente evaluada en el dominio del tiempo (respuestas a pulsos de luz) y además sobre la respuesta en el dominio de la frecuencia<sup>29</sup>. Por lo que el paradigma por parpadeo representa un protocolo pupilar óptimo para evaluar la función retinal, lo que se respalda por los resultados de este trabajo.

Cabe señalar que el grupo evaluado comprende pacientes con sospecha de glaucoma, es decir, pacientes que reúnen ciertos factores de riesgo que aumentan la probabilidad de desarrollar esta neuropatía óptica. Sin embargo, esto no implica que todos ellos sean diagnosticados en el futuro. Por lo tanto, el seguimiento de estos pacientes es crucial para conocer el diagnóstico definitivo y de esta manera determinar qué parámetros son los que efectivamente detectaron de manera temprana los cambios debidos al glaucoma.

## Conclusión

Mediante pupilometría cromática se evaluaron las respuestas pupilares de pacientes con sospecha de glaucoma, adoptando un novedoso protocolo parpadeante con estímulos sinusoidales. Los resultados mostraron una disminución de los parámetros pupilares —tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia— en estos pacientes respecto de un grupo control. El seguimiento de estos pacientes sustentará la habilidad de la pupilometría cromática como herramienta útil en la detección de cambios tempranos provocados por glaucoma. Siendo una técnica objetiva, tiene potencial uso en la práctica clínica para el diagnóstico y seguimiento de pacientes, destacando su función de biomarcador del estado retinal.

## Referencias

1. Mowatt G, Burr JM, OAG Screening Project *et al.* Screening tests for detecting open-angle glaucoma: systematic review and meta-analysis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 5373-5385.
2. Zhang N, Wang J, Li Y, Jiang B. Prevalence of primary open angle glaucoma in the last 20 years: a meta-analysis and systematic review. *Sci Rep* 2021; 11: 13762.
3. GBD 2019 Blindness and Vision Impairment Collaborators; Vision Loss Expert Group of the Global Burden of Disease Study. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the right to sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health* 2021; 9: e144-e160; e408.
4. Berson DM, Dunn FA, Takao M. Phototransduction by retinal ganglion cells that set the circadian clock. *Science* 2002; 295: 1070-1073.
5. Dacey DM, Liao HW, Peterson BB *et al.* Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature* 2005; 433: 749-754.
6. Barrionuevo PA, Issolio LA, Tripolone C. Photoreceptor contributions to the human pupil light reflex. *J Photochem Photobiol* 2023; 15:100178.
7. Provencio I, Rodriguez IR, Jiang G *et al.* A novel human opsin in the inner retina. *J Neurosci* 2000; 20: 600-605.
8. Hattar S, Liao HW, Takao M *et al.* Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science* 2002; 295: 1065-1070.
9. Baver SB, Pickard GE, Sollars PJ, Pickard GE. Two types of melanopsin retinal ganglion cell differentially innervate the hypothalamic suprachiasmatic nucleus and the olivary pretectal nucleus. *Eur J Neurosci* 2008; 27: 1763-1770.
10. Kelbsch C, Strasser T, Chen Y *et al.* Standards in pupillography. *Front Neurol* 2019; 10: 129.
11. Rukmini AV, Milea D, Gooley JJ. Chromatic pupillometry methods for assessing photoreceptor health in retinal and optic nerve diseases. *Front Neurol* 2019; 10: 76.
12. Park JC, Moura AL, Raza AS *et al.* Toward a clinical protocol for assessing rod, cone, and melanopsin contributions to the human pupil response. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 6624-6635.

13. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG *et al.* Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology* 2009; 116: 1564-1573.
14. Kardon R, Anderson SC, Damarjian TG *et al.* Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology* 2011; 118: 376-381.
15. Kawasaki A, Munier FL, Leon L, Kardon RH. Pupillometric quantification of residual rod and cone activity in leber congenital amaurosis. *Arch Ophthalmol* 2012; 130: 798-800.
16. Feigl B, Zele AJ, Fader SM *et al.* The post-illumination pupil response of melanopsin-expressing intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in diabetes. *Acta Ophthalmol* 2012; 90: e230-e234.
17. Feigl B, Zele AJ. Melanopsin-expressing intrinsically photosensitive retinal ganglion cells in retinal disease. *Optom Vis Sci* 2014; 91: 894-903.
18. Maynard ML, Zele AJ, Feigl B. Melanopsin-mediated post-illumination pupil response in early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56: 6906-6913.
19. Moura ALA, Nagy BV, La Morgia C *et al.* The pupil light reflex in Leber's hereditary optic neuropathy: evidence for preservation of melanopsin-expressing retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 4471-4477.
20. Feigl B, Mattes D, Thomas R, Zele AJ. Intrinsically photosensitive (melanopsin) retinal ganglion cell function in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 4362-4367.
21. Gracitelli CPB, Duque-Chica GL, Moura AL *et al.* A positive association between intrinsically photosensitive retinal ganglion cells and retinal nerve fiber layer thinning in glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 7997-8005.
22. Duque-Chica GL, Gracitelli CPB, Moura ALA *et al.* Inner and outer retinal contributions to pupillary light response: correlation to functional and morphologic parameters in glaucoma. *J Glaucoma* 2018; 27: 723-732.
23. Najjar RP, Sharma S, Atalay E *et al.* Pupillary responses to full-field chromatic stimuli are reduced in patients with early-stage primary open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 2018; 125: 1362-1371.
24. Rukmini AV, Milea D, Baskaran M *et al.* Pupillary responses to high-irradiance blue light correlate with glaucoma severity. *Ophthalmology* 2015; 122: 1777-1785.
25. Adhikari P, Zele AJ, Thomas R, Feigl B. Quadrant field pupillometry detects melanopsin dysfunction in glaucoma suspects and early glaucoma. *Sci Rep* 2016; 6: 33373.
26. Adhikari P, Feigl B, Zele AJ. The flicker Pupil Light Response (fPLR). *Transl Vis Sci Technol* 2019; 8: 29.
27. Troelstra A. Detection of time-varying light signals as measured by the pupillary response. *J Opt Soc Am* 1968; 58: 685-690.
28. Barrionuevo PA, Nicandro N, McAnany JJ *et al.* Assessing rod, cone, and melanopsin contributions to human pupil flicker responses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014; 55: 719-727.
29. Tripolone MC, Issolio LA, Agüero C *et al.* Comparing flickering and pulsed chromatic pupil light responses. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2022; 39: 1505-1512.
30. Tripolone C, Romano P, Issolio L, Barrionuevo P. Desarrollo de un sistema portátil para medir el tamaño pupilar bajo estimulación monocromática dinámica. En: Encuentro Científico de Investigadores de la Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología (ECIFACET) de la Universidad Nacional de Tucumán. *Libro de resúmenes* [en línea]. San Miguel de Tucumán: FACET, 2019, p. 103. Disponible en: <https://www.facet.unt.edu.ar/ecifacet/wp-content/uploads/sites/40/2019/12/ECIFACET-Edición-2019-LIBRO-DE-RESUMENES.pdf>
31. Barrionuevo PA, Cao D. Luminance and chromatic signals interact differently with melanopsin activation to control the pupil light response. *J Vis* 2016; 16: 29.
32. Barrionuevo PA, McAnany JJ, Zele AJ, Cao D. Non-linearities in the rod and cone photoreceptor inputs to the afferent pupil light response. *Front Neurol* 2018; 9: 1140.
33. Tirsi A, Gliagias V, Moehringer J *et al.* Pattern electroretinogram parameters are associated with optic nerve morphology in preperimetric glaucoma after adjusting for disc area. *J Ophthalmol* 2021; 2021: 8025337.

34. Gordon PS, Kostic M, Monsalve PF *et al.* Long-term PERG monitoring of untreated and treated glaucoma suspects. *Doc Ophthalmol* 2020; 141: 149-156.
35. Ventura LM, Golubev I, Feuer WJ, Porciatti V. Pattern electroretinogram progression in glaucoma suspects. *J Glaucoma* 2013; 22: 219-225.
36. Güler AD, Ecker JL, Lall GS *et al.* Melanopsin cells are the principal conduits for rod-cone input to non-image-forming vision. *Nature* 2008; 453: 102-105.
37. Bitsios P, Prettyman R, Szabadi E. Changes in autonomic function with age: a study of pupillary kinetics in healthy young and old people. *Age Ageing* 1996; 25: 432-438.
38. Fotiou DE, Brozou CG, Tsiptsios DJ *et al.* Effect of age on pupillary light reflex: evaluation of pupil mobility for clinical practice and research. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 2007; 47: 11-22.
39. Sharma S, Baskaran M, Rukmini AV *et al.* Factors influencing the pupillary light reflex in healthy individuals. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016; 254:1353-1359.
40. Rukmini AV, Milea D, Aung T, Gooley JJ. Pupillary responses to short-wavelength light are preserved in aging. *Sci Rep* 2017; 7: 43832.