



**HAL**  
open science

# Pupillométrie dynamique : approches fondamentales et cliniques

Suzon Ajasse

► **To cite this version:**

Suzon Ajasse. Pupillométrie dynamique : approches fondamentales et cliniques. Sciences cognitives. Sorbonne Université, 2019. Français. NNT : 2019SORUS006 . tel-02935896

**HAL Id: tel-02935896**

**<https://theses.hal.science/tel-02935896>**

Submitted on 10 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Sorbonne Université

Ecole doctorale Cerveau – Cognition – Comportement

*Institut de la vision / Equipe Vision et calcul naturel*

## **Pupillométrie dynamique : approches fondamentales et cliniques.**

Par Suzon Ajasse

Thèse de doctorat de Sciences Cognitives

Dirigée par Jean Lorenceau et Ryad Benosman

Présentée et soutenue publiquement le 17 septembre 2019

Devant un jury composé de :

Lorenceau, Jean, Directeur CNRS, Directeur de thèse

Benosman, Ryad, Professeur de Sorbonne Université, Directeur de thèse

Boucart, Muriel, Directrice de recherche CNRS, Rapporteur

Chokron, Sylvie, Directrice de recherche CNRS, Rapporteur

Lohof, Ann, Professeur de Sorbonne Université, Examineur

Legras, Richard, Maître de conférences HDR, Examineur



# Remerciements

---

Mes premiers remerciements sont adressés à mon directeur de thèse Jean Lorenceau, qui, après m'avoir encadrée lors de mon stage de M2, m'a accordé sa confiance en me proposant cette aventure qu'est le doctorat. C'est auprès de lui que j'ai découvert le monde de la recherche et que j'y ai pris goût. Je n'étais pas rabat-joie, je compensais juste ton enthousiasme débordant !

Je remercie également mon co-directeur Ryad Benosman pour m'avoir accueilli au sein de son équipe. Je garderai en mémoire nos conversations motardes.

Merci à Ann Lohof d'avoir accepté de présider mon jury. Merci à Muriel Boucart et Sylvie Chokron qui ont accepté la lourde tâche de rapporter sur ce manuscrit. Merci à Richard Legras d'avoir accepté d'examiner mon travail de thèse. Merci à eux tous pour leur patience et leur compréhension lors de l'organisation de ma soutenance de thèse.

Je remercie également Anne Marie Zarb pour son aide et ses mots rassurants dans les processus administratifs qui semblent parfois bien obscurs.

Merci à tous mes camarades doctorants, stagiaires et post-doctorants pour leur amitié. Un remerciement tout particulier à Laure et Arthur pour leur bienveillance et à Mylène avec qui j'ai partagé mes tribulations et mes égarements tricot.

Je remercie mes parents pour leur amour sans fond et sans faille et pour m'avoir poussée toujours plus loin sur le chemin des études. Je remercie mes trois sœurs, sans qui je ne serais pas qui je suis, et qui me donnent le courage de surmonter tous les obstacles de la vie.

Merci enfin à Guillaume qui m'a supportée et soutenue tant bien que mal ces dernières années pour le moins riches en émotions. Promis, j'essaierai d'être moins pénible à l'avenir.



# Sommaire

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCTION : L'OCULOMETRIE ET LA PUPILLOMETRIE.....</b>	<b>7</b>
<b>CHAPITRE DESCRIPTIF : L'ŒIL, LA VISION, L'OCULOMOTRICITE ET LA PUPILLE .....</b>	<b>9</b>
I L'ŒIL : ORGANE DE LA PERCEPTION VISUELLE.....	9
<i>I.1 Le parcours de la lumière dans l'œil .....</i>	<i>9</i>
<i>I.2 La rétine.....</i>	<i>10</i>
<i>I.3 Le traitement de l'information visuelle.....</i>	<i>12</i>
I.3.A La voie visuelle primaire ou voie rétino-géniculo-striée .....	13
I.3.B La voie rétino-tectale : oculomotricité .....	15
I.3.C La voie photique : régulation du rythme circadien.....	15
II L'ŒIL : ORGANE ACTIF DE LA PERCEPTION VISUELLE.....	16
<i>II.1 Le système oculomoteur.....</i>	<i>16</i>
II.1.A Les mouvements oculaires .....	16
II.1.A.a Les saccades .....	17
II.1.A.b Le mouvement de poursuite.....	18
II.1.A.c Les mouvements de fixation .....	18
II.1.B Les muscles oculomoteurs et innervation .....	19
<i>II.2 Le système pupillomoteur.....</i>	<i>21</i>
II.2.A L'anatomie.....	21
II.2.B L'état de l'art .....	23
II.2.B.a Influence du diamètre pupillaire .....	23
II.2.B.b Les facteurs externes .....	24
II.2.B.b.i Le réflexe pupillaire à la lumière.....	24
II.2.B.b.ii La spatialisation du stimulus .....	25
II.2.B.b.iii La chromaticité et la mélanopsine .....	26
II.2.B.b.iv La triade de vision de près .....	28
II.2.B.c Les facteurs internes .....	29
II.2.B.c.i L'état d'éveil : Hippus.....	29
II.2.B.c.ii La charge cognitive et l'activité mnésique :.....	30
II.2.B.c.iii L'attention .....	31
II.2.B.c.iv La sémantique .....	31
<b>PROBLEMATISATION.....</b>	<b>33</b>
<b>CHAPITRE DE PUPILLOMETRIE FONDAMENTALE : EFFET DES REPONSES PUPILLAIRES A LA LUMINANCE ET A L'ATTENTION SUR LA DISCRIMINATION DE FREQUENCES SPATIALES. ....</b>	<b>35</b>
I INTRODUCTION .....	35
II EXPÉRIENCE 1 .....	37

II.1 Participants.....	38
II.2 Matériel .....	38
II.3 Stimulus et procédure .....	38
II.4 Analyse des données.....	40
II.5 Résultats .....	43
II.6 Discussion .....	46
III EXPERIENCE 2 .....	48
III.1 Participants.....	48
III.2 Stimulus et procédure.....	48
III.3 Analyse des données.....	49
III.4 Résultats .....	51
III.4.A Effet de la luminance sur les dynamiques pupillaires.....	51
III.4.B Effet des Gabor sur les réponses pupillaires .....	54
III.4.C Dilatation pupillaire et performances.....	55
III.5 Comparaison entre l'Expérience 1 et l'Expérience 2 .....	56
IV DISCUSSION GENERALE .....	59
IV.1 Effet de la luminance et de la taille de la pupille sur les performances.....	59
IV.2 Dynamiques pupillaires pendant la tâche de discrimination de fréquences spatiales .....	61
V CONCLUSION .....	62

**CHAPITRE DE PUPILLOMETRIE CLINIQUE : METHODES OBJECTIVES DE DETECTION ET DE SUIVI DE  
PATHOLOGIES OCULAIRES..... 63**

I L'ÉTUDE PUPDYN .....	63
I.1 Introduction .....	63
I.2 Pathologies PupDyn dans la littérature .....	64
I.2.A Rétinite pigmentaire (RP) .....	65
I.2.B Neuropathie optique héréditaire de Leber (NOHL).....	66
I.2.C Maladie de Stargardt (SD) .....	67
I.3 Choix des tests de pupillométrie .....	68
I.3.A Dynamiques pupillaires .....	68
I.3.B Vision des couleurs .....	69
II MATÉRIEL ET MÉTHODE .....	71
II.1 Les Participants.....	71
II.1.A Description de la population d'étude.....	71
II.1.A.a Critères d'inclusion des participants .....	71
II.1.A.b Critères de non-inclusion des participants .....	72
II.1.A.c Critères d'exclusion secondaire (à l'issue de la visite d'inclusion).....	72
II.1.B Critères de non-inclusion des participants .....	72
II.1.C Critères d'exclusion secondaire (à l'issue de la visite d'inclusion).....	72
II.2 Déroulement de l'étude .....	73
II.3 Les données ophtalmologiques.....	73
II.4 La séance de pupillométrie .....	76

II.4.A Matériel.....	76
II.4.B Protocole.....	77
II.5 Analyses.....	78
III LES TESTS « CLASSIQUES » DE PUPILLOMETRIE.....	79
III.1 <i>Le réflexe pupillaire à la lumière (PLR)</i> .....	79
III.1.A Description.....	79
III.1.B Protocole de mesure pour PupDyn et méthode d'analyses.....	79
III.1.C Résultats chez les populations PupDyn.....	81
III.1.D Discussion et conclusion.....	84
III.2 <i>La mesure du déficit pupillaire afférent relatif (RAPD)</i> .....	84
III.2.A Description.....	84
III.2.B Protocole de mesure pour PupDyn.....	85
III.2.C Résultats chez les populations PupDyn.....	86
III.2.D Discussion et conclusion.....	88
IV LE CYCLE D'OSCILLATION ENDOGENE DE LA PUPILLE (PCT).....	89
IV.1 <i>Description</i> .....	89
IV.2 <i>Etude chez des patients atteints de névrite optique</i> .....	90
IV.2.A Méthode.....	91
IV.2.A.a Participants.....	91
IV.2.A.b Matériel et Stimulus.....	92
IV.2.A.c Protocole.....	93
IV.2.A.d Analyses.....	93
IV.2.B Résultats.....	94
IV.2.C Discussion et conclusion.....	97
IV.2.D Conséquences pour l'étude PupDyn.....	97
IV.3 <i>Protocole de mesure pour PupDyn</i> .....	98
IV.4 <i>Résultats chez les populations PupDyn</i> .....	100
IV.4.A Analyse du PCT.....	100
IV.4.B PCT et spatialisation.....	101
IV.4.C Mise en relation du PCT avec les données ophtalmologiques.....	107
IV.4.D PCT et couleurs.....	111
IV.5 <i>Discussion</i> .....	113
IV.6 <i>Conclusion</i> .....	115
V LA MESURE DE L'ACTIVITE PUPILLAIRE PAR MARQUAGE FREQUENTIEL (PFT).....	117
V.1 <i>Description</i> .....	117
V.2 <i>Etudes préliminaires chez des sujets sains</i> .....	118
V.2.A Choix des fréquences.....	118
V.2.B Design du stimulus.....	121
V.2.C Disparité rétinienne et positionnement des fréquences.....	124
V.2.D Excentricité et fréquences.....	126
V.2.E Simulation de vision tubulaire chez le sujet sain.....	128

V.3 Protocole de mesure pour PupDyn .....	131
V.4 Résultats chez les populations PupDyn .....	132
V.4.A PFT plein écran.....	132
V.4.A.a PFT plein champ et spatialisation .....	132
V.4.A.b Mise en relation du PFT plein écran avec les données ophtalmiques .....	137
V.4.B PFT localisé.....	139
V.4.B.a PFT localisé et spatialisation .....	139
V.4.B.b Mise en relation du PFT localisé avec les données ophtalmologiques .....	142
V.4.C Discussion.....	144
V.4.C.a Les patients atteints de MS.....	144
V.4.C.b Les patients atteints de RP.....	145
V.4.C.c Les patients atteints de NOHL.....	146
V.4.D Conclusion et perspectives .....	146
VI RECAPITULATIF DES RESULTATS DE L'ÉTUDE.....	148
VII CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	151
<b>DISCUSSION GENERALE, PERSPECTIVES.....</b>	<b>155</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	<b>157</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>171</b>
<b>RESUME .....</b>	<b>193</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>195</b>

# Glossaire

CGL : corps genouillé latéral

CI ou IC : intervalle de confiance

CS : colliculus supérieur

CV : champ visuel

EEG : électro-encéphalographie / électro-encéphalogramme

EOG : électro-oculogramme

ERG : électrorétinogramme

FFT : transformée de Fourier discrète

GLM : modèle linéaire généralisé

ipRGC : cellules ganglionnaires rétiniennes intrinsèquement photosensibles

MS : maladie de Stargardt / patients atteints de la maladie de Stargardt

NO : névrite optique

NOHL ou NL : neuropathie optique héréditaire de Leber

OCT : tomographie à cohérence optique

PCT : test du cycle d'oscillation endogène de la pupille

PFT : test du marquage fréquentiel de la pupille

PLR : réflexe pupillaire à la lumière

PSD : puissance spectrale

pT : prétectum

RAPD : test du défaut relatif afférent de la pupille

RGC ou RGc : cellules ganglionnaires rétiniennes

ROC : caractéristique de fonctionnement du récepteur

RP : rétinite pigmentaire

SC : sujets contrôles

SLR : pente de régression linéaire

V1 : cortex visuel primaire

# Introduction : l'oculométrie et la pupillométrie

---

L'oculométrie est l'étude des mouvements oculaires. A l'origine observés à l'œil nu, les mouvements oculaires sont étudiés dès les années 1800. Louis Emile Javal, ophtalmologiste français est l'un des premiers à s'y intéresser et décrit que lors de la lecture, les yeux ne sont pas en mouvements continus (aujourd'hui appelé poursuite visuelle) mais effectuent des mouvements rapides (saccades), entrecoupés de courtes pauses (fixations).

En 1903, Dodge publie une première classification des mouvements oculaires.

Quelques années plus tard, Edmund Burke Huey, donnera naissance au premier oculomètre, lui permettant de publier un ouvrage dans lequel il décrira l'hétérogénéité de l'importance des mots constituant une phrase. Ce premier oculomètre était un dispositif « intrusif », puisqu'il consistait en une lentille de contact déposée sur l'œil du sujet d'expérience, reliée à un pointeur reflétant les mouvements de l'œil.

L'évolution des technologies dans tous les domaines a par la suite permis le développement de nouvelles méthodes d'oculométrie toujours plus précises, avec l'utilisation des champs électromagnétiques (oculomètre analysant le champ électromagnétique de bobines de cuivres incrustées dans des lentilles de contact, EOG : électro-oculogramme), puis des méthodes non invasives, à l'aide de la photographie, et enfin la vidéo infra-rouge. Les oculomètres à caméra infra-rouge sont aujourd'hui les plus utilisés car ils sont très précis, tant spatialement que temporellement, non invasif et ne représentent aucun risque connu pour la santé oculaire. Cette nouvelle technique permet, en plus d'une étude précise et objective de l'oculomotricité, une observation de l'activité pupillaire, soit la taille du diamètre pupillaire au cours du temps, avec ces mêmes avantages.

La pupillométrie, l'analyse du comportement pupillaire existe également depuis plusieurs dizaines d'années et est utilisée aujourd'hui encore dans l'ophtalmologie et la neurologie, mais souvent avec des méthodes simples, qualitatives et non quantitatives (par exemple en recherchant la présence de réflexe pupillomoteur à l'aide d'un stylo lampe).

En 1760, Lambert fût le premier à observer l'oscillation de la pupille suite à l'entrée de la lumière d'une chandelle dans l'œil par la pupille (Loewenfeld, 1966). En 1944, Stern décrit l'anomalie de la réponse pupillaire à la lumière comme un facteur clinique facilement observable pouvant servir de biomarqueur de pathologies du système nerveux central.

En plus d'être étudiée comme un moyen d'évaluer le fonctionnement des voies de traitement de l'information visuelle ou lumineuse (la rétine, le nerf optique, etc.), la pupille est considérée par certains chercheurs spécialistes comme « une fenêtre vers l'inconscient » et plus largement vers des processus cognitifs de traitement de l'information, qu'elle soit de nature attentionnelle, émotionnelle, mémorielle, nociceptive et autres.

Il a également été observé que le comportement pupillaire peut être modifié au cours de certaines pathologies, qu'elles soient oculaires (rétinopathies, neuropathies, etc.), systémiques (comme le diabète, l'hypertension, atteintes neurologiques comme Parkinson etc.), ou psychiatriques (hyperactivité, autisme, etc.)

Depuis une dizaine d'années, l'oculométrie est en plein essor, en particulier dans des domaines d'application faisant appel aux interfaces homme-machine. Les mouvements oculomoteurs et pupillaires sont également étudiés à des fins commerciales dans l'élaboration de marketing ciblé.

Parallèlement, des applications cliniques mettant en jeu une connaissance pointue de l'oculomotricité et de l'activité pupillaire ainsi qu'une reconnaissance d'un comportement anormal émergent. Ces applications cliniques ont pour but la détection précoce et le suivi de pathologies oculaires, systémiques ou psychiatriques.

# CHAPITRE DESCRIPTIF : L'œil, la vision, l'oculomotricité et la pupille

## I L'œil : organe de la perception visuelle

### I.1 Le parcours de la lumière dans l'œil

L'œil est une sphère d'environ 4cm de diamètre, que l'on pourrait assimiler à une chambre noire. La lumière entrant dans l'œil va traverser une série de milieux transparents avant d'atteindre la rétine, où se situent les cellules sensibles à la lumière : les photorécepteurs.

L'œil est un milieu réfractant la lumière, les rayons lumineux entrant dans l'œil sont déviés jusqu'à la rétine, ainsi l'image d'un objet de 20° dans le champ visuel (soit environ 20cm à 57cm de l'œil), va mesurer approximativement 6mm sur la rétine.

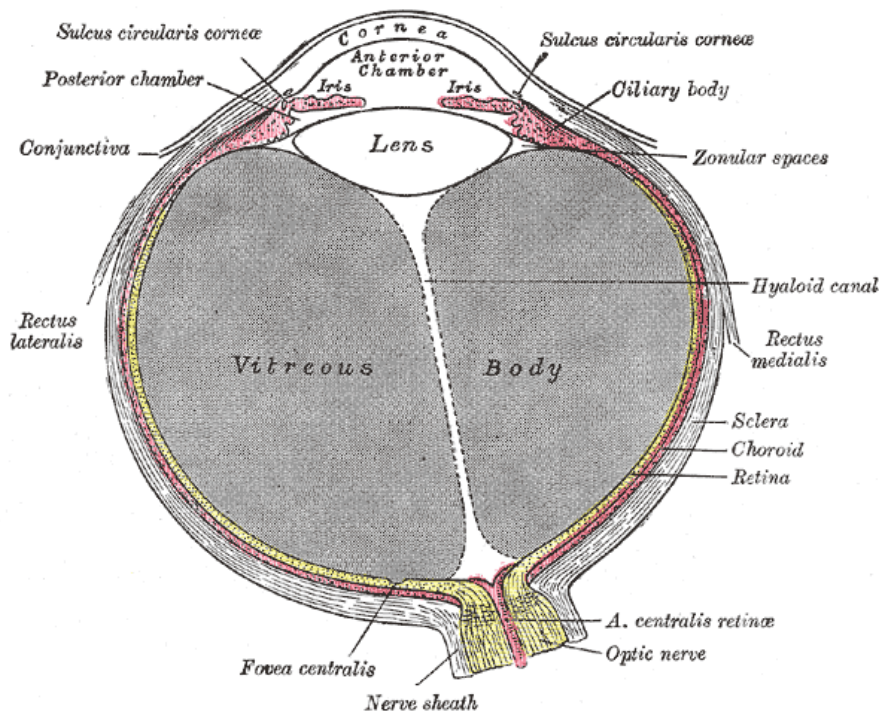


Figure 1: Anatomie de l'œil : coupe sagittal. De Gray, 1878.

La cornée est la première lentille traversée par la lumière entrant dans l'œil. La cornée représente le premier dioptré réfractant la lumière (après le film lacrymal), et possède une puissance de réfraction d'environ 40δ, en fonction des individus et des rayons de courbures cornéens antérieurs (dioptré larmes/cornée) et postérieurs (dioptré cornée/humeur aqueuse).



L'humeur aqueuse est un liquide présent dans la chambre antérieure de l'œil. Elle est sécrétée au niveau des corps ciliaires.

Le cristallin est la deuxième lentille de l'œil, avec une puissance de réfraction d'environ 20δ toujours en fonction de ses rayons de courbures antérieurs (dioptre humeur aqueuse/cristallin) et postérieurs (dioptre cristallin/corps vitré). Sa puissance de réfraction est variable, puisqu'il s'agit de la lentille responsable de la capacité d'accommodation. Le cristallin est maintenu dans l'axe optique de l'œil par les zonules de Zinn, elles-mêmes rattachées aux muscles ciliaires. Quand les muscles ciliaires se contractent, les zonules se relâchent, ce qui va avoir pour effet de bomber le cristallin, augmentant sa puissance de réfraction, c'est l'accommodation qui permet à l'image d'un objet proche de se former nettement sur la rétine.

Le corps vitré est un liquide gélatineux qui sert de maintien aux différentes couches cellulaires de la rétine.

## I.2 La rétine

La rétine est constituée de plusieurs couches de cellules de différentes natures qui sont représentées en Figure 2 ci-dessous.

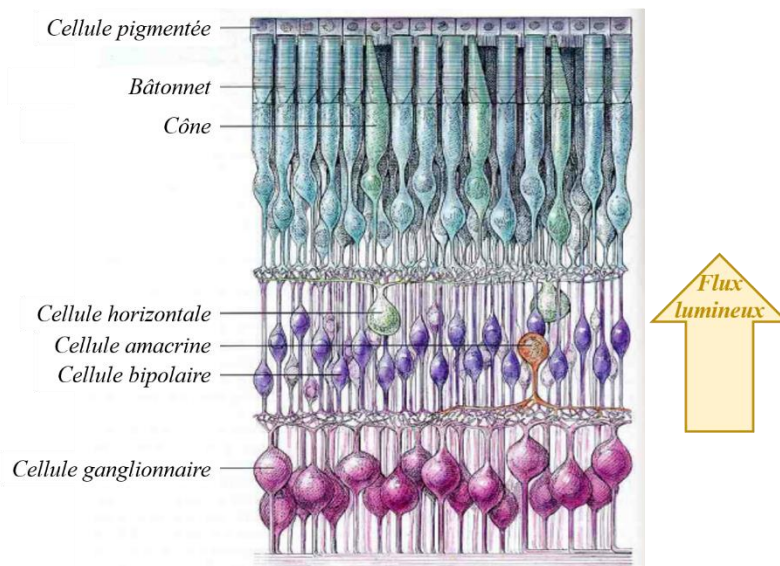


Figure 2: Anatomie de la rétine

La lumière traverse toutes les couches cellulaires de la rétine avant de se réfléchir sur l'épithélium pigmentaire vers la partie photosensible des photorécepteurs, qui transforment l'information lumineuse en information neuronale.

On observe deux populations de photorécepteurs, les bâtonnets et les cônes. Les bâtonnets possèdent une grande sensibilité au contraste lumineux. Les cônes quant à eux sont divisés en trois sous populations ayant chacune une sensibilité spécifique à une longueur d'onde (déterminant la couleur). Les cônes S (pour « short »), ont une sensibilité accrue à une longueur d'onde d'environ 437nm (couleur bleu), les cônes M (pour « medium ») sont plus sensibles à 533nm (couleur vert) et les cônes L (pour « long ») sont eux sensibles à 564 (couleur rouge). La combinaison de ces trois sensibilités spécifiques rend possible la vision des couleurs. Il est à noter que la résolution spatiale des cônes est meilleure que la résolution des bâtonnets (le champ récepteur des bâtonnets est plus étendu que celui des cônes), ce qui explique l'hétérogénéité de leur distribution sur l'ensemble de la rétine. En effet, si la mosaïque des photorécepteurs est propre à chaque individu, on observe que 90% des cônes sont situés dans la région centrale de la rétine correspondant au champ visuel central où la vision est la plus fine. Cette zone de la rétine responsable de l'acuité visuelle la plus élevée est appelée fovéa. Elle se situe au fond de l'œil, au niveau de l'axe visuel.

L'information lumineuse transformée en signal nerveux est ensuite envoyée via les axones des cellules d'une couche cellulaire à l'autre. Chaque couche de cellules à un rôle spécifique dans le prétraitement du signal visuel ainsi qu'un champ récepteur propre.

La dernière couche cellulaire de la rétine est constituée des cellules ganglionnaires (RGc) qui ont la particularité de présenter des axones d'une longueur bien plus importante que ceux des cellules précédentes. Ces axones courent à la surface interne de la rétine jusqu'à plonger dans le nerf optique de la rétine en formant ce qu'on appelle les faisceaux du nerf optique (Figure 3A).

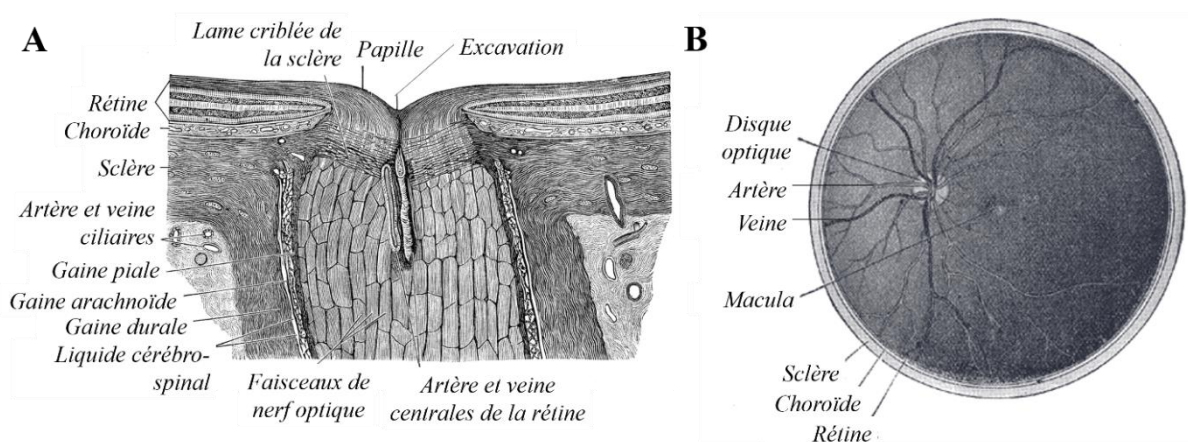


Figure 3: Anatomie du nerf optique et vascularisation de la rétine. (A) Coupe horizontale de la tête du nerf optique, portion terminale du nerf optique et son entrée dans le globe oculaire. (B) Fond d'œil gauche, intérieur de la moitié postérieure du globe oculaire ; les veines ont une apparence plus foncée que les artères. Issue de Gray, 1913.

Le nerf optique est une zone de la rétine dénuée de photorécepteurs, il forme donc au niveau du champ visuel un scotome, une tâche aveugle, appelée tâche de Mariotte.

C'est également par le nerf optique que débouche la vascularisation sanguine de la rétine, l'artère et la veine centrales (Figure 3B).

### **I.3 Le traitement de l'information visuelle**

Les nerfs optiques des deux yeux vont se rejoindre puis se diviser au niveau du chiasma optique. Les fibres nerveuses correspondant aux hémichamps temporaux et nasaux de chaque œil vont être séparées de la façon suivante : l'hémichamp gauche va se projeter vers l'hémisphère cérébral droit et l'hémichamp droit vers l'hémisphère cérébral gauche. Ainsi les fibres provenant des hémichamps nasaux vont se croiser au niveau du chiasma, c'est ce qu'on appelle la décussation qui va permettre le traitement croisé de l'information visuelle. Environ 60% des fibres croisent tandis que les 40% restent du même côté. Une fois que les fibres des RGC ont passé le chiasma, elles forment le tractus optique, ou les bandelettes optiques contenant des fibres provenant des deux yeux (et non d'un seul comme le nerf optique) (Figure 4).



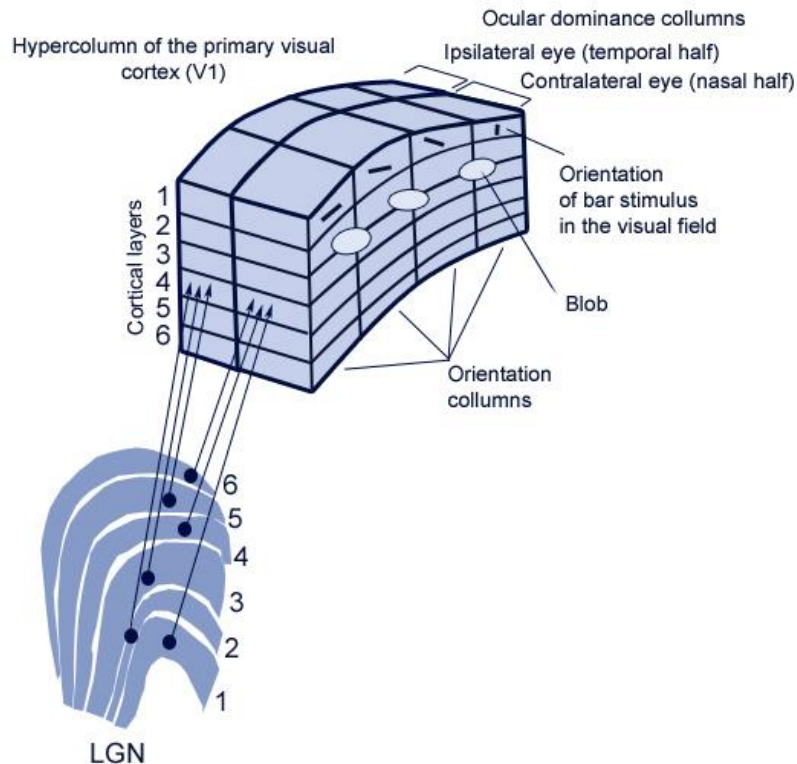


Figure 5 : Le corps genouillé latéral (Geniculate Lateral Nuclei : GLN) et le cortex visuel primaire (V1), figure issue de Georgiev, 2002.

Les couches 1 et 2 sont formées de cellules magnocellulaires (Mc) qui présentent un corps cellulaire d'une taille importante (magno vient du latin magnus signifiant « gros »). Les couches 3 à 6 sont composées de cellules plus petites, les cellules parvocellulaires (Pc, du latin parvus signifiant « petit »). Chaque couche du CGL présente une sous-couche de cellules très petites appelées cellules koniocellulaires (Kc, du latin konios, poussière).

Chacune de ces trois populations de cellules possède une spécialisation fonctionnelle. Les Mc sont sensibles aux contrastes relativement faibles, aux fréquences spatiales basses et aux fréquences temporelles élevées. Elles ne sont en revanche pas sensibles aux contrastes chromatiques. Elles présentent un champ récepteur de taille moyenne et de ce fait ne permettent pas une bonne acuité.

Les Pc sont sensibles aux contrastes chromatiques, aux fréquences spatiales élevées, aux fréquences temporelles basses et sont peu sensibles aux contrastes de luminance faibles. Cette population de cellules présente des champs récepteurs de petite taille permettant une bonne acuité.

La fonction des Kc est moins claire même si on suppose qu'elles présentent une certaine sensibilité à la chromaticité, on sait qu'elles ont un champ récepteur important et que leur réponse peut être lente ou rapide.

A ce stade du traitement de l'information visuelle, la rétinotopie est conservée, ce qui signifie que la terminaison des axones des RGc se projette dans chaque couches du CGL en gardant une cartographie telle qu'un stimulus visuel perçu par les deux yeux se projette dans les couches du CGL en suivant une ligne (Figure 5).

Les informations sortant du CGL sont dirigées vers le cortex visuel primaire (V1) présentant une structure particulière en hyper-colonnes en fonction de la dominance oculaire, elles-mêmes composées de colonnes corticales correspondant à l'orientation du stimulus sur la rétine, et les blobs codant pour la couleur (Figure 5).

Les informations de V1 sont ensuite envoyées vers d'autres aires cérébrales, comme V2, V3 et V5 cette dernière étant impliquée dans la perception du mouvement, ou V4 qui sous-tend (entre autres) la perception des couleurs. (Georgiev, 2002 ; Kastner et al, 2004 ; Yu et al, 2016)

### **I.3.B La voie rétino-tectale : oculomotricité**

Cette voie est constituée de la projection de 10% des axones des RGc vers le colliculus supérieur (CS) et le prétectum (pT). Le CS a pour fonction d'orienter le regard vers des cibles d'intérêt situées dans le champ de vision, il est à l'origine de la programmation des saccades, mouvements balistiques dont nous parlerons plus tard dans ce document. Le pT quant à lui, se situe entre le thalamus et le mésencéphale, à mi-chemin des axones des RGc se projetant vers le CS. Son rôle est de moduler la taille de la pupille en réponse à des variations de luminance et il est également impliqué dans le réflexe de poursuite visuelle afin de stabiliser l'image d'objets en mouvement sur la rétine (et plus précisément sur la fovéa).

### **I.3.C La voie photique : régulation du rythme circadien**

Cette voie met en jeu les noyaux suprachiasmatiques qui reçoivent les axones des RGc sortant du chiasma optique et qui jouent un rôle dans la régulation du rythme circadien de l'organisme qui est responsable en particulier de la sécrétion de la mélatonine, hormone régulant l'éveil et le sommeil, mais également la régulation de la température corporelle au cours de la journée etc.

## **II L'œil : organe actif de la perception visuelle**

### **II.1 Le système oculomoteur**

#### **II.1.A Les mouvements oculaires**

Si le traitement de l'information est primordial à la perception visuelle, la qualité de la vision va être déterminée en grande partie par la qualité de l'image reçue sur la rétine. La bonne qualité de l'image rétinienne est même indispensable au bon développement des voies visuelles chez l'enfant qui risque une amblyopie irréversible dans le cas contraire.

Cette qualité de l'image rétinienne est grandement déterminée par les qualités de l'optique de l'œil qui permettent la bonne mise au point de l'image sur la rétine. Mais il est également un point indispensable qu'est la motilité de l'œil, qui fait défaut aux personnes atteintes par exemple de nystagmus et qui voient leur acuité visuelle chuter drastiquement à cause d'un manque de stabilité de l'image rétinienne.

Pour bien comprendre le rôle des mouvements oculaires dans la vision, il est important de connaître l'anatomie de l'œil et de la structure particulière formée par la fovéa. La fovéa est une région au centre de la macula qui mesure environ 1.5 mm de diamètre, où la rétine est dénuée d'une partie de ses cellules, ne laissant que les photorécepteurs sur lesquels la lumière arrive directement. C'est la région de la rétine où la vision est la plus fine et où l'on mesure la meilleure acuité visuelle. De ce fait, la région correspondant à la fovéa se situe normalement au centre du champ visuel. Cependant il peut arriver que ce ne soit pas le cas, comme lors de fixation excentrique ou de strabisme, et l'acuité visuelle mesurée peut en être affectée.

Par ailleurs, l'observation de la cartographie de V1 montre que la région centrale du champ visuel y est surreprésentée. Plus on s'éloigne de cette zone et plus le facteur de l'importance au niveau du cortex par l'importance au niveau du champ visuel diminue (Figure 6), c'est ce qu'on appelle le facteur de magnification corticale.



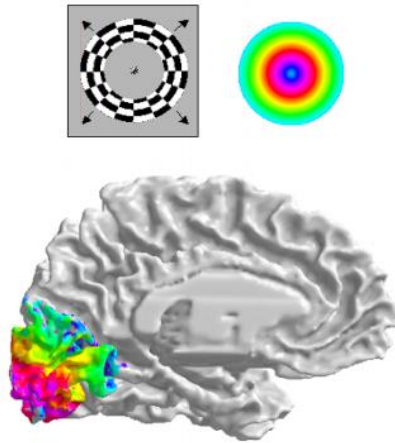


Figure 6 : Rétinotopie de V1 et magnification corticale, figure issue de Dougherty et al, 2003. Hémisphère droit d'un sujet humain sain lors de la présentation d'un damier en anneau (représenté en encart). Les zones colorées au niveau du cortex représentent les zones d'activité dans V1 à la présentation du damier dans les différentes excentricités du champ visuel. Paramètres du damier : luminance moyenne de 50 cd/m<sup>2</sup> ; contraste d'environ 90% ; excentricité max de 12° autour du point de fixation.

Tout l'enjeu des mouvements des yeux est de placer l'objet d'intérêt au centre du champ visuel, dans cette région de vision fine que permet la fovéa.

Les travaux de Yarbus en 1965 révèlent l'exploration complexe réalisée par les yeux lors de la présentation de scènes complexes et mettent en évidence le temps passé par le regard sur les détails d'intérêt des scènes visuelles (Yarbus, 1965).

Ces travaux précurseurs ont ouvert la voie vers l'étude des mouvements oculaires, que l'on classe aujourd'hui en trois grandes catégories : les saccades, la poursuite visuelle lisse et les mouvements de fixation.

### **II.1.A.a Les saccades**

Un mouvement brusque ou l'apparition d'un objet dans l'espace visuel est la cause des mouvements de saccade. Il s'agit d'un mouvement balistique rapide de changement de direction de regard qui vise à ramener l'image rétinienne de l'objet observé au niveau de la fovéa (Krauzlis, 2004). La vitesse des saccades est très élevée, entre 30 à 500°/sec d'après Holmqvist et al, 2011, et cette vitesse est proportionnelle à l'amplitude de la saccade qui va de 0.5 à 40° et à sa durée (entre 20 et 140 msec). La latence de la saccade, soit le temps entre la perception du mouvement de la cible et le départ de la saccade, se situe entre 200 et 250 msec (Krauzlis, 2004 ; Carrasco, 2011). Les saccades sont des mouvements réflexes mais peuvent également être volontaires (Berryhill et al, 2006). Environ 150 000 saccades sont effectuées de manières inconscientes par individus chaque jour (Schiller, 1998).



Une suppression de la sensibilité visuelle est observée au cours de la saccade liée au mouvement très rapide de l'image de l'objet sur la rétine. C'est l'activité dans la voie magnocellulaire qui est particulièrement impactée, voie responsable de la perception des mouvements (sensibles aux fréquences temporelles élevées) (Burr, Morrone & Ross, 1994 ; Ross et al, 2001).

### **II.1.A.b Le mouvement de poursuite**

La poursuite lisse est un mouvement continu qui correspond à une rotation lente de l'œil dans son orbite visant à suivre un objet en déplacement pour stabiliser son image sur la fovéa afin d'optimiser l'acuité visuelle malgré le mouvement (Krauzlis, 2004). Il s'agit d'un mouvement involontaire (Rashbass, 1961; Berryhill et al, 2006) comprenant une phase d'initiation du mouvement pendant laquelle la vitesse de l'œil augmente jusqu'à atteindre la vitesse de l'image rétinienne de la cible, et une phase de maintenance de cette vitesse de rotation de l'œil permettant l'annulation du mouvement de l'image sur la rétine. Ces deux phases sont appelées respectivement open loop et closed loop (boucle ouverte et fermée), ce qui fait référence aux afférences et aux efférences mises en jeu pendant ces deux phases (Von Holst & Mittelstaedt, 1950 ; Wyatt & Pola, 1978 ; Lisberger et al, 1981, 1987; Lisberger & Westbrook 1985 ; Osborne et al, 2005 ; Blohm et al, 2005 ; Spering & Gegenfurtner, 2008 ; Lisberger, 2015). La latence de la poursuite visuelle se situe entre 100 et 125ms (Krauzlis, 2004).

### **II.1.A.c Les mouvements de fixation**

En 1967, Yarbus observe la disparition d'objet stationnaire sur la rétine (l'image rétinienne est stabilisée grâce à un système de miroir bougeant avec l'œil et transmettant l'image de l'objet ciblé). Les mouvements de fixation, qui sont des mouvements de faibles amplitudes, ont un rôle primordial dans la vision, celui d'empêcher l'adaptation rétinienne qui réduit et supprime la perception visuelle (Martinez-Conde et al, 2004).

On distingue différents types de mouvements de fixation : le trémor, les drifts et les microsaccades, dont le rôle, le mécanisme et la description ne sont aujourd'hui encore pas tout à fait bien compris.

Le trémor est décrit comme une agitation ou un tremblement constant du globe oculaire de très faible amplitude (difficile à mesurer, 6 secondes d'arc max d'après Eizenman et al, 1985 ; 17.5'' en moyenne et jusqu'à 1' d'après Ratliff & Riggs, 1950 ; etc), d'une fréquence très élevée (50 à 100 Hz) mais d'une vitesse relativement faible (1.5°/sec) (Ko, Snodderly & Poletti, 2016).

Le drift est une dérive extrêmement lente de la position de regard, d'une vitesse de 10'/sec (Ditchburn, 1973) à 50'/sec (Cherici et al, 2012), avec une fréquence allant jusqu'à 40 Hz et d'une amplitude de quelques secondes d'arc (Ko, Snodderly & Poletti, 2016).

Les micro-saccades, comme les autres mouvements de fixation, sont souvent considérées comme étant des mouvements oculaires involontaires (Rolfs, 2009). Cependant certaines études ont montré qu'elles peuvent dans certaines conditions être effectuées lors de déplacement minime de la cible de fixation ou dans une direction spécifique (voir revue complète : Poletti & Rucci, 2016). La difficulté réside dans la description faite de ces mouvements de fixation de très faible amplitude qu'il est difficile à enregistrer et à analyser malgré l'évolution technique des oculomètres. Dans les années 50 et 60, les microsaccades étaient définies comme des mouvements oculaires rapides au même titre que les saccades classiques, mais avec une amplitude moins importante n'allant que jusqu'à une dizaine de minutes d'arc. Mais des études plus récentes considèrent comme étant des microsaccades des mouvements balistiques dont l'amplitude peut aller jusqu'à 2°. La taille qu'on leur attribue dépend le plus souvent de la tâche effectuée par les participants. De la même manière, différents rôles visuels sont attribués aux microsaccades : l'amélioration de la précision de la fixation, la prévention de l'adaptation rétinienne et de la perte de perception, et l'amélioration de la perception de détails de très petite taille.

## **II.1.B Les muscles oculomoteurs et innervation**

Les mouvements oculaires sont assurés par 3 paires de muscles extra-oculaires antagonistes présentés en Figure 7.

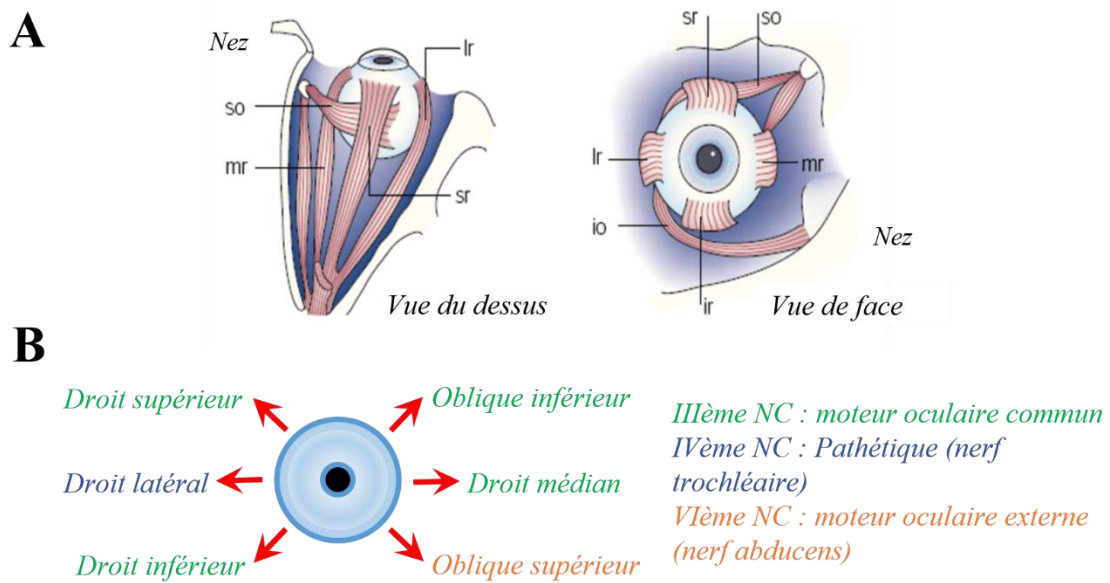


Figure 7: Muscles extra-oculaires, mouvements et innervations. (A) Anatomie des muscles extra-oculaires d'un œil droit dans son orbite, mr : droit médial (medial rectus). lr : droit latéral (lateral rectus). sr : droit supérieur (superior rectus). ir : droit inférieur (inferior rectus). so : oblique supérieur (superior oblique). io : oblique inférieur (inferior oblique). Issue de Sparks (2002). (B) Œil gauche vu de face ; implication des muscles oculomoteurs dans les directions de regard et leur innervation. Les flèches rouges indiquent les directions de regard associées à l'action principale de chacun des muscles. NB : NC : nerf crânien.

L'étude des mouvements oculomoteurs a donné naissance à deux lois fondamentales : la loi de Sherrington et la loi de Hering.

Sherrington en 1909 établit sa loi d'innervation réciproque monoculaire selon laquelle l'excitation d'un muscle agoniste s'accompagne systématiquement de l'inhibition de son antagoniste. Par exemple une adduction (rotation vers le nez), va résulter d'une excitation du muscle droit médian et d'une inhibition du muscle droit latéral (Sherrington, 1909).

La loi de Hering (1868) (Hering, 1868 ; Bridgeman & Stark, 1977), décrit l'innervation des muscles oculomoteurs dans des conditions de vision binoculaire. Il explique que l'influx nerveux envoyé aux couples de muscles synergiques est égal. Ainsi lors d'un mouvement de dextroversion (regard vers la droite), le muscle droit latéral de l'œil droit et le muscle droit médian de l'œil gauche reçoivent le même signal nerveux.

## II.2 Le système pupillomoteur

### II.2.A L'anatomie

La pupille est le trou laissé par le diaphragme qu'est l'iris. Elle est comparable à la pupille d'ouverture de l'objectif de l'appareil photographique. Ce diaphragme sert à limiter l'entrée de la lumière dans l'œil.

L'ouverture de ce diaphragme est modulée par deux muscles antagonistes, le sphincter, innervé par le circuit parasympathique et le dilatateur innervé par le circuit sympathique (Figure 8).

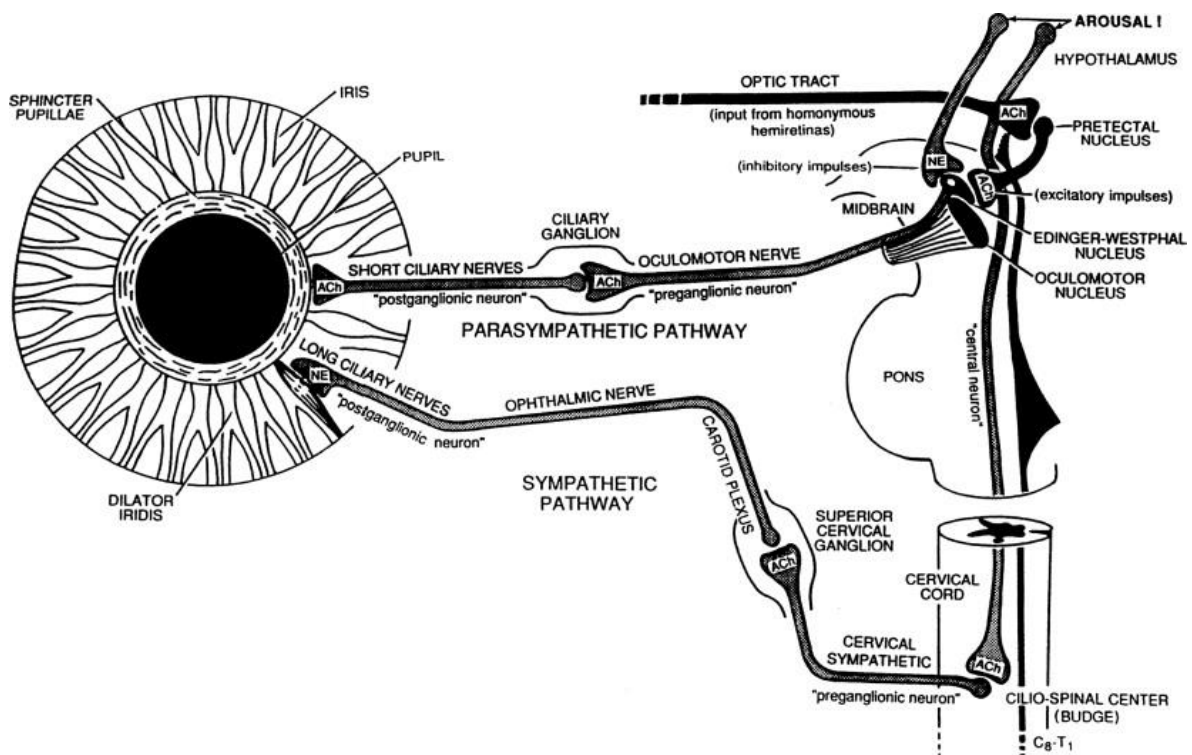


Figure 8: Innervation et circuits neuronaux de la pupille. Issue de Joos & Melson, 2012. « Notez que le stimulus d'alerte dilate la pupille de deux façons – les deux avec un circuit mettant en jeu une étape noradrénergique. Le stimulus d'alerte inhibe le noyau du sphincter irien et dans le même temps, envoie un message jusqu'au cordon cervical. »

L'activité pupillaire est contrôlée par des circuits neuronaux antagonistes associés à des modulations neuronales adrénergique et cholinergique. Le circuit parasympathique entraîne les contractions pupillaires liées à la luminance via un circuit court mettant en jeu les cellules ganglionnaires rétiniennes (RGCs) et les cellules ganglionnaires rétiniennes intrinsèquement photosensibles (ipRGCs), le noyau pretectal, le noyau d'Edinger-Westphal qui reçoit des inhibitions de l'hypothalamus, et les ganglions ciliaires qui innervent le muscle sphincter de l'iris (Aston-Jones & Cohen, 2005). Le circuit sympathique quant à lui, entraîne les dilatations pupillaires liées à une activité dans le cortex frontal en mettant en jeu

l'hypothalamus et le locus coeruleus dont l'activité corrèle avec les dynamiques pupillaires, et la branche ophtalmique du sympathique, qui longe la moelle épinière vers C8-T2, atteint les ganglions ciliaires supérieurs dont le nerf de sortie court le long de la veine carotide avant d'innervier le muscle dilatateur de l'iris (Bitsios, Szabadi & Bradshaw, 1996).

Le diamètre pupillaire est donc modulé par cette balance sympathique/parasymphatique faisant appel à de nombreuses structures cérébrales (voir Figure 9).

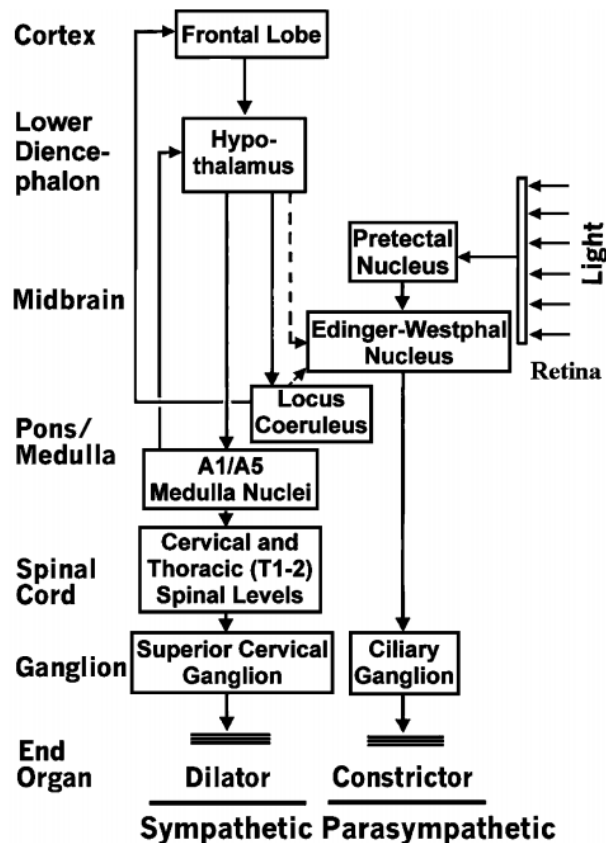


Figure 9 : Contrôle neuronal autonome du diamètre de la pupille. Figure issue de Merritt et al, 2004. Les lignes continues illustrent les connexions excitatrices entre les zones du cerveau, les lignes en pointillés illustrent les connexions inhibitrices.

Le muscle sphincter de la pupille est contraint par les neurones pupilloconstricteurs parasymphatiques situés au niveau du noyau d'Edinger-Westphal. Des influences centrales telles que la vigilance, la charge cognitive ou émotionnelle (détaillées plus loin dans la partie « II.2.B.c Les facteurs internes ») et la branche sympathique périphérique activent le muscle dilatateur. Chez les individus alertes, les impulsions excitatrices proviennent du cortex cérébral et traversent le système d'activation réticulaire et l'hypothalamus pour provoquer la dilatation de la pupille, d'une part en inhibant le noyau d'Edinger-Westphal et ainsi la constriction parasymphatique et d'autre part en activant la voie sympathique périphérique jusqu'au muscle dilatateur. La perte progressive d'influences sympathiques centrales est à la

base des oscillations pupillaires et du myosis qui apparaissent avec la somnolence (voir plus loin « II.2.B.c.i. L'état d'éveil : Le hippus ») (Merritt et al, 2004).

## **II.2.B L'état de l'art**

### **II.2.B.a Influence du diamètre pupillaire**

Le physicien allemand Carl Friedrich Gauss (fin 18<sup>ème</sup> – début 19<sup>ème</sup>) a grandement contribué au domaine de l'optique et est particulièrement connu pour avoir décrit ce qu'on appelle aujourd'hui les conditions de Gauss (et l'approximation de Gauss qui en découle) dans lesquelles sont minimisées les aberrations géométriques. Ainsi on considère que dans des conditions de Gauss ou dans l'approximation de Gauss, le système optique mesuré est stigmatique, c'est-à-dire que les rayons réfractés par le système optique (qu'il soit convergent ou divergent), vont couper l'axe optique du système en un même point. Pour ce faire, il faut que les rayons d'incidence (arrivant dans le système optique) présentent des angles avec l'axe optique du système qui soient suffisamment faibles. Afin d'entrer dans ces conditions, des diaphragmes, appelés pupilles, sont utilisés afin de limiter le faisceau de lumière entrant le système optique autour de l'axe optique.

Il en est de même pour l'œil, où l'effet Stiles-Crawford (1933), implique que les rayons lumineux entrant dans l'œil n'ont pas tous la même capacité d'excitation des photorécepteurs en fonction de l'angle d'incidence sur la rétine (Shlaer, 1937). Plus on s'éloigne des conditions de Gauss avec des pupilles larges, plus les rayons lumineux incidents sont nombreux mais moins ils sont efficaces et peuvent être affectés par des aberrations pouvant affecter la vision. D'après Shlaer (1937), l'acuité visuelle dépend de la distance entre l'œil et l'objet, de la lumière ambiante et de la taille de la pupille.

Ces résultats sont en accords avec ceux observés quelques années plus tard par Baker (1949), qui trouve une acuité visuelle améliorée avec l'augmentation du temps de présentation du stimulus mais également avec l'augmentation de la luminance et avec un stimulus monochromatique bleu, couleur qui, comme nous en discuterons par la suite, cause une constriction pupillaire plus importante. A ce stade, il est légitime d'émettre l'hypothèse que la pupille, en jouant le rôle de diaphragme de l'œil qui est un système optique, va influencer la qualité de l'optique et les performances visuelles obtenues.

En 1960, Campbell & Gregory testent cette relation entre acuité visuelle, luminance et taille de la pupille en utilisant des pupilles artificielles aux diamètres variables, et montrent que

pour chaque valeur de luminance de stimulus, correspond une taille de pupille pour laquelle l'acuité visuelle est optimale (Figure 10B).

Ces découvertes sont corroborées et expliquées par l'étude menée par Campbell et Gubish en 1966 mesurant la qualité optique de l'œil en fonction du diamètre pupillaire. Les résultats de cette étude suggèrent une qualité optique de l'œil optimisée pour un diamètre pupillaire entre 2 et 3 mm (Figure 10A). Cela permet de déterminer si un point va donner un point sur la rétine ou une tâche plus ou moins diffuse.

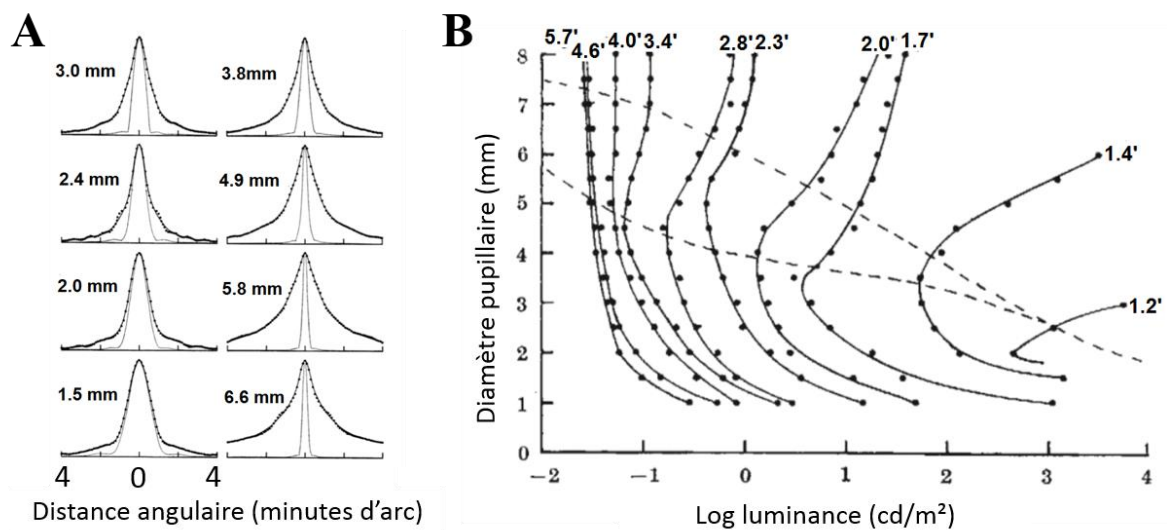


Figure 10 : Influence de la taille de la pupille sur la qualité optique de l'œil et les performances visuelles. (A) Profils de front d'onde observés pour différents diamètres pupillaires. Les courbes fines représentent la distribution normalisée de la luminance arrivant sur le fond d'œil pour une source lumineuse en forme de raie de lumière. Les courbes épaisses représentent l'image sur la rétine après diffraction à travers le système optique de l'œil de la même raie de lumière. Issue de Campbell & Gubisch, 1966. (B) Quantité de lumière nécessaire à la lisibilité de différents détails (dont la taille varie de 1.2 à 5.7') en fonction de la taille de la pupille ; les courbes en pointillés indiquent la taille de la pupille naturelle trouvées dans les études de Reeves (ligne du haut) et Crawford (ligne du bas) ; Issue de Campbell & Gregory, 1960.

Des études plus récentes montrent l'impact du diamètre pupillaire sur le front d'onde. En 2003, Carkeet et ses collègues, montrent que le coefficient de Zernike, indice aberrométrique de l'optique de l'œil dont est déduit la fonction de modulation de transfert (MTF : Modulation Transfer Function) est maximal pour des pupilles larges et optimal pour un diamètre pupillaire de 3 mm (Carkeet et al, 2003b), un résultat similaire à l'étude de Campbell et Gubisch en 1966.

## II.2.B.b Les facteurs externes

### II.2.B.b.i Le réflexe pupillaire à la lumière

Le réflexe pupille à la lumière ou PLR (Pupil Light Reflex) est la réponse de la pupille à un incrément de lumière du stimulus. Cette réponse consiste en une constriction rapide, une

diminution du diamètre pupillaire, et est suivie d'une dilatation appelée échappement pupillaire pendant lequel le diamètre pupillaire va lentement augmenter jusqu'à revenir à sa taille d'origine.

Les variables permettant de décrire le PLR sont nombreuses, comme le montre la Figure 11 issue de l'étude de 2009 menée par Fan, Miles, Takahashi et Yao sur les anomalies du PLR chez des patients atteints de troubles du spectre autistique.

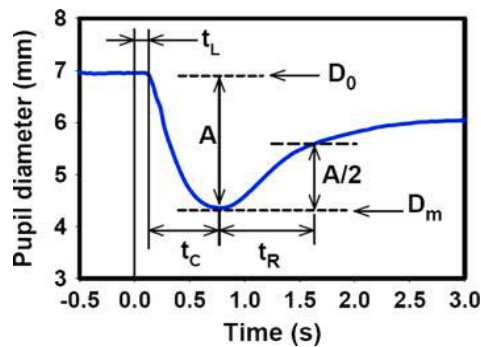


Figure 11 : Les variables d'intérêts du PLR : Issue de Fan, Miles, Takahashi & Yao, 2009.  $t_L$  : latence du PLR ;  $t_C$  : durée de la constriction ;  $t_R$  : durée de recouvrement ;  $D_0$  : diamètre pupillaire initial ;  $D_m$  : diamètre pupillaire au maximum de constriction ;  $A$  : amplitude de la constriction ( $A=D_0-D_m$ ).

Ces variables du PLR sont influencées par les paramètres du stimulus : plus l'intensité lumineuse du stimulus est importante, plus la constriction débute tôt et est importante. Il en est de même pour la taille du stimulus. De plus, l'augmentation du temps de présentation augmente également l'amplitude de la constriction du PLR (Wilhelm et al, 2000 ; Hong et al, 2001 ; Bergamin & Kardon, 2003 ; Clarke et al, 2003b ; Barbur et al, 2004 ; Kardon et al, 2009 ; Sabeti et al, 2011).

### II.2.B.b.ii La spatialisation du stimulus

La sensibilité pupillaire, ou l'intensité de la réponse pupillaire, décrite principalement par l'amplitude de la constriction du PLR, est hétérogène à travers le champ visuel (CV). La Figure 11A montre les résultats de l'étude de Clarke et al en 2003a réalisée chez le macaque rhésus. L'amplitude de la constriction pupillaire lors de la mesure du PLR est présentée en fonction de la région du CV stimulée. Un pic dans la région centrale est observé et correspond à une sensibilité pupillaire plus élevée mesurée au niveau de la macula. La constriction pupillaire est donc plus importante lorsqu'un stimulus est présenté dans cette région centrale que quand le même stimulus est présenté en région périphérique. Des résultats similaires avaient été trouvés chez des sujets humains sains par Hong et al en 2001 (Figure 11B) et par Wilhelm et al en 2000 (Figure 11C).



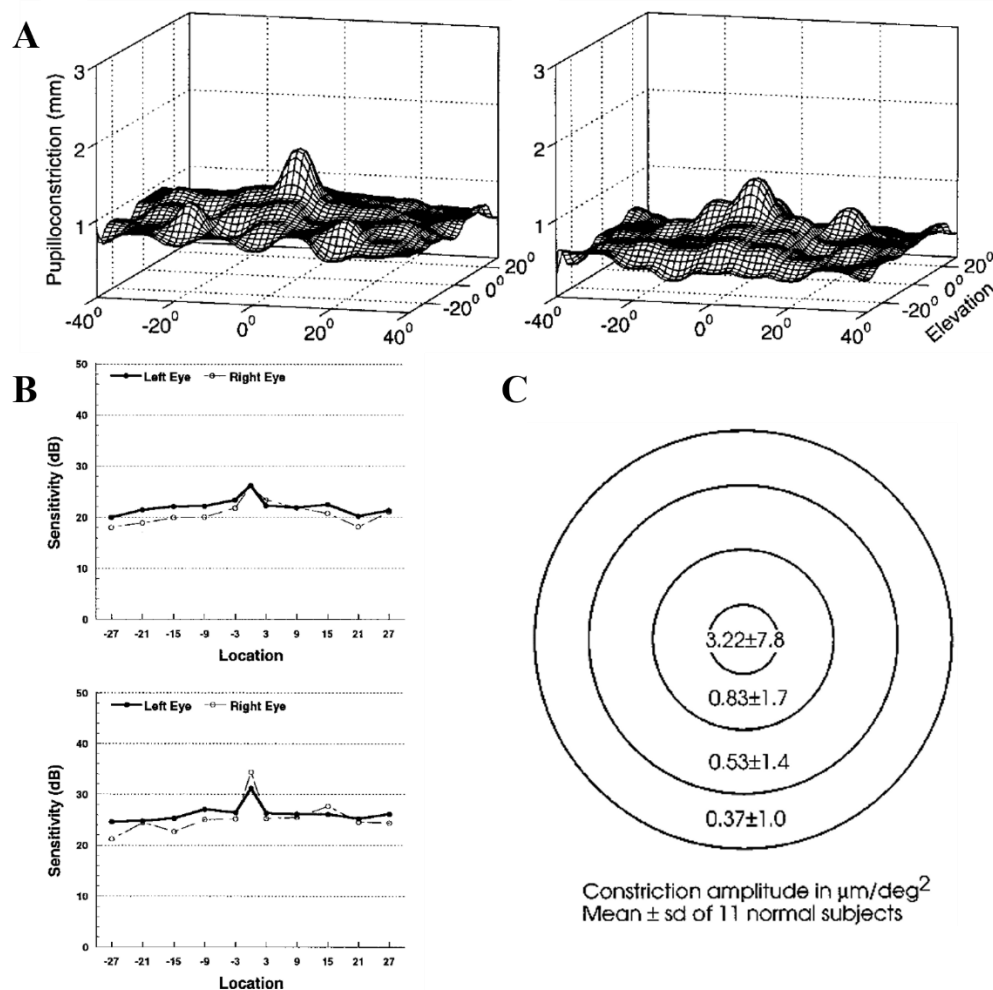


Figure 12 : Réponse pupillaire et seuil de sensibilité de la réponse pupillaire en fonction de la localisation du stimulus lumineux dans le CV. (A) Amplitude de la constriction pupillaire (en mm) en fonction de la localisation du stimulus dans le CV (constriction œil droit lors de la stimulation binoculaire) chez deux macaques sains. Issue de Clarke et al, 2003a ; (B) Sensibilité de la pupille sur le méridien horizontal chez deux sujets humains sains. Issue de Hong et al, 2001 ; (C) Moyenne de l'amplitude du PLR chez 11 sujets humains sains en fonction de l'excentricité (excentricité maximale : 50°) ; Issue de Wilhelm et al, 2000.

Ces découvertes indiquent que lors de l'exploration d'une scène visuelle, la taille de la pupille va être principalement modulée par la luminosité présente dans la région centrale du CV correspondant à la macula.

### II.2.B.b.iii La chromaticité et la mélanopsine

Selon de nombreuses études, la couleur du stimulus, à luminance égale, a une influence sur le comportement pupillaire. En 1969, Kohn et Clynes ont publié leurs travaux sur la réponse paradoxale de la pupille à des flashes de couleurs sur un fond blanc, constituant un décrement de luminance entrainant une constriction pupillaire ayant les mêmes caractéristiques d'amplitude et de latence qu'une réponse pupillaire classique à un incrément de lumière. Ils montrent ainsi que la réponse pupillaire dépend du contenu spectral du stimulus (Kohn & Clynes, 1969). En 1995, Kimura et Young trouvent une sensibilité pupillaire accrue pour un

stimulus d'une longueur d'onde située aux alentours de 570 nm (Kimura & Young, 1995) en testant des stimuli de 440 à 610 nm de longueur d'onde. En 1998, Barbur, Wolf et Lennie affinent les résultats de Kohn et Clynes et trouvent une augmentation de la latence de 40 ms de la constriction pupillaire liée à un changement de chromaticité comparée à celle évoquée par un incrément de lumière, ce qui serait lié à l'augmentation du traitement de l'information et le retour de l'afférence depuis la région corticale (Barbur, Wolf & Lennie, 1998). Il est néanmoins à noter que Kohn et Clynes ont travaillé avec des décréments de luminance tandis que Barbur et ses collègues ont travaillé sur des changements de chromaticité avec des stimuli isoluminants, ce qui peut en partie expliquer la différence de leurs résultats.

Depuis le début des années 2000, la découverte d'une nouvelle protéine photosensible présente dans certaines cellules ganglionnaires de la rétine humaine a fait l'objet de nombreuses études afin de tenter de caractériser son rôle dans l'activité pupillaire. Cette protéine, appelée mélanopsine est présente au niveau de la rétine de nombreuses espèces mammifères et chez certaines espèces nocturne au niveau de l'iris, ce qui entraîne une réponse pupillaire au simple éclaircissement de l'iris qui est intrinsèquement photosensible, sans stimulation de la rétine (Xue et al, 2011).

Chez l'homme, cette protéine est présente dans certaines cellules ganglionnaires qui sont de ce fait photosensibles au même titre que les photorécepteurs, ceux sont les cellules ganglionnaires rétiniennes intrinsèquement photosensibles (ipRGC). La mélanopsine ne joue pas de rôle direct à la formation d'image car les axones des ipRGC projettent sur des structures sous-corticales ne contribuant pas à la perception visuelle (Hattar et al, 2002).

S'il est à présent établi que la mélanopsine répond sélectivement à la lumière dont la longueur d'onde se situe entre 420 et 440 nm (Hattar et al, 2002 ; Newman et al, 2003 ; Kardon et al, 2009 ; Allen et al, 2017), son rôle dans la réponse pupillaire est plus complexe. Chez le singe, il a été démontré qu'il est possible d'évoquer une constriction pupillaire après blocage pharmacologique des photorécepteurs grâce à la présence de la mélanopsine (Gamlin et al, 2007). Certaines études indiquent que la mélanopsine est impliquée dans la constriction rapide initiale de la réponse pupillaire. L'amplitude de cette constriction initiale résulte de la sommation des informations des photorécepteurs, cônes et bâtonnets, des RGC et de l'activation des cellules ganglionnaires rétiniennes intrinsèquement photosensibles (ipRGC) (Tsujimura & Tokuda, 2011). D'autres observent que la mélanopsine joue un rôle important dans la constriction soutenue de la réponse pupillaire (Gamlin et al, 2007). En effet, il semble que les interactions entre ipRGC et RGC constituent une voie rapide entraînant la constriction

pupillaire phasique initiale, fonctionnant en parallèle avec une voie lente, impliquant plus spécifiquement la mélanopsine et les ipRGC ayant des constantes d'adaptation longues à l'éclairement ambiant.

De fait les ipRGC jouent un rôle important dans la régulation des rythmes circadiens comme l'indiquent les projections des ipRGC vers les noyaux supra-chiasmatisques qui sont responsables de la régulation des rythmes circadiens (Hattar et al, 2002 ; Hannibal et al, 2002, Lazzeri et al, 2017). Les ipRGC projettent également dans des régions cérébrales comme le noyau géniculé latéro-ventral et le feuillet inter-géniculé responsables de l'entraînement des rythmes biologiques telles que la régulation de la température, les sécrétions hormonales etc (Palumaa et al, 2018). Une étude a démontré chez l'homme une suppression de la mélatonine (hormone responsable de l'endormissement) plus importante lors d'une illumination d'une longueur d'onde de 420 nm plutôt que 460, ce qui implique que l'activité des cellules ganglionnaires à mélanopsine, accrue lors de l'illumination à cette première longueur d'onde, joue un rôle dans la sécrétion hormonale de la mélatonine (Brainard et al, 2008).

Des études récentes ont également montré que la mélanopsine joue un rôle dans la perception visuelle, en particulier de l'information spatiale chez la souris dont les ipRGC se projettent vers le noyau géniculé latéro-dorsal où les cellules koniocellulaires répondent à des patterns uniquement visibles par les ipRGC. Ceci indique que les signaux à mélanopsine peuvent à eux seuls transmettre des informations spatiales (Ecker et al, 2010 ; Brown et al, 2010 ; Allen et al, 2017). Il en est de même chez le primate chez qui certains types de cellules ganglionnaires contenant de la mélanopsine projettent vers le noyau géniculé latéral et jouent un rôle dans la perception visuelle consciente (Dacey et al, 2005).

#### *II.2.B.b.iv La triade de vision de près*

Lors du passage de la vision de loin à la vision de près, trois phénomènes moteurs sont observés (Myers & Stark, 1990) :

- La convergence, qui permet de placer l'image de l'objet proche observé sur la fovéa des deux yeux simultanément.
- L'accommodation, qui permet le focus de l'image de l'objet observé sur le plan de la rétine afin de faire la netteté.
- La constriction pupillaire, qui augmente la profondeur de champ (Tucker & Charman, 1975) et diminue la demande accommodative (Day et al, 2009).

Paradoxalement, l'augmentation de la profondeur de champ par la constriction pupillaire diminue l'acuité visuelle (Green, Powers & Banks, 1980).

### **II.2.B.c Les facteurs internes**

L'innervation particulière de l'iris met en jeu des structures corticales et subcorticales dont la modulation reflète des états cognitifs internes. Cela explique que les dynamiques pupillaires, en particulier la dilatation, sont sous le contrôle de facteurs cognitifs, comme la perception, l'attention, l'activité mnésique, la charge cognitive, l'attente, la prédiction, la décision, etc. (Kahneman, Beatty, & Pollack, 1967; Bouma & Baghuis, 1971; Beatty & Wagoner, 1978; Beatty, 1982; Partala, Jokiniemi, & Surakka, 2003; Partala & Surakka, 2003; Merritt, Schnyders, Patel, Basner, & O'Neill, 2004; Privitera, Renninger, Carney, Klein, & Aguilar, 2008; Hupé, Lamirel, & Lorenceau, 2009; Einhauser, Koch, & Carter, 2010; Preuschoff, Hart, & Einhauser, 2011; Mathôt, Van der Linden, Grainger, & Vitu, 2013; Binda & Gamlin, 2017; de Gee, Knapen, & Donner, 2014; Zekveld, Heslenfeld, Johnsrude, Versfeld & Kramer, 2014).

#### *II.2.B.c.i L'état d'éveil : Hippius*

Le diamètre pupillaire n'est jamais stable, même au repos et sous des conditions de luminance statique, la pupille est en constante « agitation ». En 1958, ces mouvements pupillaires sont appelés hippus et sont décrits comme du bruit d'une fréquence aléatoire comprise entre 0.05 et 0.3 Hz (Stark, Campbell & Atwood, 1958). En 1967, une étude établit la notion de périodicité du hippus et observe que son amplitude est plus importante pour les pupilles de taille moyenne (Bauermeister, Künkel & Selbach, 1967). En 1971, Boumas et Baghuis observent que le hippus est une oscillation régulière d'une fréquence d'environ 0.2 Hz et d'amplitude autour de 1 mm qui accompagne une constriction progressive de la pupille allant jusqu'à environ 2 mm d'amplitude. Ils montrent que le hippus disparaît lors d'une tâche cognitive (Figure 13-A). L'origine du hippus est alors inconnue, mais comme la pupille est en partie régulée par le système autonome central, ils tentent de mettre en relation l'activité de la pupille avec le rythme cardiaque, le rythme respiratoire ainsi que la conductance de la peau, qu'ils enregistrent simultanément, mais ne trouvent aucune corrélation. Des années plus tard, une étude décrira une corrélation entre l'activité pupillaire au repos et le rythme respiratoire, parlant même de fluctuations respiratoires de la pupille (Ohtsuka et al, 1988). Selon les auteurs, la propagation de l'activité respiratoire à la pupille pourrait se faire par deux voies différentes, l'une au niveau de la formation réticulaire du tronc cérébral qui « a des activités

respiratoires et régule le niveau d'activité de presque tout le corps, la pupille ne faisant pas exception » et l'autre au niveau de l'hypothalamus qui régule le système nerveux central.

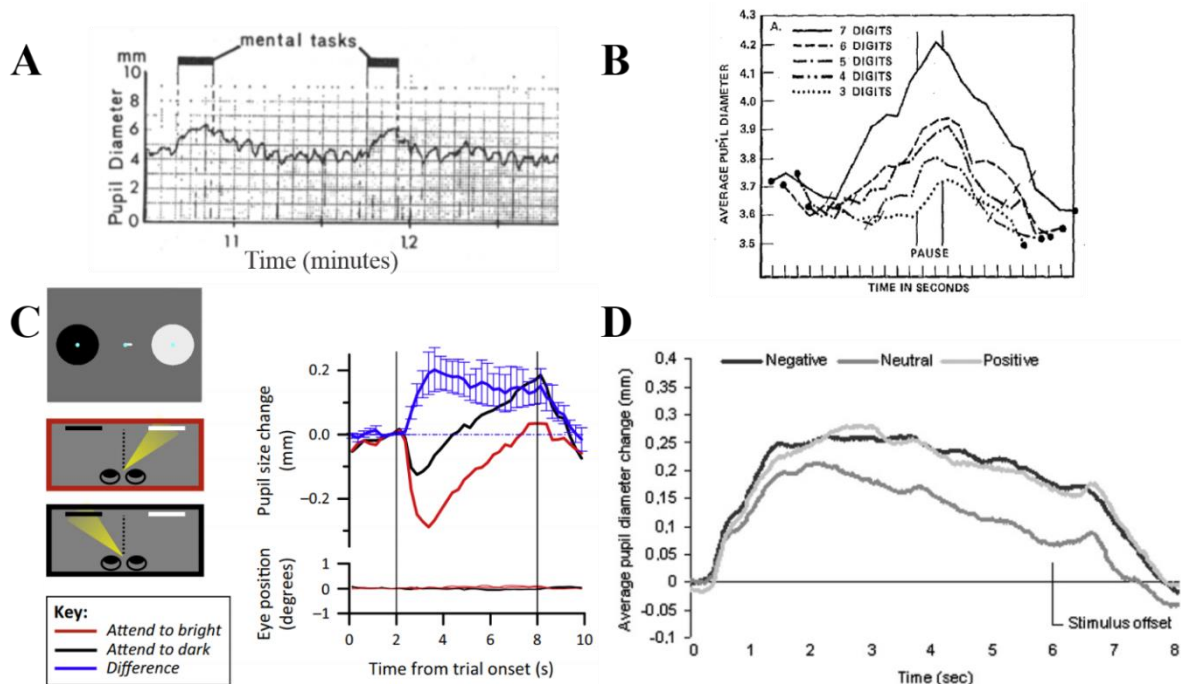


Figure 13 : Facteurs internes influençant le diamètre pupillaire. (A) Boumas & Baghuis, 1971, *Le hippus, l'état d'éveil* ; (B) Beatty, 1982, *la charge cognitive et l'activité mnésique* ; (C) Binda & Murray, 2015a, adaptée de Binda, Pereverzera & Murray, 2013, *le focus attentionnel* ; (D) Partala et Surakka, 2003, *l'émotion*.

### II.2.B.c.ii La charge cognitive et l'activité mnésique :

Au début des années 60 a été démontré que la pupille se dilate lors de l'exécution d'une tâche demandant une activité cognitive particulière comme une tâche de calcul mental, la mémorisation d'une série de chiffres ou la détection d'un stimulus parmi des distracteurs. L'une des premières études publiées à ce sujet est l'étude de Hess et Polt de 1964 mettant en évidence une corrélation entre l'amplitude de la dilatation pupillaire mesurée et à la difficulté croissante d'un calcul mental (exemples de niveaux de difficulté :  $7 \times 8$  vs  $16 \times 23$  ; cité par Beatty & Lucero-Wagoner, 2000).

De la même façon que la difficulté d'une tâche mentale est directement corrélée à l'amplitude de la constriction pupillaire, la Figure 13-B, issue de l'étude menée par Beatty en 1982 montre que lors d'une tâche de mémorisation de série de chiffres, la pupille dilate d'autant plus que la tâche est ardue. La pupille réagit par une dilatation à l'encodage et les processus mnésiques (Heaver & Hutton, 2011 ; Starc, Anticevic & Repovš, 2017 ; Husta et al, 2018 ; Kucewicz et al, 2018).

Un facteur jouant dans le processus de mémorisation est la perception de la nouveauté. Or l'étude de cet aspect de la charge mnésique peut être possible grâce à l'activité pupillaire. En effet, il semblerait que lors de la présentation d'images naturelles complexes pendant une courte durée (1 seconde), l'amplitude de la constriction pupillaire à l'apparition de l'image permet de prédire si cette image sera considérée ou non comme familière lors de sa seconde présentation. Une constriction pupillaire moins importante semble alors signifier une « nouveauté » moins importante et une mémorisation moins efficace (Naber et al, 2013).

Il est possible de mettre en relation cette charge cognitive avec la charge attentionnelle, puisque plus une tâche est difficile et plus la demande attentionnelle va être importante. Or il est possible de jouer sur d'autres facteurs de l'attention, et en particulier sur la spatialisation du focus attentionnel, qui va lui aussi affecter le diamètre pupillaire.

### *II.2.B.c.iii L'attention*

Au cours de la dernière décennie, plusieurs études ont été publiées portant sur l'effet du focus attentionnel sur la pupille et ses dynamiques de réponses. La Figure 13C, issue d'une étude de 2015 (Binda & Murray, 2015a, adaptée de Binda, Pereverzeva & Murray, 2013, résultats similaires dans Binda, Pereverzeva & Murray, 2014) illustre l'effet de la luminance à la localisation du focus attentionnel sur la taille de la pupille. Lors d'une fixation stable au centre d'un stimulus fixe, la stimulation rétinienne est inchangée. Pourtant, la taille de la pupille peut être modulée dans ces conditions par la luminance de la région sur laquelle le sujet a pour consigne de porter son attention. Lors d'une tâche ayant pour conséquence une dilatation pupillaire comme expliqué plus haut, la luminance au focus attentionnel va avoir comme effet d'augmenter ou de diminuer la dilatation pupillaire liée à la charge cognitive. La mesure de la réponse pupillaire à l'incrément et le décrétement de luminance dans des régions périphériques faisant ou non l'objet d'un focus attentionnel particulier a confirmé le rôle de celui-ci dans la réponse pupillaire (Binda et Murray, 2015b). Sebastiaan Mathôt a trouvé des résultats similaires, d'autant plus marqués, puisqu'il trouve une constriction pupillaire lors du focus attentionnel sur une région de forte luminance là où Paola Binda trouve une diminution de la dilatation pupillaire (Mathôt et al, 2013). Il suggère même que l'analyse des dynamiques pupillaires pourrait être utilisée afin de traquer la localisation d'une attention visuelle cachée.

### *II.2.B.c.iv La sémantique*

Un autre aspect qui rentre en compte dans la modulation de la taille de la pupille et qui rend d'autant plus difficile son interprétation est le contenu sémantique d'une scène visuelle ou

sensorielle de façon plus générale. La Figure 13D (issue de Partala & Surraka, 2013) illustre la réaction à des sons selon leur nature de charge émotionnelle. On observe que la dilatation pupillaire est plus importante pour les sons qui sont chargés émotionnellement comparée à ceux qui ne le sont pas (Partala, Jokiniemi & Surraka, 2000 ; Partala & Surraka, 2013).

Il a également été montré qu'il est possible de « tromper » la pupille et de causer une constriction en donnant l'illusion d'une scène lumineuse. A luminance égale, la pupille sera plus contractée lors de l'observation d'un paysage ensoleillé, et l'effet sera plus fort avec des scènes naturelles que lors de l'observation de dessins (Laeng & Endestad, 2012 ; Naber & Nakayama, 2013). Le simple fait de l'évocation visuelle ou auditive d'un mot évoquant la luminosité va réduire la taille de la pupille à l'inverse d'un mot évoquant l'obscurité (Mathôt, Grainger & Strijkers, 2017).

Un autre « sens » qui va agir sur la modulation du diamètre pupillaire est la nociception : la capacité d'intégration au niveau du système nerveux central d'un stimulus douloureux qui menace la fonctionnalité de l'organisme, via des messages d'alarme envoyés par les récepteurs. Plusieurs études ont montrés que la sensation de douleur provoque une dilatation pupillaire qui peut alors servir d'indice afin de l'évaluer objectivement et de façon non invasive, intéressant en particulier dans l'optique d'un meilleur contrôle lors d'une opération chirurgicale nécessitant une anesthésie (Ellermeier & Westphal, 1995 ; Chapman et al, 1999 ; Oka et al, 2010 ; Larson & Sessler, 2012).

# PROBLEMATISATION

---

Depuis la découverte relativement récente de la mélanopsine, un nouveau photopigment présent dans une couche cellulaire de la rétine jusqu'alors considérée comme non photosensible, et qui joue un rôle important dans les réponses pupillaires, la pupille est un sujet d'étude qui a fait l'objet d'un regain d'intérêt. En parallèle à cette vague de recherche visant à une meilleure définition des mécanismes des cellules ganglionnaires rétiniennes intrinsèquement photosensibles (ipRGC), deux autres axes de recherches émergent. Le premier vise à explorer les divers mécanismes cognitifs influençant le diamètre pupillaire via son innervation sympathique. Le deuxième axe a pour but d'établir des nouvelles méthodes servant à tester l'intégrité des structures en jeu dans la perception visuelle en se basant uniquement sur le réflexe pupillaire à la lumière via l'innervation parasympathique de la pupille.

Il existe aujourd'hui un décalage entre ces domaines de recherches, les uns étudiant la pupille comme une fenêtre vers les processus cognitifs en limitant au maximum l'effet du circuit parasympathique, les autres travaillant sur la modulation parasympathique comme nouvelle méthode objective de périmétrie sans nécessairement prendre en compte les modulations liées aux influences cognitives par le circuit sympathique. Il faut également noter que la pupille est actuellement peu utilisée en milieu clinique et les influences des réponses pupillaires sur la perception visuelle sont souvent méconnues ou ignorées.

Aujourd'hui, un défi scientifique et technique est de combiner les connaissances fondamentales apportées par les recherches en laboratoire avec les applications cliniques utilisant la pupille afin de mettre en place des méthodes simples et fiables en tirant avantages des évolutions technologiques dans le but de démocratiser l'utilisation de l'activité pupillaire comme marqueur de dysfonctionnements de diverses origines.

Une première partie de mon travail de thèse a porté sur l'étude de la balance sympathique/parasympathique modulant la pupille. La problématique était de savoir si les modulations du diamètre pupillaire potentiellement présentes lors de l'exploration visuelle de l'environnement, liées à l'hétérogénéité de la réponse pupillaire en fonction de la localisation de la stimulation d'une part, et de la charge attentionnelle et cognitive d'autre part, peuvent



influencer les performances visuelles lors d'une tâche de discrimination visuelle de fréquences spatiales.

Dans un second chapitre, nous nous sommes intéressés à l'utilisation de la pupille en milieu clinique. Nous avons mis en place une étude clinique aux méthodes novatrices utilisant les dynamiques pupillaires dans des tests ayant pour but la détection de localisations défaillantes dans le champ visuel. Ces tests objectifs, simples et rapides ont été évalués chez 3 populations de patients présentant des pathologies oculaires connues ainsi qu'un groupe de participants volontaires sains. Dans cette étude nous mettons en avant une nouvelle façon d'analyser les réponses pupillaires en utilisant leurs dynamiques au cours du temps à l'aide d'analyses fréquentielles.

# CHAPITRE DE PUPILLOMETRIE

## FONDAMENTALE : Effet des réponses pupillaires à la luminance et à l'attention sur la discrimination de fréquences spatiales.

---

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans *Journal of Vision* en novembre 2018, et a été considéré « Featured article » de cette édition :

Ajasse, S., Benosman, R. B., & Lorenceau, J. (2018). Effects of pupillary responses to luminance and attention on visual spatial discrimination. *Journal of vision*, 18(11), 6-6.

Cette étude a également été présentée sous forme de poster à l'ECVP (European Conference on Visual Perception) en août 2018 à Trieste et au GDR Vision en octobre 2018 à Paris (poster présenté en Annexe Figure 77).

Ma contribution à cette étude : Conception des tests – Passations – Développement des routines d'analyses – Interprétation des résultats – Rédaction du papier et procès de publication

Il s'agit ci-dessous d'une version française de l'article.

## I Introduction

Ces dernières années, l'influence du circuit sympathique et donc de la charge cognitive sur la taille de la pupille a été largement étudiée, mais souvent indépendamment de l'influence parasympathique du niveau de luminance. Le plus souvent, les influences antagonistes sympathique et parasympathique sont étudiées indépendamment : les études sur les influences bas niveau des caractéristiques du stimulus (comme des études cliniques) présument que les facteurs cognitifs n'influencent pas les réponses pupillaires ; tandis que les études étudiant l'influence des facteurs cognitifs de haut niveau utilisent des stimuli dont les caractéristiques bas niveau sont stables afin d'éviter la confusion de changements de taille pupillaire liés aux caractéristiques du stimulus des changements liés à une activité cognitive.

Il est important de noter que les réponses pupillaires à la lumière dépendent de la localisation rétinienne du stimulus (voir chapitre précédent, paragraphe « II.2.B.b.ii.La spatialisation du

stimulus »), avec une réponse pupillaire plus ample lors d'une stimulation en rétine centrale que lors d'une stimulation en région périphérique (Hong et al, 2001 ; Clarke et al, 2003a). En principe, cette hétérogénéité spatiale de la constriction pupillaire ne devrait pas avoir d'influence sur les modulations de la pupille liées aux facteurs cognitifs –à l'exception de la spatialisation du focus attentionnel (Binda, Pereverzeva, & Murray, 2014; Rosli et al., 2018)-mettant en jeu le circuit sympathique.

Que les modulations pupillaires soient d'origines sympathiques ou parasympathiques, la qualité optique de l'œil est modifiée par la taille de la pupille, ce qui, à terme, impacte l'acuité visuelle et le traitement de la fréquence spatiale, du fait d'aberrations chromatiques et d'une dispersion linéique plus importantes avec une pupille plus dilatée (Shlaer, 1937; Baker, 1949; Campbell & Gregory, 1960; Campbell & Gubisch, 1966; Robson, 1966; Bradley & Skottun, 1987; Carkeet, Leo, Khoo, & Au Fong, 2003b). Il est à souligner que dans le travail précurseur de Campbell et Gregory, en 1960 montrant l'influence de la taille de la pupille sur l'acuité visuelle et la sensibilité au contraste (Figure 10), la pupille était dilatée et pharmacologiquement paralysée et que les sujets voyaient les stimuli à travers des pupilles artificielles dont le diamètre variait de façon paramétrique. Ainsi les mesures menant à la conclusion que la taille de la pupille influence les performances visuelles ont été menées dans ces conditions très particulières, et il n'est pas évident que ces observations aient cours dans la vie de tous les jours, où la taille de la pupille varie continuellement, à cause de propriétés intrinsèques de la pupille et des tâches visuelles et cognitives qui accompagnent et guident l'exploration visuelle.

Bien qu'il soit souvent avancé que de larges pupilles laissent entrer plus de lumière dans l'œil, facilitant les traitements des contrastes, cela n'est un avantage que dans des conditions scotopique (de faible luminance). En vision photopique, il semble paradoxal que les facteurs cognitifs comme l'attention visuelle, cause une dilatation de la pupille qui entraîne une diminution de la qualité optique de l'œil, et ainsi de l'image rétinienne, ce qui peut détériorer le traitement et les performances visuels.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact de variations du diamètre de la pupille, et donc des qualités optiques de l'œil, sur la discrimination spatiale. Les réponses pupillaires pouvaient être évoquées soit par des saccades vers des régions de luminance variable, qui changent l'exposition de la fovéa et donc la réponse pupillaire, soit par une tâche difficile de discrimination spatiale demandant une attention parafovéale (covert attention), distincte de la fixation, dont on sait qu'elle mobilise le circuit sympathique et donc la dilatation pupillaire.

La première expérience visait à caractériser la dynamique des réponses pupillaires évoquées par des fixations successives de disques de différentes luminances continuellement présents sur l'écran de stimulation, sans tâche particulière pour les sujets, excepté la fixation successive des disques. Les résultats de cette expérience ont servis de ligne de base permettant de caractériser les réponses pupillaires lors de fixations successives. Ces données permettent la comparaison avec la deuxième expérience au cours de laquelle ont été mesurés les performances de discrimination de fréquences spatiales de deux patches de Gabor, lors d'une tâche nécessitant une attention dirigée vers les stimuli en para fovéa, alors que la taille de la pupille était contrainte par la luminance de la cible fixée.

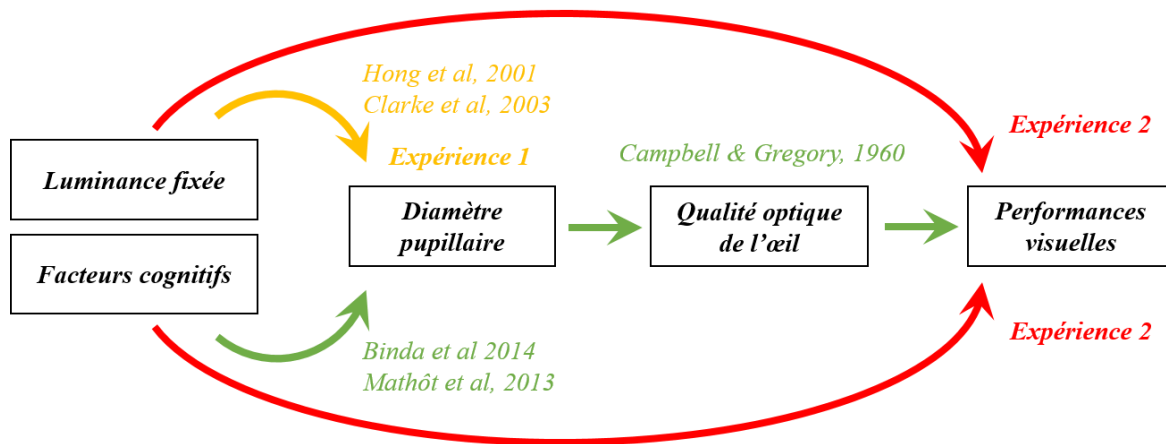


Figure 14: Rationnel de l'étude. L'étude a pour but d'étudier l'effet sur les performances visuelles d'une modulation de la taille pupillaire causée par l'attention et la luminance locale sur les performances visuelles de discrimination de fréquences spatiales.

## II Expérience 1

Le but de cette expérience est de caractériser les dynamiques des réponses pupillaires évoquées par les fixations successives de disques de différents niveaux de luminance simultanément et continuellement présents sur l'écran de stimulation au cours d'un essai. Ces conditions se rapprochent des conditions écologiques d'exploration visuelle lorsque l'observateur réalise des saccades vers des objets de différentes luminances avec une illumination globale constante.

Cette expérience sert à établir une ligne de base des activités pupillaires en absence de tâche de perception. Conformément aux études précédemment citées, il est à attendre que la taille de la pupille varie avec le niveau de luminance de l'objet fixé.

## II.1 Participants

14 sujets sains ont été testés (7F/7H) âgés entre 20 et 27 ans (F :  $23.7 \pm 1.9$  ans et H :  $24.8 \pm 1.6$  ans).

Les critères d'inclusion furent les suivants :

- Pas d'histoire passée ou présente de pathologies oculaires pouvant affecter les réponses pupillaires
- Pas d'histoire passée ou présente de pathologies générales pouvant affecter les réponses pupillaires
- Pas d'utilisation de médicaments à usage topique ou systémique pouvant affecter les réponses pupillaires
- Pas de nystagmus, de strabisme ou de fixation excentrique
- Une acuité visuelle  $\geq 10/10$  à la distance de l'écran (75cm) non corrigée ou corrigée à l'aide de lentille de contact uniquement
- Pas de myosis sénile (exclusion des sujets âgés de 40 ans ou plus)
- Absence d'anisocorie
- Absence d'anomalie aux réflexes photomoteurs direct, consensuel et alternant (vérifié au stylo lampe).

## II.2 Matériel

Les mouvements oculaires et la taille de la pupille ont été enregistrés de façon monoculaire en utilisant un oculomètre à vidéo infra-rouge (EyeLink II ; SR Research, Ltd., Ottawa, Canada) à un taux d'échantillonnage de 500Hz. Les stimuli visuels ont été présentés sur un écran LCD (ASUS, Taipei City, Taiwan ;  $37.98^\circ \times 21.58^\circ$  utilisé à une résolution de 1024 x 768 pixels à une fréquence de rafraichissement de 120Hz et positionné à 75cm de l'œil du participant). Les expérimentations ont été conduites dans l'obscurité et les sujets regardaient l'écran à travers un tube carré noir placé entre leur tête et l'écran afin d'isoler leur champ visuel des lumières parasites de la salle d'expérimentation.

## II.3 Stimulus et procédure

La taille de la pupille sur les deux yeux a été mesurée avant le début de l'expérimentation chez chaque participant, dans des conditions mésopiques (éclairage ambiant de la salle d'expérimentation) et photopiques (avec un stylo lampe). Les tailles moyennes et écarts types sur la population étaient de  $4.5 \pm 0.5$  mm en conditions mésopiques et  $3 \pm 0.2$  mm en conditions photopiques. L'absence d'anisocorie ainsi que l'absence d'anormalité aux réflexes photomoteurs directs, consensuels et alternants au stylo lampe étaient également vérifiés.

Afin de caractériser les dynamiques des réponses pupillaires en fonction de la luminance à la position de regard, un stimulus a été conçu à l'aide de 4 disques (4.4° de diamètre) placés à 3.7° du centre de l'écran (voir Figure 15) et de différentes luminances (1, 48, 143 et 191 cd/m<sup>2</sup>) sur un fond gris (95.5 cd/m<sup>2</sup>). Le contraste des différents disques étant symétrique par rapport à la luminance du fond, la luminance globale envoyée par l'écran était égale avec et sans les disques.

A chaque essai, les participants avaient pour instruction d'effectuer une séquence de fixations de quatre disques de différentes luminances, positionnés en carré, pendant 2 secondes chacune. Un bip sonore (son pur, 400Hz) de 2 secondes joué pendant les fixations était utilisé pour rythmer la séquence de fixation. Ce bip sonore s'interrompait pendant 1 seconde entre chaque fixation afin de signifier au participant le moment de faire une saccade vers le prochain disque de fixation. Ces saccades sont mentionnées dans la suite de ce document comme « saccades de positionnement » (PS, positioning saccade). Le premier disque de fixation le disque en haut à gauche, le deuxième le disque en haut à droite et ainsi de suite en effectuant une rotation horaire autour du centre de l'écran (voir Figure 15). Chaque essai débutait par la fixation au centre de l'écran de 2 secondes d'un point de fixation. Ce point disparaissait ensuite pour informer le participant du début de la fixation du premier disque. Entre les essais, un écran uniforme gris (95.5 cd/m<sup>2</sup>) était présenté pendant 2 secondes (intervalle inter-stimuli, ISI).

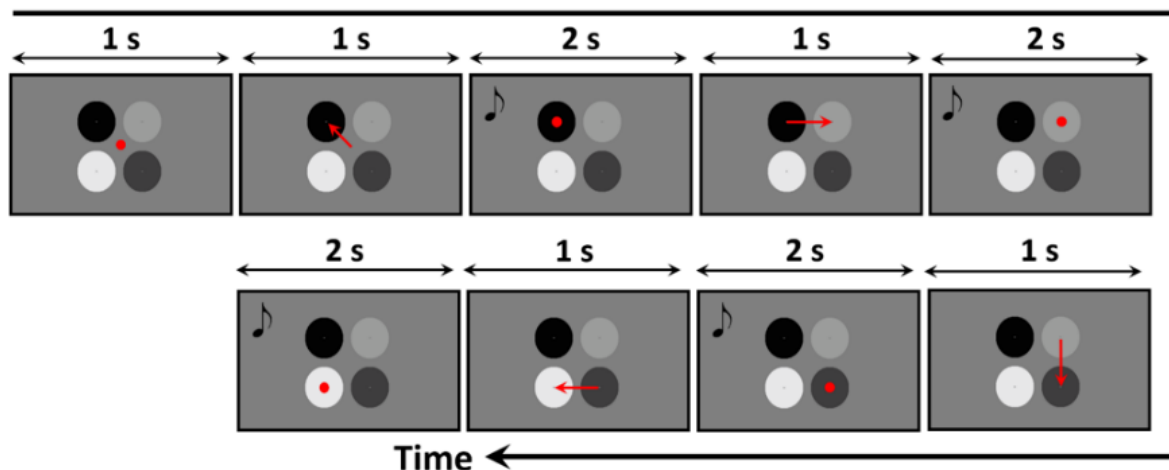


Figure 15 : Aspect et déroulement temporel du stimulus de l'Expérience 1. Les points rouges indiquent la localisation des fixations et les flèches rouges les saccades faites d'une fixation à une autre. L'essai débute par la fixation d'un point de fixation central (un cercle de 0.6°, 60cd/m<sup>2</sup>) qui disparaît après 1 seconde indiquant aux participants de fixer le centre du disque en haut à gauche. La séquence des fixations est rythmée par 4 bips auditifs de 2 secondes pendant les fixations espacés de silences d'une seconde signalant le moment de la saccade d'un disque au suivant. La séquence de fixation commence toujours par le disque en haut à gauche et se poursuit par une rotation horaire vers le disque en haut à droite etc. Afin de faciliter le maintien de la fixation au centre du disque, un petit point de fixation (0.04°, 95.5cd/m<sup>2</sup>) est affiché au centre de chaque disque.

Quatre configurations de luminances ont été testées pour chaque sujet afin de contrebalancer les relations entre position et luminance et de pouvoir discerner l'effet de ces deux variables. Les conditions de luminances étaient les suivantes (du disque en haut à gauche au disque en bas à gauche) :

1. Noir – Gris clair – Gris foncé – Blanc
2. Blanc – Noir – Gris clair – Gris foncé
3. Gris foncé – Blanc – Noir – Gris clair
4. Gris clair – Gris foncé – Blanc – Noir

Ces conditions étaient présentées de façon aléatoire et répétées 18 fois, en trois blocs de 24 essais (effectués le même jour à la suite), pour un total de 72 fixations de 2 secondes par niveau de luminance.

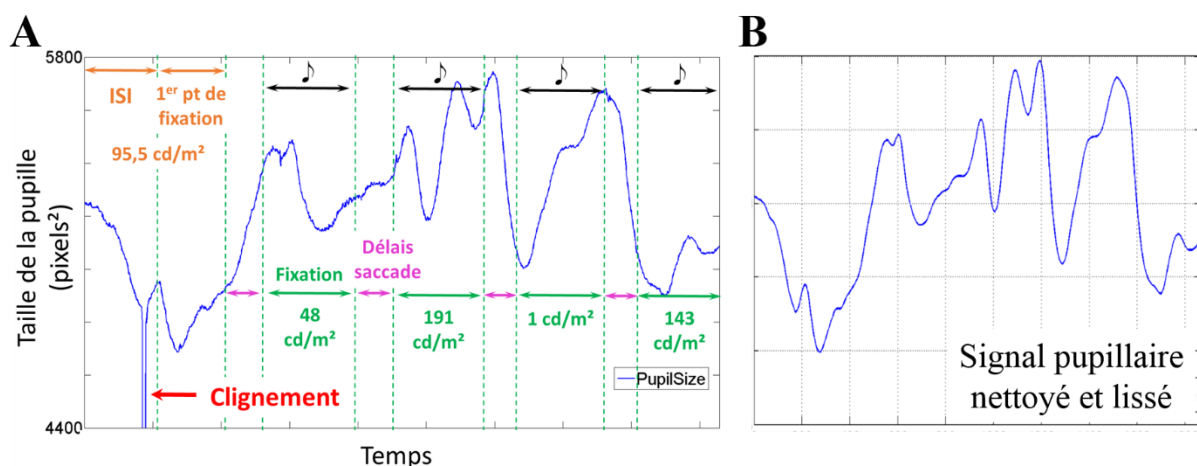
## II.4 Analyse des données

Les données oculaires (positions de regard et taille de pupille) enregistrées par l'oculomètre ont été analysées par des scripts Matlab (The MathWork, Natick, MA). Le jeu de données est disponible à l'adresse :

[http://neuromorphic-vision.com/public/downloads/pupilData\\_Ajasse\\_Lorenceanu/](http://neuromorphic-vision.com/public/downloads/pupilData_Ajasse_Lorenceanu/)

Les dynamiques pupillaires ont été sous échantillonnées à la fréquence de rafraîchissement de l'écran et traitées de la façon suivante :

1. Les clignements ont été détectés et remplacés par une interpolation linéaire (exemple en Figure 16).
2. Le signal pupillaire a été lissé à l'aide d'une moyenne glissante avec une fenêtre de 10 échantillons, soit 83 msec (exemple en Figure 16).



3. La taille de la pupille a été normalisée en fonction d'une ligne de base (ou baseline) correspondant à la taille moyenne de la pupille pendant 0.5 seconde de fixation central en présence des quatre disques de fixation (en début de chaque essai).
4. Les saccades ont été détectées à partir des positions de regard horizontales et verticales en utilisant un seuil de vitesse de  $50^\circ/\text{sec}$  couplé à un seuil d'accélération de  $1500^\circ/\text{sec}^2$ . Les saccades de positionnement ont été distinguées des autres saccades à l'aide des critères suivants :
  - a. La direction de la saccade cohérente avec le déroulement de l'essai. Quatre saccades sont à effectuer au cours d'un essai : une première saccade oblique vers le haut-gauche, puis une seconde horizontale vers la droite, une saccade vers le bas puis une saccade vers la gauche (exemple d'activité saccadique en Figure 17).
  - b. L'occurrence temporelle de la saccade doit être cohérente avec le déroulement de l'essai. Les saccades de positionnement ont été détectées dans une fenêtre temporelle de 0.5 sec avant la fin d'un bip (en cas d'anticipation) à 0.5sec après le début de bip suivant (en cas de retard). Si aucune saccade de positionnement n'était détectée, le segment d'essai correspondant était exclu de la suite des analyses.

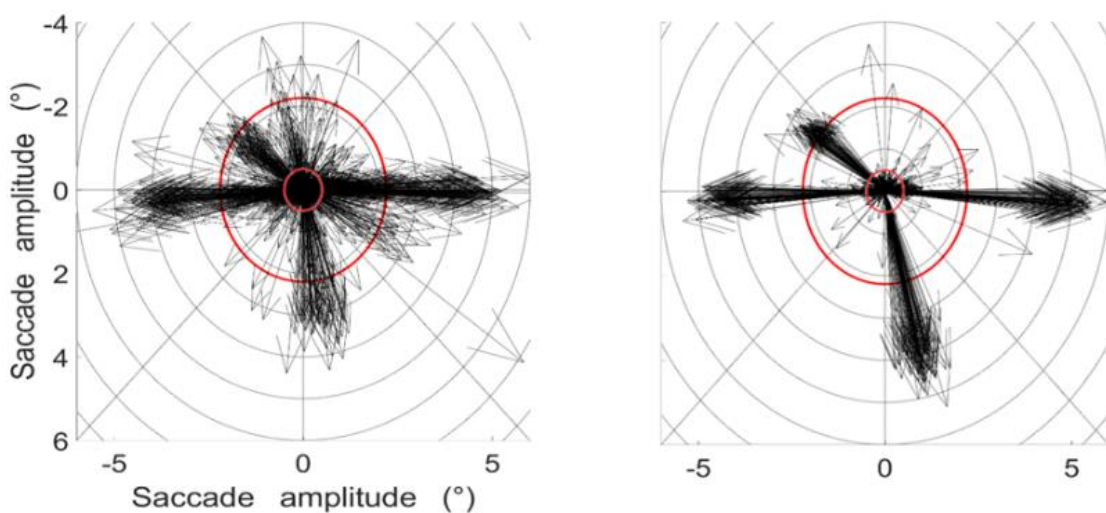


Figure 17 : Exemples d'activités saccadiques observées au cours de l'Expérience 2 chez 2 sujets (à gauche : sujet 9 ; à droite : sujet 14), tous essais confondus. Chaque vecteur représente une saccade dans son amplitude et sa direction. Le grand cercle rouge représente la taille d'un disque de fixation ; le petit cercle rouge représente la taille de la fenêtre utilisée pour juger de la qualité de fixation. Les larges saccades suivent le chemin d'un disque à un autre.

5. Afin d'analyser le signal pupillaire d'une saccade de positionnement à une autre, une régression linéaire glissante a été calculée avec une fenêtre temporelle de 108 msec sur le signal filtré à 1Hz (filtre passe bas). Les coefficients de ces régressions linéaires facilitent la détection des points d'inflexions de la courbe du signal pupillaire, symbolisant le début et la fin de la constriction pupillaire (voir Figure 18). La portion de l'essai était exclue des analyses si :
  - a. Aucun point d'inflexion n'était détecté.



- b. Le premier point d'inflexion (début de la constriction) était détecté après 1.5 sec après la saccade de positionnement.
- c. Le second point d'inflexion (fin de la constriction) était détecté avant 0.25sec après la saccade de positionnement.

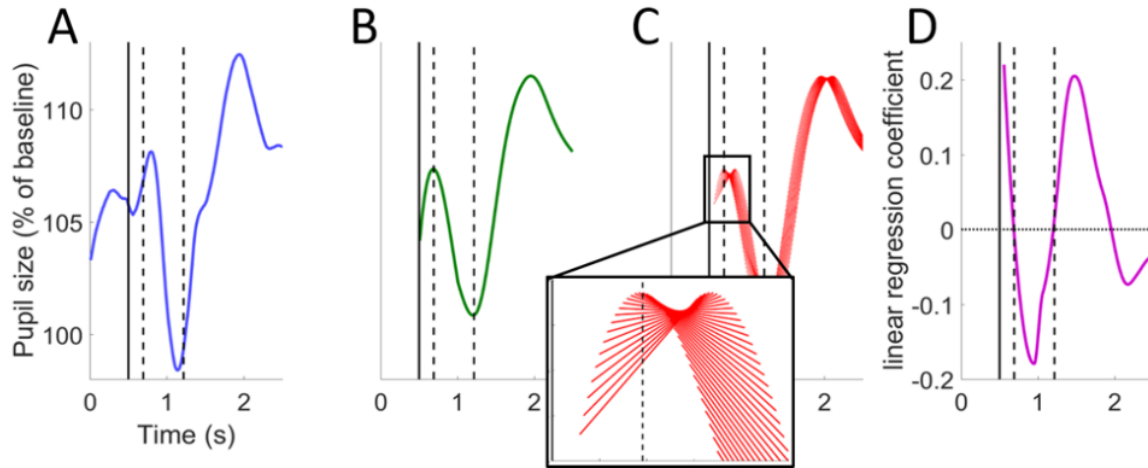


Figure 18 : Pipeline d'analyse suivi après avoir nettoyé le signal pupillaire des clignements et autres pertes de signal. Chaque panneau représente la modulation de la taille de la pupille (en pourcentage de la baseline) en fonction du temps. Sur chaque graphe, la ligne verticale noire pleine indique le moment de début de la fixation, correspondant à la fin de la saccade de positionnement ; les lignes noires verticales en pointillés indiquent les points d'inflexion de la courbe du signal pupillaire représentant le début de la constriction (ligne de gauche) et la fin de la constriction (ligne de droite). (A) Signal pupillaire après nettoyage, lissage et normalisation ; (B) Signal pupillaire après application d'un filtre passe bas à 1Hz ; (C) Régressions linéaires calculées sur une fenêtre glissante ; (D) Coefficients des régressions linéaires ; les valeurs positives correspondent à une dilatation pupillaire et les valeurs négatives à une constriction, les passages à zéro correspondent au point d'inflexion de la courbe du signal pupillaire utilisé pour labéliser le début et la fin de la constriction pupillaire.

L'utilisation de ces critères stricts a mené à l'exclusion de 8.79% des essais de l'Expérience 1 (Figure 19).

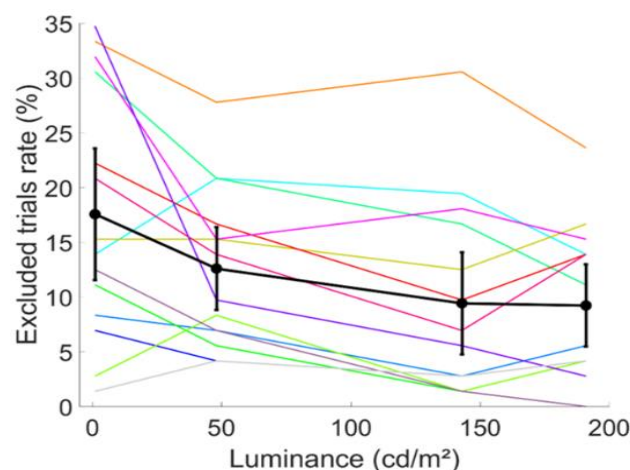


Figure 19 : Proportion d'essais exclus au cours de l'Expérience 1 à l'aide des critères décrits dans la section « Analyse des données » en fonction de la luminance du disque fixé ; les points noirs représentent la moyenne sur la population, les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95%. Les courbes de couleurs représentent les moyennes de chaque participant, une couleur par participant (chaque participant garde la même couleur sur toutes les figures dans la suite de ce chapitre). Le pourcentage d'exclus est significativement corrélé à la luminance du disque fixé (SLR :  $a = -4.17 \cdot 10^{-4}$  ;  $CI = 2.16 \cdot 10^{-4}$ ).

Les variables d'intérêt calculées sur les essais validés :

1. La taille moyenne de la pupille et sa variance au cours du temps sur les périodes de fixations.
2. La latence du début de la constriction pupillaire (le temps entre la fin de la saccade de positionnement et le premier point d'inflexion du signal pupillaire).
3. L'amplitude de la dilatation post-saccadique, soit la différence de taille de la pupille entre la fin de la saccade et le début de la constriction (premier point d'inflexion).
4. L'amplitude de la constriction, calculée comme la différence de taille de la pupille entre premier point d'inflexion (début de la constriction) et le deuxième point d'inflexion (fin de la constriction).
5. La latence de fin de constriction, le temps passé entre la fin de la saccade de positionnement et la fin de la constriction.
6. La vitesse de constriction, qui est calculée par le rapport de l'amplitude de la constriction sur la différence des latences de début et de fin de constriction.
7. La qualité de la fixation : le pourcentage de temps passé pendant lequel le regard se situe dans une fenêtre de  $1^\circ$  au centre du disque fixé.

Afin de déterminer l'effet de la luminance sur ces variables d'intérêt, des régressions linéaires ont été calculées pour chaque sujet sur tous les essais à travers les conditions de luminances. La moyenne et les intervalles de confiance à 95% sur la population des pentes de ces régressions linéaires seront présentés dans la suite de ce document, avec les notations SLR (slope of linear regression) et CI (confidence interval).

## II.5 Résultats

Avant d'analyser en détail les dynamiques pupillaires, la qualité de fixation ainsi que l'activité saccadique sont observées afin de s'assurer que le participant a correctement effectué la tâche. L'activité saccadique était en moyenne cohérente avec le déroulement de la tâche (voir Figure 17) et la fixation était stable, comprise entre 90 et 100% de temps passé dans une fenêtre de  $1^\circ$  au centre du disque de fixation (sauf pour le sujet S09 en rouge sur la Figure 20A). La Figure 20B montre la stabilité de la fixation, c'est-à-dire le pourcentage de temps passé dans une fenêtre autour du point de fixation, pour 3 différentes tailles de fenêtre. Ainsi il est observable que même pour le sujet S09 qui présente une qualité de fixation moins bonne, quand le regard n'était pas dans la fenêtre de  $1^\circ$  de diamètre au centre du disque fixé, il était souvent dans les  $2$  ou  $4^\circ$  centraux et très rarement en dehors du disque de fixation dont le

diamètre était de  $4.4^\circ$ . Aucune corrélation entre la stabilité de la fixation et la luminance du disque fixé n'a été trouvée.

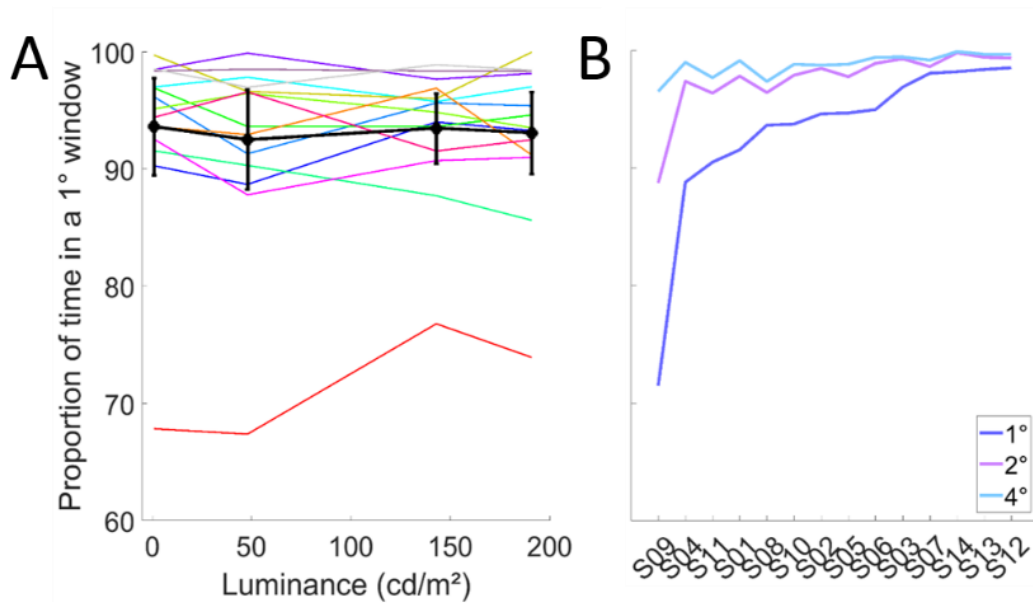


Figure 20 : Stabilité de la fixation au cours de l'Expérience 1. (A) Stabilité de la fixation au cours de l'Expérience 1 calculée comme le pourcentage de temps passé dans une fenêtre de  $1^\circ$  centrée sur le disque fixé, en fonction de la luminance du disque ; les points noirs représentent la moyenne sur la population, les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95%. La stabilité de la fixation n'est pas corrélée à la luminance du disque fixé ( $SLR : a=-2.86 \times 10^{-4}$  ;  $CI=9.40 \times 10^{-3}$ ). (B) Stabilité de la fixation pour tous les sujets et 3 fenêtres ( $1^\circ$ ,  $2^\circ$  et  $4^\circ$ ), au cours de l'Expérience 1.

Une comparaison des réponses pupillaires par luminance entre les différentes conditions de disposition spatiale des disques de fixation n'a révélée aucune différence significative. Les données pupillaires ont donc été poolées par sujet et par niveau de luminance indépendamment de leur condition et donc de leur position sur l'écran.

Pour chaque sujet, la taille moyenne de la pupille a été calculée sur les périodes de fixations classées par niveau de luminance. La Figure 21 présente la taille de la pupille en fonction du temps sur la période de fixation et en fonction de la luminance du disque fixé. Les jeux de données complets des 14 sujets sont présentés en Annexe Figure 78 à Annexe Figure 80.

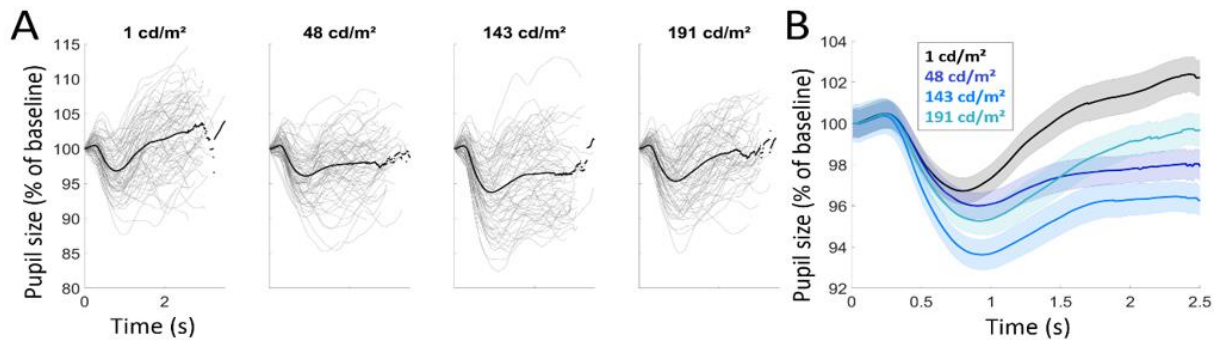


Figure 21 : Exemple de dynamiques pupillaires au cours de l'Expérience 1. (A) Taille de la pupille (en pourcentage de la baseline) au cours du temps pour un sujet et pour les 4 conditions de luminance : les essais individuels en gris et la moyenne en noir. (B) Taille moyenne de la pupille au cours du temps et intervalles de confiance (à 95%) pour chaque condition de luminance (même sujet qu'en A).

Le pupille dilate légèrement après la saccade de positionnement (PS) puis contractée jusqu'à atteindre une taille minimale après un délai puis dilate à nouveau (l'échappement pupillaire). Ce pattern est observé chez tous les sujets pour la plupart des essais même si une large variabilité intra et inter individuelle est observée.

Les variables descriptives des dynamiques pupillaires sont analysées plus en détails (Figure 22-Figure 23).

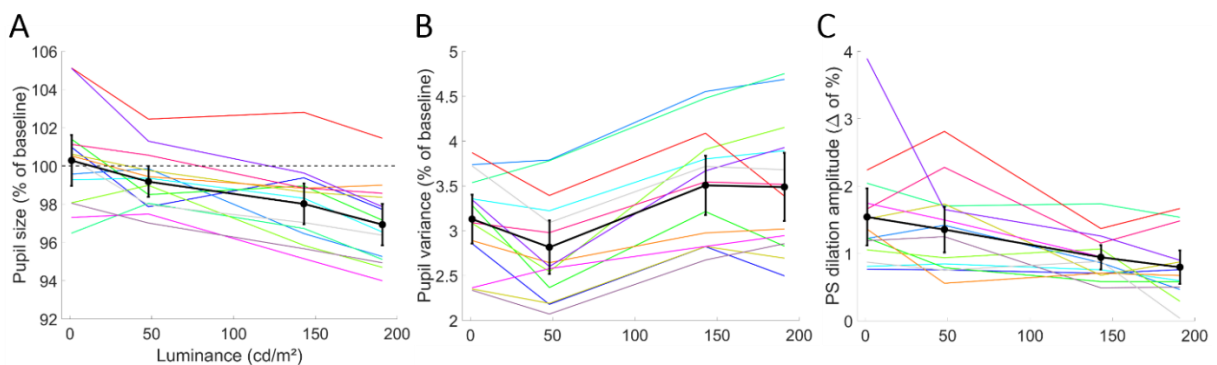


Figure 22 : Effet de la luminance du disque fixé sur les dynamiques pupillaires. Les points noirs représentent la moyenne à travers la population des sujets, et les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95% à travers la population. (A) Taille moyenne de la pupille sur le segment de fixation (en pourcentage de la baseline) en fonction de la luminance du disque fixé, la ligne horizontale en pointillés indique le niveau de la taille moyenne de la pupille au cours de la baseline (100%) ; (B) Variance de la taille de la pupille au cours de la fixation (écart type) en fonction de la luminance ; (C) Amplitude de la dilatation post-saccadique.

Nous avons trouvé un effet significatif de la luminance du disque fixé sur la taille moyenne de la pupille ( $SLR : a = -1.65 \times 10^{-2}$  ;  $CI = 3.49 \times 10^{-3}$  ; Figure 22A), avec un diamètre pupillaire qui diminue avec l'augmentation de la luminance du disque fixé. La variance de la taille de la pupille augmente avec la luminance du disque fixé ( $SLR : a = 3.02 \times 10^{-3}$  ;  $CI = 1.31 \times 10^{-3}$  ; Figure 22B).

A la suite d'une saccade de positionnement est observée une faible dilatation dont l'amplitude dépend de la luminance du disque fixé ( $SLR : a=-3.94^e-3 ; CI=1.51^e-3$  ; Figure 22D) de la même façon que l'amplitude de la constriction post-saccadique (PSPC) ( $SLR ; a=2.32^e-2 ; CI=4.46^e-3$ ), malgré un effet plateau au plus haut niveau de luminance (Figure 23B). La vitesse de la PSPC augmente également avec la luminance ( $SLR : a=2.19^e-2 ; CI=5.22^e-3$  ; Figure 23D). La latence du début de la PSPC décroît avec l'augmentation de la luminance ( $SLR : a=-0.480 ; CI=0.156$  ; Figure 23A). Résultant de l'effet de la luminance sur la latence du début de la PSPC ainsi que sa vitesse, le temps pour atteindre la constriction maximale augmente avec la luminance ( $SLR : a=0.419 ; CI=0.212$  ; Figure 23C).

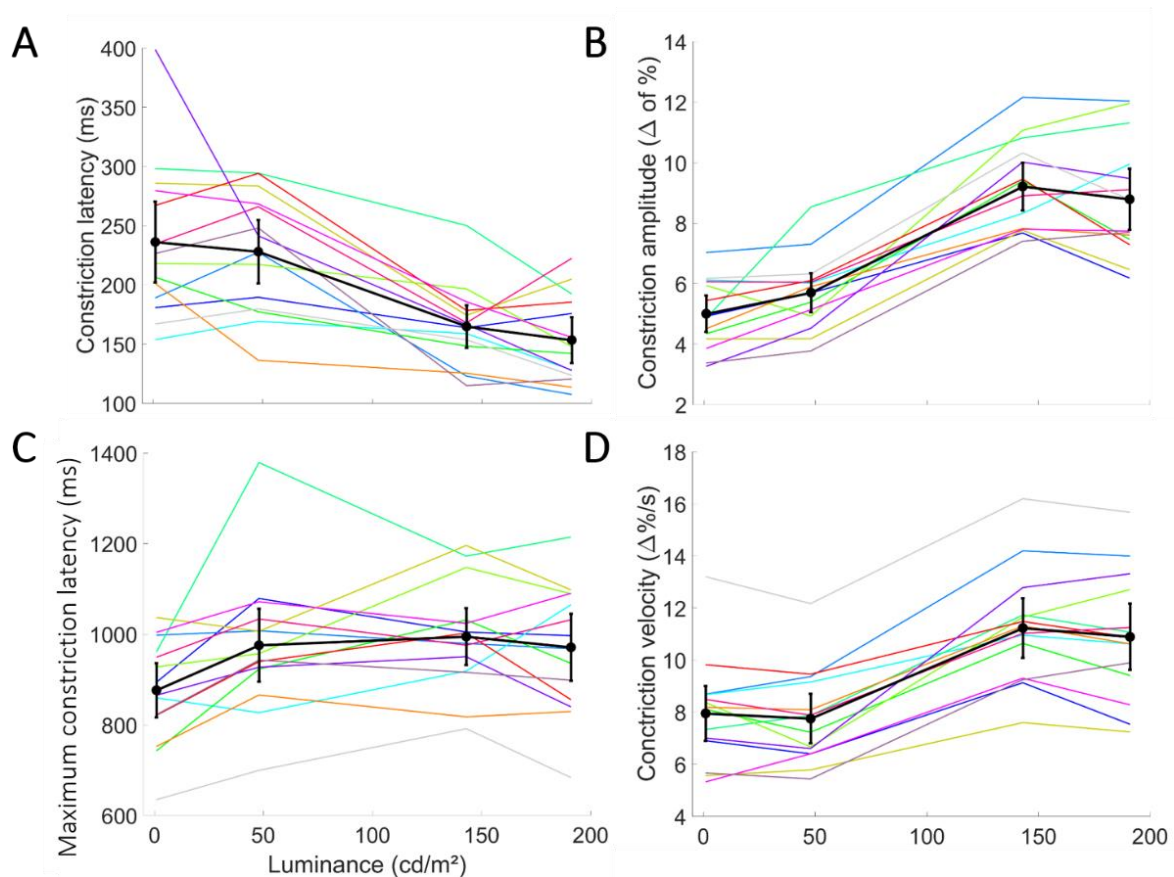


Figure 23 : Effet de la luminance du disque fixé sur les dynamiques pupillaires de la PSPC. Les points noirs représentent la moyenne à travers la population des sujets, et les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95% à travers la population. (A) Latence de la PSPC (temps de la PS au début de la PSPC) ; (B) Amplitude de la PSPC ; (C) Latence de la fin du maximum de constriction (temps de la PS jusqu'à la fin de la PSPC) ; (D) Vitesse de la PSPC (en % de baseline par seconde).

## II.6 Discussion

Les résultats montrent qu'après une PS (saccade de positionnement), de nombreux paramètres de la dynamique pupillaire sont corrélés avec le niveau de luminance à la position de regard (ici le disque de fixation), comme l'amplitude de la dilatation post-saccadique, la moyenne et

la variance de la taille de la pupille au cours de la fixation, la latence de début et de fin de constriction et la vitesse de constriction. Ces résultats confirment que les réponses pupillaires sont principalement entraînées par la vision centrale.

En accord avec les études précédentes (Fukuda, Stern, Brown, & Russo, 2005; Jainta, Vernet, Yang, & Kapoula, 2011; Wang, Boehnke, Itti, & Munoz, 2014), une petite dilatation pupillaire post-saccadique est observée, suivie d'une constriction pupillaire dont la latence, l'amplitude et la vitesse dépendent de la luminance de la région fixée. Une étude récente suggère que cette dilatation reflète une activité au niveau du Colliculus supérieur où des micro-stimulations peuvent provoquer une dilatation pupillaire dont l'amplitude est plus importante dans des conditions de pénombre que dans des contextes lumineux (Wang, Boehnke, White, & Munoz, 2012). Les auteurs de cette étude suggèrent que cette dilatation post-saccadique initiale reflète une activité préparatoire d'orientation vers les futurs stimuli.

Pour finir, les effets de la luminance sur les réponses pupillaires semblent saturer dans les hauts niveaux de luminance, ce qui est en accord avec les connaissances actuelles sur la réponse pupillaire en fonction de la luminance (Chung & Pease, 1999; Clarke et al, 2003a).

Dans l'Expérience 1, la taille de la pupille était principalement menée par le niveau de luminance présent en vision central. La charge attentionnelle était faible et seulement liée au son déclenchant la saccade de positionnement puisqu'il n'y avait pas d'autre tâche que de fixer le centre du disque. L'exécution d'une tâche visuelle et l'évaluation de la performance perceptuelle est nécessaire afin de valider l'hypothèse selon laquelle des modifications de la qualité optique de l'œil liées à la réponse de la pupille lors de l'exploration visuelle pourraient moduler le traitement visuel. Une tâche modulant l'attention devrait causer une dilatation de la pupille (Kahneman et al., 1967; Beatty & Wagoner, 1978).

Dans l'Expérience 2, une tâche ardue de discrimination de fréquences spatiales est introduite et le design du stimulus lumineux est conservé. Cela va permettre de vérifier la présence de modulations du diamètre pupillaire liées à la charge attentionnelle, puis de vérifier si et dans quelle mesure, ces modulations impactent les performances perceptuelles.

## **III Expérience 2**

L'Expérience 2 a pour but de tester si la taille de la pupille, qui dépend de la luminance de l'objet fixé (comme montré dans l'Expérience 1), influe sur les performances de discrimination de fréquences spatiales. De meilleures performances sont attendues pour une pupille plus petite (quand un objet de luminance élevée est fixé) grâce à une qualité optique de l'œil optimisée (Campbell & Gregory, 1960; Campbell & Gubisch, 1966).

Toutefois, comme la tâche de discrimination engage l'attention, des changements dans la taille moyenne et des dynamiques de la pupille sont attendus.

### **III.1 Participants**

Les participants à l'Expérience 2 sont les mêmes qu'à l'Expérience 1. Les deux Expériences ont été mené chez chaque sujet à la suite l'une de l'autre, au cours de la même journée, et toujours en commençant par l'Expérience 1.

### **III.2 Stimulus et procédure**

Le même design de stimulus visuel qu'au cours de l'Expérience 1 a été utilisé pour l'Expérience 2, avec quelques modifications dans la procédure afin de réaliser une tâche de discrimination de fréquences spatiales. Une seule configuration de disques a été utilisée (celle représentée en Figure 24). Le son déclencheur de la saccade a également été remplacé par un indice visuel : un cercle de faible contraste entourant le disque à fixer affiché pendant 1 seconde au début de chaque essai. Un essai ne comprend plus qu'une fixation de 4 secondes d'un des quatre disques. Pendant cette fixation, 2 patches de Gabor (sigma :  $1.7^\circ$ , orienté verticalement, fréquences de 9 et  $9.7\text{cycles}/^\circ$ , contraste Michelson de 0.99) sont flashés en succession au centre de l'écran, dans un ordre randomisé, pendant 150msec avec un intervalle de 1 seconde entre l'apparition du premier et l'apparition de second.



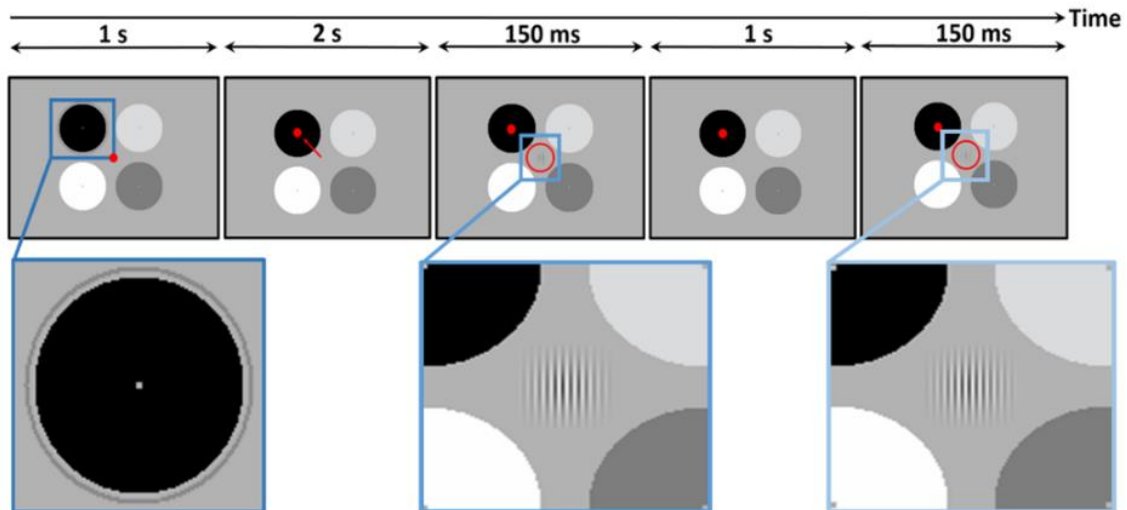


Figure 24 : Aspect et déroulement temporel de l'Expérience 2. Les points rouges indiquent la localisation des fixations et les flèches rouges les saccades. Les cercles rouges montrent la localisation et le temps d'apparition des patches de Gabor à discriminer. L'essai débute par la fixation d'un point de fixation central pendant 1 seconde (comme dans l'Expérience 1). Un cercle gris ( $80 \text{ cd/m}^2$ ) encercle pendant 1 seconde le disque à fixer pendant l'essai. Après 2 secondes de fixation de ce disque, un premier patch de Gabor apparaît au centre de l'écran pour 150 msec suivi, 1 seconde plus tard du second patch de Gabor avec une fréquence spatiale différente du premier. Les participants doivent ensuite indiquer quel Gabor présentait la fréquence spatiale la plus élevée avec un appui bouton.

Le choix des fréquences spatiales a été basé sur des études précédentes (Campbell et al., 1970; Berkley, Kitterle, & Watkins, 1975). Les deltas entre ces deux fréquences est proche du seuil de discrimination (pour ces hauteurs de fréquences).

Les participants avaient pour instruction de fixer le centre du disque ciblé et d'éviter d'effectuer des saccades, en particulier vers la région d'apparition des Gabor. A la fin de chaque essai, les participants devaient indiquer le disque qui selon eux présentait la fréquence spatiale la plus élevée en pressant l'une des deux touches clés sur le clavier (conception à choix forcé à deux intervalles, two-interval forced choice, 2IFC). L'appui bouton lançait l'essai suivant. Il y avait 4 conditions, une pour chaque niveau de luminance (les mêmes que pour l'Expérience 1). Chaque condition était répétée 60 fois en 3 sessions de 80 essais.

### III.3 Analyse des données

Les étapes d'analyses sont les mêmes que pour l'Expérience 1.

Avant d'aller plus en avant dans les analyses du comportement pupillaire, l'activité saccadique, la stabilité de la fixation et le nombre d'essai exclus sont vérifiés. La Figure 25 montre l'activité de 2 sujets au cours de l'Expérience 2 (les mêmes sujets montrés en Figure 17). Malgré la consigne donnée aux participants, certaines saccades en direction de la région



d'apparition des Gabor sont visibles. Ces intrusions saccadiques présentent une hétérogénéité au sein de la population des 14 participants.

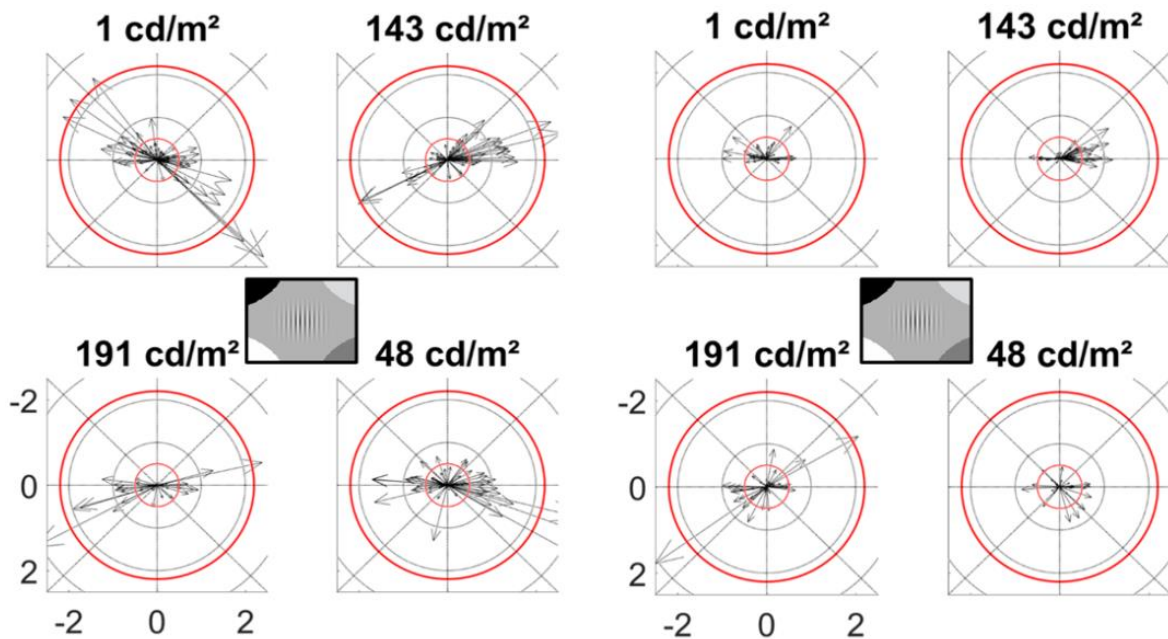


Figure 25 : Exemples d'activités saccadiques observées au cours de l'Expérience 2 chez 2 sujets (à gauche : sujet 9 ; à droite : sujet 14), tous essais confondus. Chaque vecteur représente une saccade dans son amplitude et sa direction. Le grand cercle rouge représente la taille d'un disque de fixation ; le petit cercle rouge représente la taille de la fenêtre utilisée pour juger de la qualité de fixation. Les saccades en direction des Gabor sont utilisées comme critères d'exclusion des essais.

Afin d'éviter de biaiser les résultats en utilisant les données d'essais où les participants ne respectaient pas la consigne et réalisaient des saccades en direction de Gabor, ont été exclus les essais pendant lesquels une saccade ou un clignement apparaissait entre 0.25 sec avant l'apparition d'un Gabor jusqu'à 0.25 après la disparition du Gabor, et ce, autour du premier et du second Gabor.

La stabilité de la fixation et la proportion d'essais exclus au cours de l'Expérience 2 sont visibles en Figure 26.

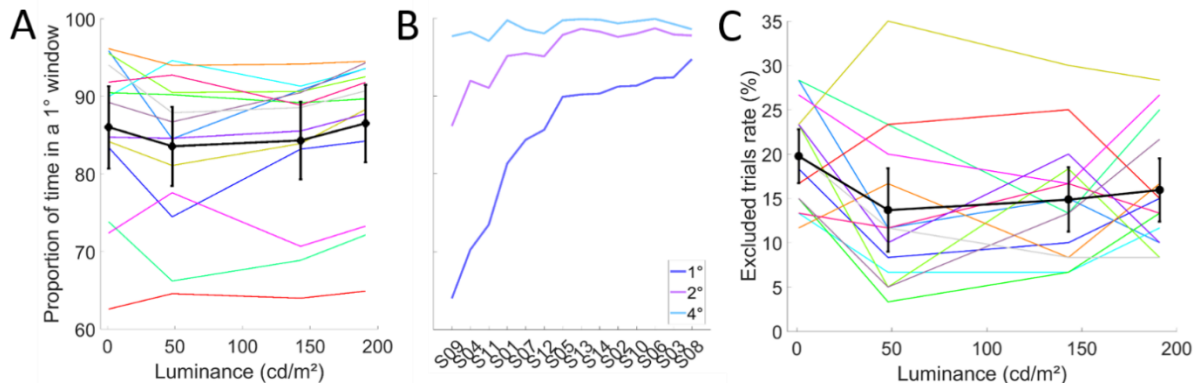


Figure 26 : Qualité de la fixation et proportions d'essais exclus au cours de l'Expérience 2. (A) Stabilité de la fixation au cours de l'Expérience 2 calculée comme le pourcentage de temps passé dans une fenêtre de 1° centrée sur le disque fixé, en fonction de la luminance du disque ; les points noirs représentent la moyenne sur la population, les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95%. La stabilité de la fixation n'est pas corrélée à la luminance du disque fixé (SLR :  $a=-4.31^e-3$  ;  $CI=7.46^e-4$ ). (B) Stabilité de la fixation pour tous les sujets et 3 fenêtres (1, 2 et 4°), au cours de l'Expérience 2. (C) Proportion d'essais exclus au cours de l'Expérience 2 à l'aide des critères décrits dans la section « Analyse des données » en fonction de la luminance du disque fixé ; les points noirs représentent la moyenne sur la population, les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95%. Le pourcentage d'exclus n'est pas significativement corrélé à la luminance du disque fixé (SLR :  $a=-1.35^e-4$  ;  $CI=1.57^e-4$ ).

### III.4 Résultats

#### III.4.A Effet de la luminance sur les dynamiques pupillaires

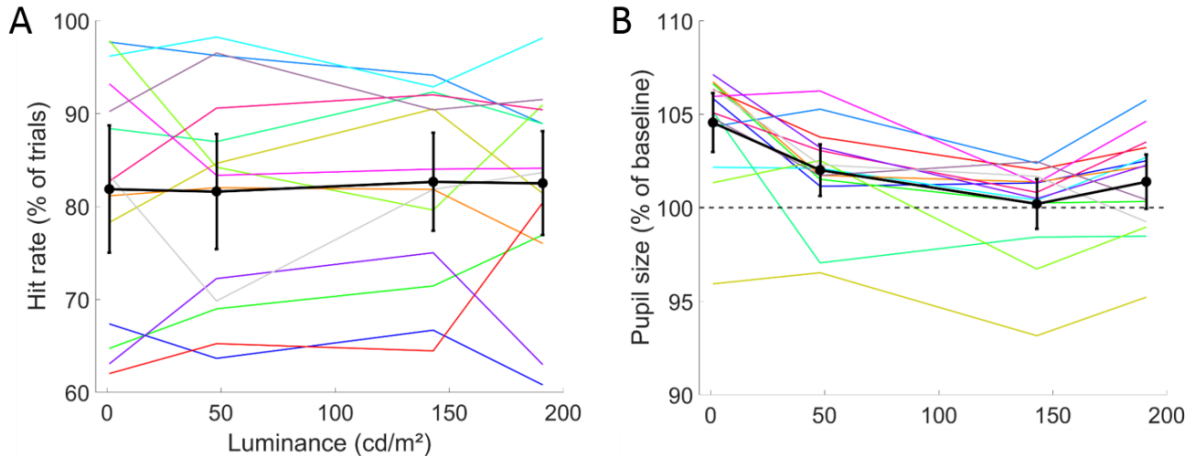


Figure 27 : Performances dans la tâche de discrimination et taille moyenne de la pupille au cours de l'Expérience 2. Les points noirs représentent la moyenne à travers la population des sujets, et les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95% à travers la population. (A) Performance dans la tâche de discrimination de fréquences spatiales en fonction de la luminance du disque fixé ; (B) Taille moyenne de la pupille sur le segment de fixation (en pourcentage de la baseline) en fonction de la luminance du disque fixé.

Globalement la dynamique de la taille de la pupille au cours d'un essai est similaire qu'au cours de l'Expérience 1 avec cependant des différences notables dans les variables analysées. En particulier, nous avons trouvé une PSPC plus importante et plus rapide lors de la fixation du disque présentant la luminance la plus importante que lors de la fixation du disque le plus

sombre (Figure 27B). L'effet de la luminance du disque fixé sur la taille de la pupille est donc conservé lors de l'Expérience 2, ce qui permet de tester l'hypothèse selon laquelle ces modulations de diamètre pupillaire pourraient influencer les performances de discrimination de fréquences spatiales.

Les performances dans la tâche de discrimination sont très variables dans la population des 14 sujets et compris entre environ 60 et 95% (Figure 27A). Aucune corrélation entre les performances et la luminance (et donc la taille de la pupille) n'a été trouvée ( $SLR : a=5.43^{-5}$  ;  $CI=1.89^{-4}$  ; Figure 27A).

Nous avons analysé en profondeur les dynamiques de la pupille de la même façon que dans l'Expérience 1. La taille moyenne de la pupille est modulée de façon significative par la luminance du disque fixé ( $SLR : a=-1.69^{-2}$  ;  $CI=4.85^{-3}$  ; Figure 27B), la taille de la pupille décroît avec l'augmentation de la luminance. La variance de la taille de la pupille au cours du temps lors de la fixation est corrélée à la luminance du disque fixé ( $SLR : a=-1.71^{-3}$  ;  $CI=1.06^{-3}$  ; Figure 28A). L'amplitude de la dilatation post-saccadique diminue significativement avec l'augmentation de la luminance ( $SLR : a=3.3^{-3}$  ;  $CI=2.6^{-3}$  ; Figure 28B). La Figure 28C montre l'amplitude de la PSPC qui augmente avec la luminance du disque fixé ( $SLR : a=1.21^{-2}$  ;  $CI=3.85^{-3}$ ). La PSPC est plus rapide à forte luminance comparée à faible luminance ( $SLR : a=1.22^{-2}$  ;  $CI=5.04^{-3}$  ; Figure 28D), débute plus tôt à luminance élevée ( $SLR : a=-0.417$  ;  $CI=0.237$  ; Figure 28E) et atteint son maximum plus tôt à faible luminance ( $SLR : a=0.338$  ;  $CI=0.334$  ; Figure 28F).

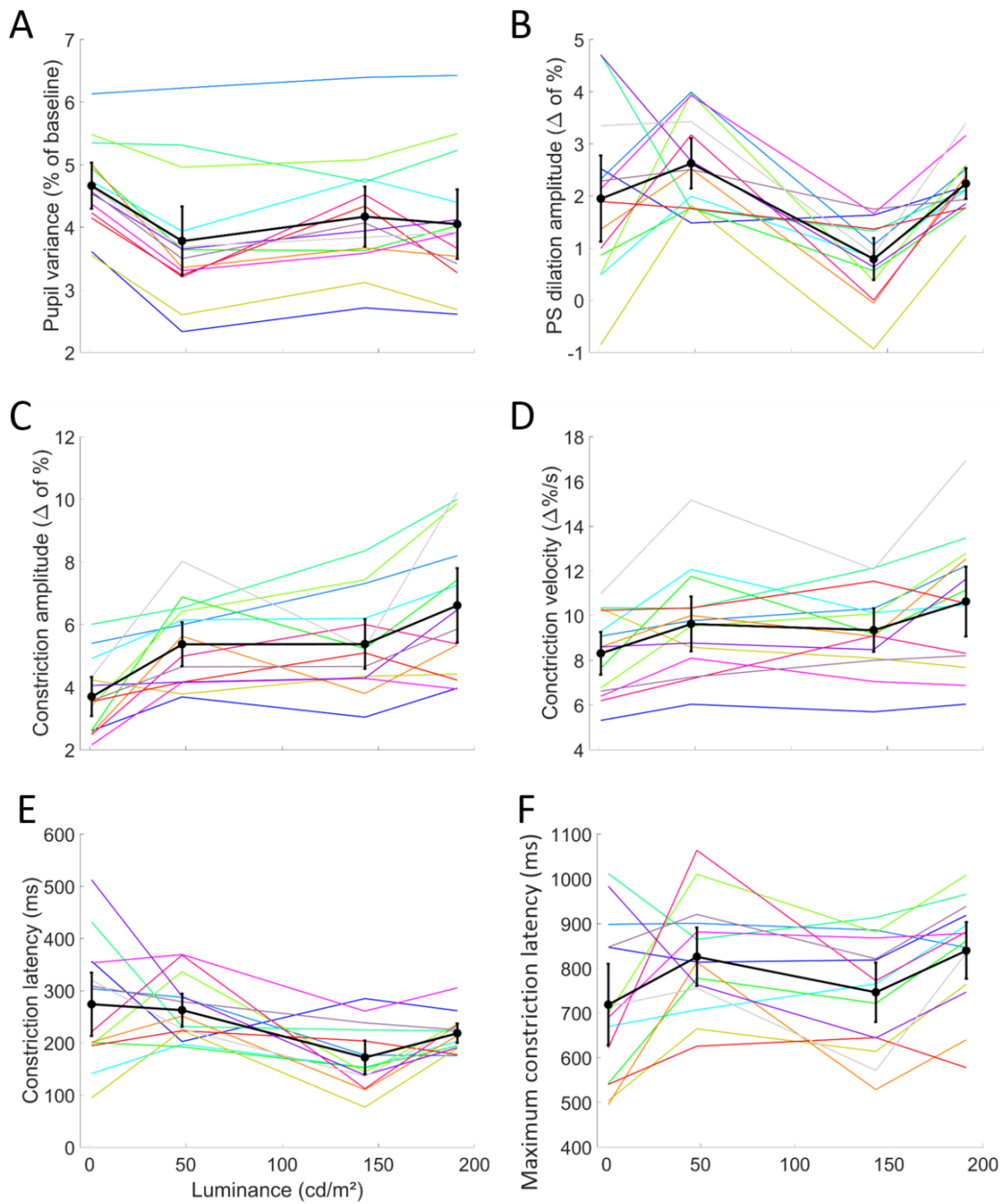


Figure 28 : Dynamiques pupillaires au cours de l'Expérience 2. (A) Variance de la taille de la pupille au cours du temps en fonction de la luminance du disque fixé ; Amplitude de la dilatation post-saccadique en fonction de la luminance ; (C) Amplitude de la PSC ; (D) Vitesse de la PSC ; (E) Latence du début de la PSC ; (F) Latence du maximum de la PSC.

### III.4.B Effet des Gabor sur les réponses pupillaires

Afin de vérifier si la présentation des Gabor entraîne des réponses pupillaires spécifiques, les pentes des dynamiques pupillaires sont calculées sur 500 msec avant et après l'apparition de chaque Gabor et pour chaque niveau de luminance (Figure 29).

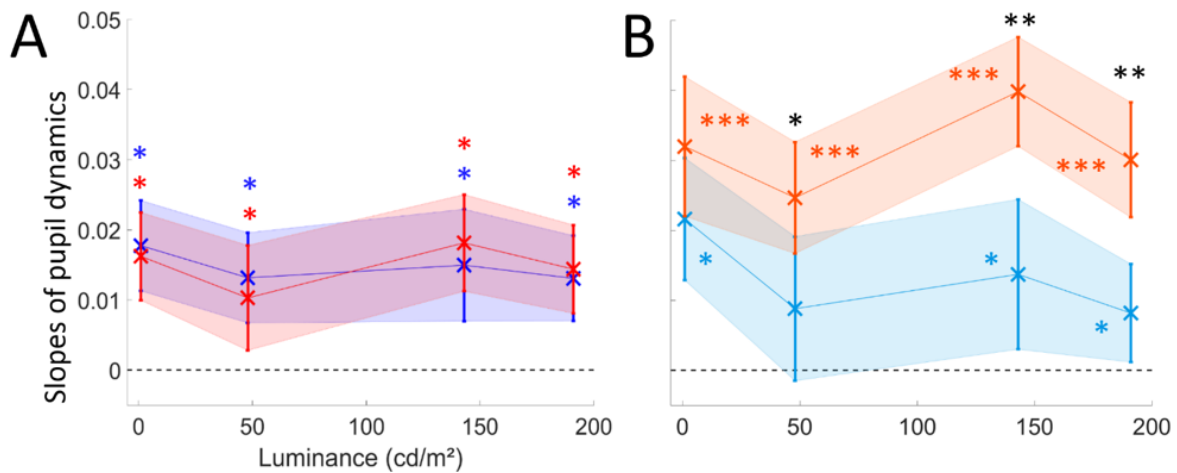


Figure 29 : Dynamiques pupillaires pendant l'encodage du stimulus. (A) Moyenne et intervalles de confiance à 95% à travers les sujets des pentes calculées sur des fenêtres de 500ms avant (bleu) et après (rouge) l'apparition du premier patch de Gabor. Des pentes positives représentent une dilatation de la pupille. Les t-test de Student et les  $d$  de Cohen ne montrent pas de différence significative entre les pentes avant et après l'apparition du premier Gabor. Les astérisques rouges et bleus indiquent quand les pentes sont significativement différentes de zéro : t-test de Student, \* :  $p < 0.05$ . (B) Idem qu'en (A) pour l'apparition du second patch de Gabor (bleu clair: segment de 500 msec avant; orange: segment de 500msec depuis l'apparition du second Gabor). Les astérisques bleu clair et orange indiquent quand les pentes sont significativement différentes de zéro : t-test de Student, \* :  $p < 0.05$ ; \*\*\* :  $p < 10^{-4}$ . Les différences significatives des pentes avant et après le second Gabor sont indiquées à l'aide des astérisques noirs : \* : t-test de Student  $p < 0.01$  et  $d$  de Cohen  $> 0.5$ ; \*\* : t-test de Student  $p < 0.005$  et  $d$  de Cohen  $> 1$ .

Aucune constriction pupillaire n'a été observée en réponse aux flashes des deux patches de Gabor comme le montrent les pentes positives (correspondant à des dilatations pupillaires) en Figure 29. La comparaison des pentes pupillaires avant et après le premier Gabor et entre l'après premier Gabor et l'avant deuxième Gabor n'a révélée aucune différence significative dans la dynamique pupillaire. En revanche, les pentes de dilatation pupillaire suivant la présentation du deuxième Gabor augmentent fortement comparé à la dynamique pupillaire observée avant le deuxième Gabor (Figure 29B).

La dilatation de la pupille après le second Gabor est plus rapide lors de la fixation d'un disque clair que lors de la fixation d'un disque foncé, probablement car la pupille est déjà dilatée lors de la fixation d'un disque de faible luminance contrairement à une pupille constricte lors de la fixation d'un disque très lumineux qui laisse plus de latitude à une dilatation plus rapide en fin d'essai.

### III.4.C Dilatation pupillaire et performances

L'effet des dynamiques pupillaires sur les performances visuelles de discrimination de fréquence spatiale est testé. En Figure 30A-D sont visibles les distributions des pentes de corrélations des dynamiques pupillaires sur les fenêtres de 500 msec avant et après l'apparition des deux Gabor, pour toutes les répétitions de toutes les luminances de tous les sujets.

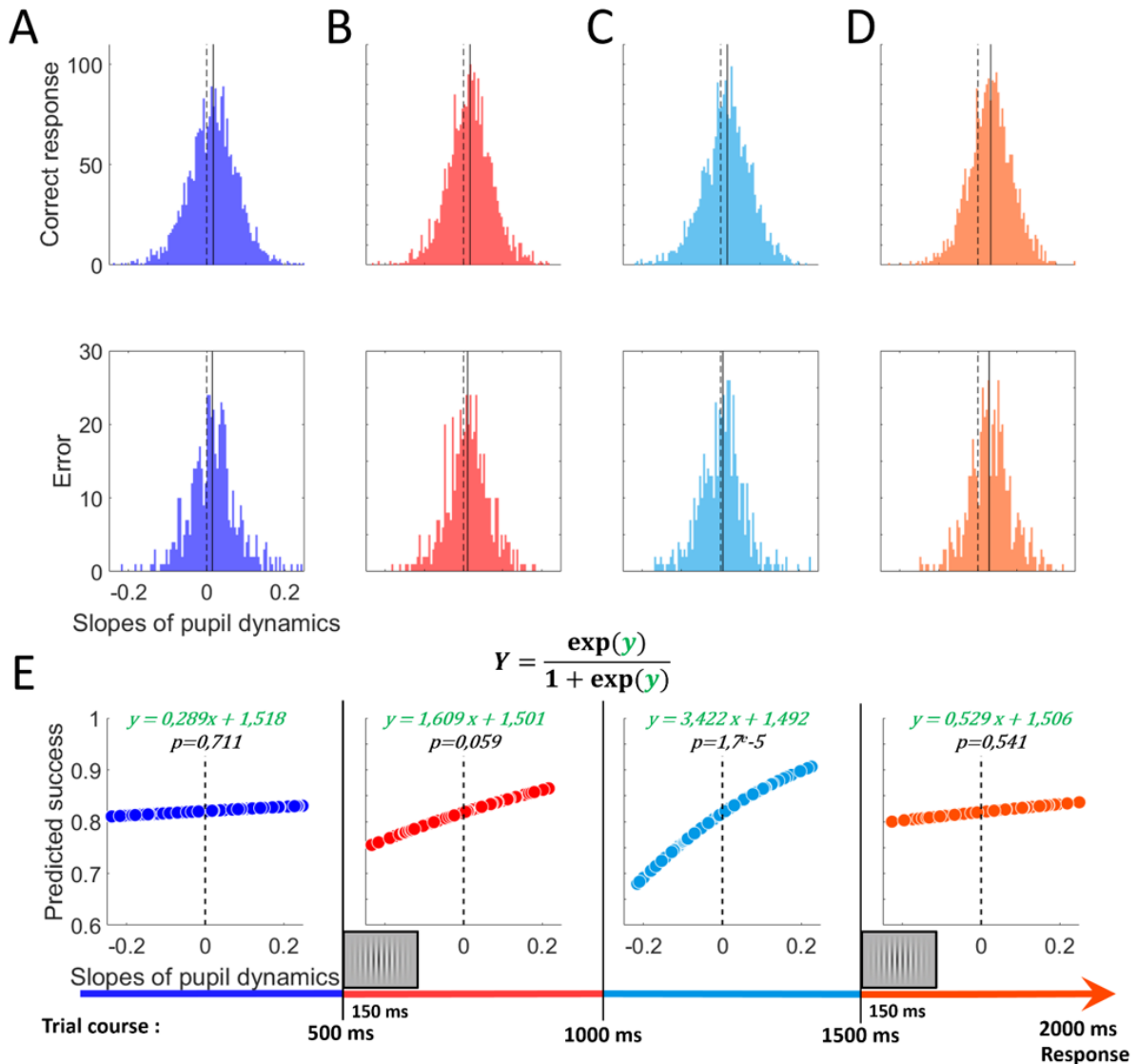


Figure 30 : Distributions des pentes de dynamiques pupillaires et prédiction des performances. (A-D) Distributions des pentes de dynamiques pupillaires pour les essais avec bonnes et mauvaises réponses à la tâche de discrimination pour les 4 différents segments de 500 msec avant et après l'apparition du premier et du second Gabor. Les lignes verticales en pointillés représentent la pente nulle et les lignes verticales pleines épaisses indiquent les médianes des distributions. Les pentes positives représentent une dilatation pupillaire. (A) Avant l'apparition du premier Gabor (bleu foncé) ; (B) après l'apparition du premier Gabor (rouge) ; (C) avant l'apparition du second Gabor (bleu clair) ; (D) après l'apparition du second Gabor (orange) ; (E) Performances prédites par la régression logistique générale (GLM) des pentes de tous les essais de toutes les conditions et de tous les sujets rassemblées. Les équations et p correspondants de chaque GLM sont indiquées pour chaque segment de temps. Les pentes pupillaires positives (à droite de la ligne verticale en pointillés) représentent des dilatations pupillaires.

Afin de déterminer dans quelle mesure ces pentes permettent de prédire le comportement et les performances dans la tâche de discrimination, une régression logistique est calculée en utilisant les réponses à la tâche et les pentes de l'activité pupillaire durant les quatre lapses de temps décrits plus haut. La Figure 30E montre la prédiction des performances en fonction de l'activité pupillaire. Les pentes calculées entre la présentation de 2 Gabor permettent une prédiction plus précise (après le premier Gabor :  $p=0.059$  ; avant le deuxième Gabor :  $p<0.001$ ) que les pentes calculées avant la présentation du premier Gabor et après la présentation du second Gabor (avant le premier Gabor :  $p=0.711$  ; après le second Gabor :  $p=0.541$ ). La Figure 31 montre la distribution des taux de réussite en fonction des pentes de dynamiques pupillaires.

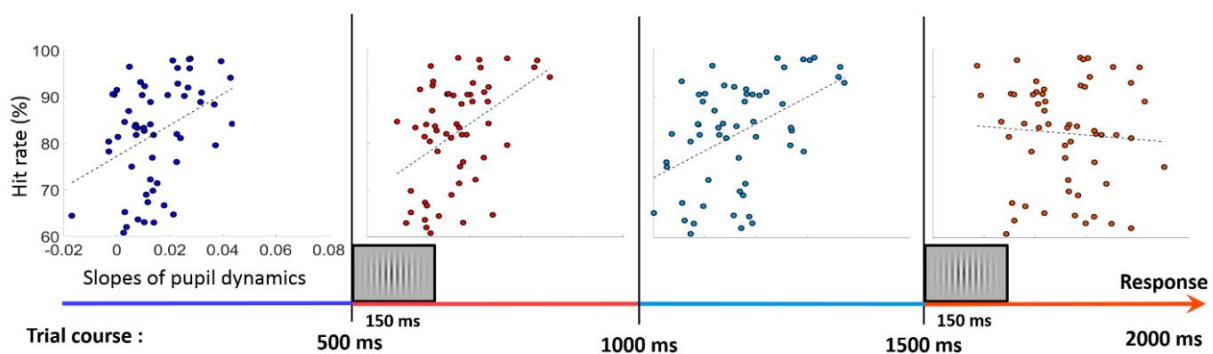


Figure 31 : Taux de réussite en fonction des pentes de dynamiques pupillaires pour les 4 intervalles de temps pour chaque niveau de luminance et pour tous les sujets (4 points par sujets). Les lignes en pointillées symbolisent les régressions linéaires pour chaque intervalle de temps.

Ces résultats indiquent qu'une dilatation plus rapide de la pupille pendant l'encodage de l'information visuelle (ici lors de l'encodage de la fréquence spatiale des Gabor) prédit une performance plus précise que la dilatation de la pupille avant l'encodage de l'information ou lors de la prise de décision et de la préparation motrice à la réponse.

### III.5 Comparaison entre l'Expérience 1 et l'Expérience 2

Les similarités et les différences des données collectées au cours de l'Expérience 1 et de l'Expérience 2 sont présentées et discutées. En première approximation, nous avons supposé que la comparaison des résultats des deux expériences était valide parce que les mêmes participants avaient effectué les deux expériences au cours d'une même session et que les stimuli étaient les mêmes. Les différences observées dans les dynamiques pupillaires au cours de deux expériences sont d'abord présentées avant de discuter des différences méthodologiques pouvant aller à l'encontre d'une telle comparaison.



Dans l'Expérience 2, la taille moyenne de la pupille au cours de la fixation était significativement plus importante qu'au cours de l'Expérience 1 (Figure 32A).

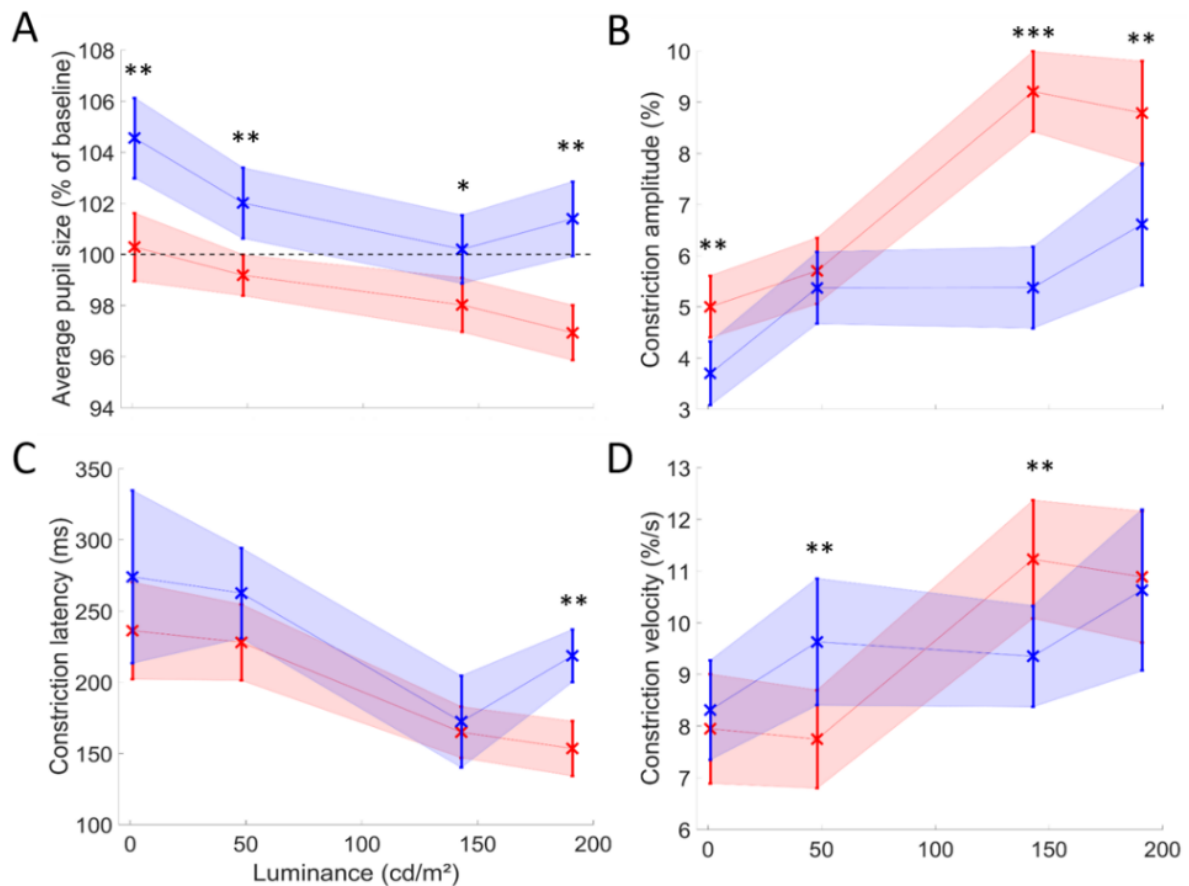


Figure 32 : Comparaison de l'Expérience 1 (rouge) et l'Expérience 2 (bleu). Les croix et les barres d'erreurs représentent sur la population de sujets les moyennes et les intervalles de confiance à 95%, et les astérisques noirs représentent la significativité des différences entre l'Expérience 1 et l'Expérience 2 ( $d$  de Cohen, \* :  $d < 0.5$  ; \*\* :  $1 < d < 2$  ; \*\*\* :  $d > 2$ ). (A) Taille moyenne de la pupille en fonction de la luminance du disque fixé ; (B) Amplitude de la PSPC ; (C) Latence du début de la PSPC ; (D) Vitesse de la PSPC.

La comparaison de l'amplitude de la PSPC a révélé des différences importantes et significatives pour trois des quatre niveaux de luminance avec une constriction moins importante dans l'Expérience 2 qu'au cours de l'Expérience 1 (Figure 32B). La latence du début de la PSPC diffère également entre les deux expériences, mais uniquement pour la luminance la plus élevée, avec une latence plus importante au cours de l'Expérience 2 (Figure 32C). Pour finir, la PSPC était significativement plus rapide pour le gris foncé et plus lent pour le gris clair dans l'Expérience 1 comparée à l'Expérience 2 (Figure 32D).

Ces différences sont éparses et hétérogènes à travers les conditions de luminance sans explication triviale. En particulier, certaines différences semblent être plus importantes pour les luminances extrêmes (taille moyenne de la pupille et latence) quand d'autres le sont pour les luminances intermédiaires (vitesse de la PSPC). Une explication pour ces différences



observées pourrait être que l'ajout d'une tâche de discrimination modifie la charge cognitive globale et pourrait altérer l'équilibre entre les circuits sympathique et parasympathique innervant la pupille à travers une inhibition du circuit sympathique au niveau du noyau d'Edinger-Westphal (Merritt et al, 2004 ; Wang et al, 2012). Avec l'ajout de cette tâche, la pupille est moins réactive à la stimulation lumineuse à cause de l'entraînement inhibiteur résultant en une constriction plus petite, plus lente et plus tardive. Un des facteurs expliquant ces différents effets est que le niveau de la luminance « clampe » la taille de la pupille à différents degrés, laissant plus ou moins de place à une influence attentionnelle et / ou cognitive.

Par ailleurs, quelques différences méthodologiques entre les deux expériences affaiblissent la comparaison entre les résultats de l'Expérience 1 et l'Expérience 2. Dans l'Expérience 1, la séquence des quatre fixations était rythmée par un son tandis que dans l'Expérience 2, un essai n'était constitué que d'une seule fixation et l'indice ciblant le disque à fixer était visuelle et non sonore. Lors de l'Expérience 2, les fixations duraient 3.3 sec (contre 2 dans l'Expérience 1) et des patches de Gabor étaient flashés dans la région parafovéale. Ces différences peuvent entrer en compte dans l'explication de certaines des différences dans les résultats rencontrés entre les deux expériences et limiter les conclusions résultantes de cette comparaison. Malgré ces différences, l'effet relatif de la luminance des cibles fixées mesuré dans les deux expériences reste pertinent.

## IV Discussion générale

Nous avons mené deux expériences afin :

- D'examiner dans quelle mesure la taille de la pupille dépend de la luminance du stimulus fixé dans un environnement global stable.
- De tester si la taille de la pupille, modulée par la luminance locale et la charge attentionnelle et jouant sur la qualité optique de l'œil, modifie les performances de discrimination visuelle de fréquences spatiales.

Bien que nous ayons trouvé que la taille de la pupille est influencée par la luminance de la région fixée, nous n'avons pas mis en évidence d'effet de la luminance fixée, et donc de la taille de la pupille sur les performances dans la tâche de discrimination proposée. Ces résultats vont à l'encontre de notre hypothèse initiale. Malgré cela, nous avons trouvé une corrélation entre les dynamiques pupillaires et les performances visuelles, ce qui réplique et confirme les études précédemment menées sur le sujet. En particulier, l'utilisation d'un design de tâche 2IFC permet la distinction des périodes d'encodage de l'information visuelle des périodes d'accumulation d'évidence et de prise de décision.

### IV.1 Effet de la luminance et de la taille de la pupille sur les performances

Nos résultats sont en désaccord avec ceux des études précédentes. Les travaux précurseurs de Campbell et Gregory (en 1960) ont mis en lumière l'effet de la taille de la pupille sur le seuil de détection de réseaux de fréquences spatiales et des modifications concomitantes de la fonction de transfert de l'œil (the point spread function) (Campbell & Gubisch, 1966). Toutefois, il est à noter que ces études ont été menées à l'aide de pupilles artificielles placées devant l'œil des participants après l'induction de dilatation pupillaire par médication. Dans ces conditions aucune fluctuation physiologique de la taille de la pupille n'était possible, que ce soit par stimulation lumineuse ou par modulation de la charge cognitive, ainsi les caractéristiques optiques de l'œil restaient constantes au cours des essais.

À notre connaissance, aucune démonstration n'a été faite de l'effet de la pupille sur les performances visuelles avec des pupilles naturelles, sans doute car la pupille n'est jamais au repos et varie fortement au cours du temps, modulant de façon continue l'optique de l'œil.

À cet égard, il est important de noter que la réponse pupillaire après la PS était globalement lente (la latence pour atteindre le maximum de constriction était de 900 msec environ au cours de l'Expérience 1). Comme en moyenne un individu réalise 3 saccades par seconde (avec une fixation d'environ 330msec entre deux saccades), la réponse pupillaire à la luminance locale

en fovéa ne peut pas se développer entièrement. Ainsi il semble difficile que les modulations de l'optique lié aux fluctuations de la taille de la pupille aient un effet sur les performances visuelles dans la vie de tous les jours.

Dans nos conditions expérimentales, les fixations sont longues et la charge cognitive a le temps d'influencer le diamètre pupillaire. Si l'on suppose que la discrimination de fréquences spatiales repose sur le différentiel d'activité corticale induit par les différentes fréquences spatiales, nos résultats sont compatibles avec une récente étude (Thigpen, Bradley et Keil, 2018) montrant que les modulations de la taille de la pupille ne corrèlent pas avec les changements d'activité corticale mesurée avec le potentiel évoqué visuel au repos. En revanche, une étude menée en 2016 (Bombeke, Duthoo, Mueller, Hopf & Boehler, 2016) rapporte une corrélation entre ces deux éléments. Les différences importantes de méthodologies et de stimuli peuvent expliquer la contradiction de ces deux études. Une des différences notables concerne la tâche et la consigne données aux participants. Dans l'étude de Thigpen et al (2018), les sujets avaient pour instruction de regarder vers tout stimulus apparaissant à l'écran, tandis que dans l'étude de Bombeke et al (2016), les participants devaient diriger leur attention vers le disque blanc ou le disque noir en maintenant une fixation précise et en minimisant les clignements. Cette différence peut avoir des conséquences importantes sur la motilité et les dynamiques de la pupille en particulier en regard de l'inhibition exercé par le circuit sympathique sur le noyau d'Edinger-Westphal (Merritt et al, 2004 ; Wang et al, 2012). La mobilisation de l'attention pour accomplir une tâche en laboratoire, ce qui est rarement le cas dans des conditions d'observation naturelles où des «tâches» générées de manière endogène qui accompagnent la «vision» changent continuellement avec le temps, peuvent moduler la réactivité de la pupille ainsi que le traitement cortical et les performances perceptuelles.

En accord avec le travail fondateur de Beatty (1982), des études plus récentes (Mathôt et al, 2013 ; Binda & Gamlin, 2017) rapportent que le focus attentionnel vers un stimulus de forte luminance module la taille de la pupille selon la luminance de la cible attendue. Dans la continuité de ces études, nos données montrent que le réflexe pupillaire à la lumière après une saccade vers une nouvelle localisation n'est pas exclusivement mené par le circuit parasympathique et est contre balancé par des apports sympathiques reflétant la charge cognitive mise en jeu par la tâche visuelle. Cela peut être important considérant les tests cliniques d'acuité visuelle ou d'activité pupillaire comme diagnostic de pathologies rétiniennes, dont les dispositifs utilisés sont très similaires à ceux utilisés en laboratoire. Le manque de contrôle et d'évaluation de l'état cognitif (stress, fatigue, attention, etc.) pourrait

améliorer la sensibilité et la spécificité de ces tests, en particulier ceux utilisant le réflexe pupillaire à la lumière.

## **IV.2 Dynamiques pupillaires pendant la tâche de discrimination de fréquences spatiales**

De nombreuses études ont montré que la pupille se dilate après la détection d'un stimulus au niveau du seuil de perception (Hakerem & Sutton, 1966 ; Kahneman et al, 1967), à la détection d'une cible dans un flux de distracteurs non pertinents (Beatty & Wagoner, 1978 ; Privitera et al, 2008 ; de Gee et al, 2014), pendant l'encodage mémoriel (Beatty, 1982 ; Kucewicz et al, 2018) ou en relation avec la prise de décision (Einhauser et al, 2010 ; Preuschoff et al, 2011 ; de Gee et al, 2014). Dans ces dernières études, un design 2IFC spatial est souvent utilisé (mais voir de Gee et al, 2014).

La mesure de la discrimination de fréquences spatiales par un design 2IFC comme réalisée dans notre étude, permet d'analyser de façon séparée la période d'encodage de l'information visuelle, pendant laquelle aucune décision n'est prise, de la période relative à la construction de la décision perceptuelle. L'analyse des pentes de dilatation pupillaire calculées sur différentes fenêtres temporelles révèle que la vitesse de dilatation de la pupille est positivement corrélée aux performances pendant l'encodage du stimulus alors qu'elle ne l'est pas après les stimuli lors de la comparaison des deux Gabor et la prise de décision. Cette absence de corrélation peut sembler surprenante, le besoin de fournir une réponse à la tâche perceptuelle nécessite des processus relatifs à la prise de décision (accumulation d'évidence, décision, préparation motrice et exécution), quelques soient la qualité et la fiabilité des preuves disponibles après le codage de l'information. Ces processus sont connus pour être coûteux cognitivement parlant et pour entraîner une dilatation pupillaire relative à l'activation du circuit sympathique. Notre étude montre que la mobilisation de ces différents processus n'est pas nécessairement garante d'une réponse correcte à la tâche de perception. Notre étude démontre que la dilatation pupillaire lors de l'encodage de l'information, reflétant l'augmentation de l'attention vers les cibles, est un meilleur prédicteur de performance que la dilatation pupillaire après la phase d'encodage, relative aux processus décisionnels. Ces résultats sont en accord avec des précédentes études sur la mémoire montrant que la dilatation pupillaire lors de l'encodage de l'information est un bon prédicteur de succès au rappel différé (Kahneman et al, 1967 ; Starc, Anticevic & Repovš, 2017 ; Kucewicz et al, 2018).

## V Conclusion

Les analyses approfondies effectuées sur nos données montrent que la taille de la pupille fluctue continuellement avec une variabilité intra et inter individuelle importante. Les modulations de la taille de la pupille relative à la position de regard, ainsi que les variations de l'optique de l'œil entraînées, ne sont pas corrélées aux performances visuelles et apparaissent trop variables (au cours du temps, au sein des réponses d'un sujet et à travers la population) pour influencer significativement le traitement visuel, du moins pour la discrimination de hautes fréquences spatiales telle que mesurée dans notre étude. Le débat reste donc ouvert sur le rôle que jouent les facteurs cognitifs entraînant une dilatation pupillaire sur la perception visuelle. Pour tenter de répondre à cette question, plusieurs conséquences du changement de taille pupillaire ont été prises en compte, mais elles ont souvent des effets opposés. Augmenter la quantité de lumière entrant dans l'œil par la dilatation pupillaire peut améliorer la sensibilité visuelle globale mais cela réduit la résolution spatiale pouvant être obtenue. Une autre possibilité intrigante serait que des pupilles plus dilatées auraient tendance à réduire la profondeur de champ de l'œil, de cette façon les objets éloignés du plan de fixation sont flous, ce qui pourrait améliorer la ségrégation des différents plans de profondeur encombrant l'environnement proche de l'objet observé.

Pour conclure, il est à noter que l'étude de l'effet de la taille de la pupille et de l'optique de l'œil sur la perception visuelle se heurte au paradoxe de devoir ajouter une tâche entraînant elle-même des modulations de la taille de la pupille à travers de modulation neuronale du circuit sympathique d'innervation de la pupille. Cela constitue une limite à la possibilité d'évaluation de l'effet de la taille de la pupille sur la perception visuelle dans des conditions naturelles où les tâches réalisées par les individus sont implicites.

# **CHAPITRE DE PUPILLOMETRIE CLINIQUE :**

## **Méthodes objectives de détection et de suivi de pathologies oculaires.**

---

Ma contribution à cette étude : Rédaction du CPP – Conception des tests et études préliminaires – Passations – Développement des routines d’analyses – Interprétation des résultats

## **I L’étude PupDyn**

### **I.1 Introduction**

Les pathologies de la rétine et du nerf optique se manifestent par une baisse visuelle progressive qui affecte profondément le bien-être et l’autonomie des patients. Détecter précocement ces pathologies est donc un enjeu de santé important.

Leur détection par un ophtalmologiste, faisant suite à une plainte et donc après l’occurrence éventuelle d’une pathologie, demande des examens parfois longs et coûteux (examen du fond d’œil, OCT maculaire et du nerf optique, exploration du champ visuel, etc.). Certains des tests fonctionnels utilisés dépendent de la coopération et de la bonne volonté du patient qui doit comprendre une tâche et formuler un avis subjectif en prenant une décision (par exemple l’exploration du CV qui nécessite de rapporter la présence ou l’absence d’une cible).

Un moyen diagnostique simple, objectif, rapide et reproductible qui puisse être réalisé en routine préventive, et qui ne dépende pas d’une tâche subjective, permettrait de mieux diriger les patients vers les services appropriés pour leur prise en charge. C’est l’objectif de cette étude, qui vise à corréler les dynamiques pupillaires à diverses pathologies visuelles.

En effet, la dégénérescence des photorécepteurs, des cellules ganglionnaires de la rétine, ou les atteintes des fibres du nerf optique, outre la perte visuelle qu’elles entraînent, en termes d’acuité visuelle et de vision des couleurs, se traduisent également par des modifications de la réactivité de la pupille, dont l’activité est dépendante de l’intégrité des circuits rétiniens et du nerf optique.

Depuis les années 80, les mouvements pupillaires à grande échelle sont utilisés en pratique de routine dans le domaine de la neurologie clinique. Cette pratique ne nécessite pas d'appareil de mesure spécifique et il est rapide et facile pour un œil entraîné d'observer la présence d'anomalie des réflexes pupillomoteurs qui sont des témoins d'atteintes au niveau du système nerveux central et périphérique. L'observation de la pupille à l'œil nu peut également permettre de comprendre si le problème se situe au niveau de la voie sympathique (constriction chronique de la pupille, absence de dilatation) ou au niveau de la voie parasympathique (dilatation chronique ou absence de constriction).

Ces tests sont simples à mettre en œuvre, mais à l'heure actuelle, ils conduisent à des données plus qualitatives que quantitatives, entre autre du fait de l'absence d'outils technologiques et de méthodes d'analyses du signal appropriées. Le développement des techniques d'oculométrie (Eye-tracking), la baisse de leur coût et la plus grande simplicité de leur mise en œuvre, ouvrent des perspectives nouvelles pour l'étude des dynamiques pupillaires et de leur examen en routine clinique pour la détection, le diagnostic et le suivi de pathologies oculaires et neurologiques.

Les tests pupillaires qui seront utilisés dans cette étude visent à améliorer, raffiner et à standardiser les examens de l'activité pupillaire, avec en perspective, la diffusion de ces tests auprès des professionnels de la santé oculaire.

L'étude décrite ici vise à évaluer l'intérêt de ces tests novateurs, non-invasifs et rapides, pour la mesure de la dynamique pupillaire chez des patients atteints de rétinite pigmentaire, de neuropathie optique héréditaire de Leber et de la maladie de Stargardt, et à évaluer la pertinence, la spécificité, la sensibilité et la reproductibilité de ces mesures comme marqueurs de ces pathologies.

## **I.2 Pathologies PupDyn dans la littérature**

La littérature scientifique est riche d'articles indiquant que les dynamiques pupillaires sont affectées dans de nombreuses pathologies oculaires. Si la découverte relativement récente de la mélanopsine (Hattar et al., 2002,2003) et des ipRGC (intrinsically photosensitive retinal ganglion cells) a entraîné un fort regain d'intérêt pour l'étude des activités pupillaires, il faut cependant noter que chacune de ces études est le plus souvent conduite sur une pathologie spécifique, et qu'il n'existe pas, à notre connaissance, d'étude comparative des activités

pupillaires entre pathologies, ce qui limite leur portée et la possibilité de développer des outils cliniques fiables pour des examens de routine.

Les pathologies que nous avons décidé d'étudier sont des pathologies peu courantes, mais du fait de leur origine génétique, ne disposent pas encore de traitement (non expérimental) à l'inverse par exemple du glaucome dont le traitement est connu pour avoir un effet secondaire sur l'activité pupillaire (exemple : myosis pupillaire sous pilocarpine) (Hua, Kawasaki & Pokala, 2012 ; Lin, Fang & Du, 2018). De plus, elles touchent des individus relativement jeunes ayant donc moins de chance d'être atteints d'autres pathologies systémiques souvent liées à l'âge comme le diabète ou l'hypertension qui ont un effet sur la physiologie de l'œil et donc potentiellement sur les réponses pupillaires (Wong & Michell, 2007 ; Tarr et al, 2013 ; Lutty, 2013).

Nous passons en revue les publications qui nous semblent les plus significatives, pour chacune des pathologies choisies dans notre étude.

## **I.2.A Rétinite pigmentaire (RP)**

La rétinite pigmentaire (RP) est une maladie génétique dégénérative de l'œil qui se caractérise par une perte progressive et graduelle de la vision évoluant généralement vers la cécité. La perte de la vision résulte du dysfonctionnement de l'épithélium et de la perte progressive des photorécepteurs. Une dépigmentation de l'épithélium pigmentaire et des amas de pigments (rétinoblastes) sont visibles en rétine périphérique au fond d'œil. Dans 90 à 95% des cas, les bâtonnets sont atteints de façon prédominante, entraînant une diminution de la vision en conditions scotopique et mésopique et des scotomes dans le CV périphérique aboutissant à une vision tubulaire. La dégénérescence des cônes suit la disparition massive des bâtonnets, ce qui aboutit souvent à une perte totale de la vision. Les cas plus avancés présentent une photophobie. La rétinite pigmentaire étant une pathologie génétique, les atteintes sont binoculaires (Pagon, 1988 ; Phelan & Bok, 2000 ; Hartong et al, 2006 ; Ferrari et al, 2011). Une anomalie de la vision des couleurs peut être observée lors de l'apparition de la dégénérescence des cônes (Young & Fishman, 1980).

Nous signalons ici quelques articles sur les réponses pupillaires et la vision des couleurs chez des patients atteints de rétinite pigmentaire.

Très tôt il a été montré que les patients atteints de rétinite pigmentaire présentent une baisse de sensibilité rétinienne liée à la perte des bâtonnets et que cela influence l'activité pupillaire en diminuant sa sensibilité à la lumière. Ainsi une intensité lumineuse plus importante que



chez les sujets sains est nécessaire pour éliciter une réponse pupillaire chez ces patients (Birch & Birch, 1987).

Kardon et al. (2011) démontrent que la réponse pupillaire à des stimuli chromatiques fournit un outil, nouveau et non-invasif, de suivi des atteintes de la rétine, particulièrement avec des patients RP présentant des ERG (électrorétinogrammes) non-enregistrables.

Un travail récent (Richter et al. 2017) indique que les réponses pupillaires à des stimuli bleus et rouges pondérés pour favoriser les cônes ou les bâtonnets sont réduites chez ces patients, mais enregistrables, contrairement aux ERG. Une constriction post illumination atypique est également observée.

Skorkovská et collaborateurs (2009) comparent la mesure du CV par pupillométrie et les pertes visuelles fonctionnelles chez des patients RP et montrent que cette méthode donne des résultats comparables aux tests d'exploration de champ visuel classique.

## **I.2.B Neuropathie optique héréditaire de Leber (NOHL)**

Cette maladie dont la prévalence est de 1 pour 15 000 à 50 000 débute en général chez l'adulte jeune, l'âge moyen de survenue se situant entre 18 et 35 ans. Cette neuropathie optique résulte de mutations de l'ADN mitochondrial maternel (donc transmission maternelle) qui affectent les cellules ganglionnaires de l'œil. La mort des cellules ganglionnaires entraîne la dégénérescence du nerf optique (Wallace et al, 1988).

La NOH de Leber commence par une perte de vision centrale avec l'apparition de scotome papillo-maculaire, l'acuité visuelle chute jusqu'à 1/20 de façon brutale ou progressive (jusqu'à 2ans). L'atteinte est toujours bilatérale mais un délai est observé dans 75% des cas entre les deux yeux allant de quelques jours à plusieurs mois (2 mois en moyenne). Une amélioration spontanée peut être observée dans certaines mutations (Man, Turnbull & Chinnery, 2002).

L'examen du fond d'œil met souvent en évidence un pseudo-œdème du disque et une hyperémie, une dilatation des artérioles, une tortuosité vasculaire, et des télangiectasies péri-papillaires.

Bien que la diminution de l'acuité visuelle soit habituellement la seule manifestation, des anomalies cardiaques, neurologiques ou squelettiques ont été rapportées. Une atrophie du nerf optique apparait dans les stades avancés.

Il n'existe actuellement aucun traitement pour stopper son évolution ou réparer les tissus endommagés.

Le réflexe pupillaire à la lumière a été étudié par Moura et al en 2013 chez des patients atteints de NOHL dans des stades avancés avec des pertes de vision sévères (acuité visuelle maximum de 1/20), et ils ont trouvé que le PLR (Pupil Light Reflex) est relativement préservé même au stade avancé de la neuropathie, ce qui est en accord avec de précédentes études (Wakakura & Yokoe, 1995 ; Bremner et al, 1999), montrant que de façon générale le déficit visuel excède le déficit pupillaire, même si une diminution de l'amplitude du PLR est tout de même observée chez ces patients.

Kawasaki, Sander et Milea en 2010 ont trouvé une réponse pupillaire plus importante lors d'une stimulation dans le bleu que lors d'une stimulation dans le rouge chez des patients atteints de NOHL, et ils expliquent que cela pourrait être dû à une épargne relative des ipRGC potentiellement plus résistantes que les RGC « visuelles » que l'on a retrouvé plus affectées lors de l'examen post-mortem de tissus rétiniens de patients atteints de NOHL (Kawasaki, Sander & Milea, 2010). Cette hypothèse a été confirmée la même année lors d'une étude portant sur la résistance des ipRGC à la neurodégénérescence dans les neuropathies optiques mitochondriales, comme la NOHL (La Morgia et al, 2010). Cela pourrait également expliquer la dissociation qui existe entre l'atteinte visuelle et l'atteinte pupillaire chez ces patients. Cette hypothèse reste encore fragile, puisqu'en effet, une étude de 1998 avait montré qu'un défaut pupillaire relatif afférent est observable chez les patients atteints de névrite optique héréditaire de Leber présentant une perte visuelle monoculaire, ce qui exclut la dissociation totale des fonctions visuelle et pupillaire dans cette neuropathie (Jacobson et al, 1998).

### **I.2.C Maladie de Stargardt (SD)**

La maladie de Stargardt résulte de la mutation d'un gène entraînant la dénaturation et la diminution de l'activité d'une protéine responsable du passage à travers la membrane cellulaire d'un dérivé de la vitamine A. Cette dystrophie maculaire héréditaire qui est la plus fréquente chez l'enfant, se manifeste par l'atteinte des cônes de la rétine. Cette maladie existe sous deux formes : une forme infantile plus répandue et une forme tardive. La forme infantile a une prévalence de 1 pour 20 000 à 30 000, elle se manifeste chez l'enfant de 6 à 15 ans.

Le premier symptôme de cette atteinte est une anomalie de la vision des couleurs au niveau de l'axe rouge-vert. La perte des cônes entraîne par la suite des scotomes en vision centrale causant une chute de l'acuité visuelle de façon progressive et bilatérale tandis que le CV

périphérique reste intact. L'acuité visuelle diminue jusqu'à des valeurs de 1/10 à 1/20 et l'altération de la vision des couleurs est alors forte sur tous les axes (Rotenstreich et al, 2003 ; Vandenbroucke et al, 2015).

Des lésions maculaires et des tâches jaunâtres (dépôts de lipofushine) sont observables au niveau du fond d'œil. Lors de l'examen du fond d'œil à l'angiographie fluorescéinique, on peut observer le signe du « silence choroïdien » (les vaisseaux choroïdiens habituellement visibles lors de cet examen n'apparaissent pas à cause d'un retard d'injection de la choroïde par la fluorescéine) sans anomalie des vaisseaux rétiniens (Gomes et al, 2009).

Il n'existe actuellement aucun traitement pour stopper son évolution ou réparer les tissus endommagés.

Peu d'études ont jusque-là été conduites sur les aspects oculomoteurs et pupillométriques chez des patients atteints de la maladie de Stargardt. Fichman et al. (1991) ont montré une prolongation sélective dans la phase tardive du recouvrement des bâtonnets lors de l'adaptation à l'obscurité chez ces patients ; Price et al en 1985 ont montrés que, contrairement à ce qui est visible dans certaines achromatopsies congénitales, ces patients ne présentent pas de constriction pupillaire transitoire à l'obscurité. Une étude de 2005 (Schmid et al, 2005) compare la mesure du CV par pupillométrie aux méthodes classiques chez différents type de patients présentant des atteintes du CV. Parmi leurs sujets, un est atteint de la maladie de Stargardt et ses résultats montrent une bonne correspondance entre son CV automatisé et celui effectué par pupillométrie. Ses réflexes pupillaires à la lumière sont diminués voir absents lors de la stimulation dans les zones rétiniennes atteintes. Sur le plan oculomoteur, Reinhard et al. (2007) ont étudié la qualité de la fixation chez des patients Stargardt et ont trouvé chez ces patients une fixation excentrique et une fixation plus instable que les sujets sains.

## **I.3 Choix des tests de pupillométrie**

### **I.3.A Dynamiques pupillaires**

La mesure du diamètre pupillaire en réponse à une stimulation lumineuse, simple à mesurer, peut fournir des données quantitatives et objectives sur l'intégrité fonctionnelle des circuits qui contrôlent la constriction pupillaire. De nombreuses études réalisées dans les années 1950-70 avec des patients ayant des atteintes de la rétine (Glaucome) ou du nerf optique (Névrite Optique) ont évalué les perturbations des réponses pupillaires à un flash lumineux. Les caractéristiques de ce réflexe pupillaire (Pupil Light Reflex, ou PLR en anglais), telles que la

vitesse de constriction, la latence pour atteindre un diamètre minimal ou la dynamique d'échappement (la redilatation de la pupille) lors d'une stimulation prolongée, ont été analysées et ont permis d'établir des corrélations entre atteintes de la rétine ou du nerf optique et les valeurs de ces différents paramètres (revue dans Bremner, 2004).

D'autres études ont utilisé d'autres méthodes pour analyser les réponses pupillaires visant à détecter ou évaluer différentes pathologies. Le test des déficits relatifs des afférences pupillaires (Relative afferent pupil defects ou RAPD) consiste à stimuler successivement chaque rétine avec une source lumineuse et à vérifier que la réponse des pupilles est bien égale entre les deux yeux. La détection d'une pseudo dilatation résultant d'une asymétrie des réponses pupillaires est un indicateur fiable de dysfonctionnements, bien que ce test requiert une bonne expérience clinique.

La mesure de la période du cycle de la pupille (Pupil cycle time ou PCT) est un test visant à induire une oscillation du diamètre pupillaire en plaçant une lampe à fente au bord de l'iris, de façon à générer un cycle constriction/dilatation dont la période est un indicateur de dysfonctionnement, de la rétine ou des circuits de la pupille qui entraînent un allongement de la période du cycle. Décrit par Stern (1944), le PCT a été utilisé avec des patients atteints de névrite optique (Miller & Thompson, 1978b). Ce test a permis de démontrer son intérêt pour le diagnostic et le suivi de cette pathologie. Tel qu'il est utilisé, ce test ne permet pas de moduler la position, la taille ou la couleur du stimulus, ce qui limite sa portée et sa généralité. Notre étude (Lamirel et al, 2018) décrite plus loin, a permis de résoudre en partie certaines de ces problématiques.

Malgré certaines limitations, les essais cliniques démontrent qu'en effet l'activité pupillaire est modifiée dans de nombreuses pathologies oculaires. Ces études concernent des patients atteints de Glaucome, de névrite optique, de rétinite pigmentaire ou de DMLA (Schmid et al, 2005 ; Maddess et al, 2009 ; Sabeti, Maddess & James, 2010 ; Sabeti et al, 2011 ; Carle et al, 2011 ; Sabeti et al, 2013 ; Sabeti et al, 2014, Lamirel et al, 2018).

### **I.3.B Vision des couleurs**

La perception des couleurs, assurée, au moins à l'étape rétinienne, par les réponses des cônes en situation photopique, sont affectées dans plusieurs pathologies oculaires. Tester les réponses pupillaires avec des stimuli colorés est donc une source potentielle de diagnostic et de suivi de ces pathologies.

L'étude décrite ci-dessous vise à tester de nouvelles méthodes de mesures de l'activité pupillaire associée à des méthodes quantitatives d'analyse du signal pour identifier des anomalies de la réactivité pupillaires chez des patients atteints de RP, de NOHL, ou de la maladie de Stargardt. Ces tests et méthodes d'analyses, testés en laboratoire et validés dans une première étude préliminaire avec des patients atteints de névrite optique (Lamirel & al., 2018), sont étendus à d'autres pathologies et comparés aux méthodes classiques utilisées en clinique.

## II Matériel et méthode

### II.1 Les Participants

#### II.1.A Description de la population d'étude

La population étudiée comprend 51 participants répartis comme suit :

- 14 sujets sains, dits sujets contrôles âgés de 24 à 58 ans ( $37 \pm 9$  ans ; 6 femmes et 8 hommes).
- 14 patients atteints de la maladie de Stargardt (SD) âgés de 21 à 55 ans ( $38 \pm 9$  ans ; 4 femmes et 10 hommes).
- 14 patients atteints de rétinopathie pigmentaire (RP) âgés de 24 à 58 ans ( $41 \pm 11$  ans ; 6 femmes et 8 hommes).
- 9 patients atteints de Neuropathie Optique Héréditaire de Leber (NOHL) âgés de 20 à 42 ans ( $33 \pm 6$  ans ; 4 femmes et 5 hommes).

Les patients ont été présélectionnés sur dossiers au centre d'investigation clinique du CHNO des 15/20, en fonction du bilan visuel réalisé le jour de leur venue. Les sujets contrôles ont été recrutés grâce à la base de données de l'Institut de la Vision chez Streetlab.

55 participants ont été inclus dans l'étude, 4 ont quittés prématurément l'étude pour des raisons d'emploi du temps ou de motivation.

##### II.1.A.a Critères d'inclusion des participants

Les participants sont âgés entre 18 et 60 ans, et possèdent une compréhension de la langue française afin de s'assurer d'une parfaite compréhension des consignes lors des évaluations et des documents relatifs à leur engagement dans l'étude.

- Patients déficients visuels :

Les patients atteints de déficience visuelle présentent l'une des trois pathologies suivantes :

- Maladie de Stargardt
- Rétinopathie pigmentaire
- Neuropathie optique de Leber

- Volontaires sains :

Pour les sujets sains (groupe contrôles), l'acuité visuelle des deux yeux corrigés (lunettes) est supérieure ou égale 8/10ème (soit  $\leq 0.1$  logMAR) et le CV est normal.

- Correction optique :

Les participants (patients et volontaires sains) ne portent pas de lentilles de contact (qui peuvent gêner l'enregistrement de la pupille et des mouvements oculaires en augmentant la fréquence des clignements). Des participants portant des lunettes correctrices n'empêchant pas l'enregistrement de l'activité oculomotrice (de préférence avec des verres correcteurs traités antireflets) ont été inclus.

### **II.1.B Critères de non-inclusion des participants**

N'ont pas été inclus dans l'étude :

- Les femmes enceintes ou allaitantes
- Les sujets participant à un autre essai clinique pouvant interférer avec la présente recherche.
- Les sujets présentant une incapacité à donner personnellement leur consentement
- Les sujets présentant des maladies dégénératives ou toute autre maladie qui pourraient interférer avec les évaluations prévues au cours de cette étude.
- Les sujets suivant un traitement médicamenteux pouvant entraîner des troubles visuels, des modifications de la cinétique pupillaire ou des troubles cognitifs.
- Les patients non affiliés à l'assurance maladie.

### **II.1.C Critères d'exclusion secondaire (à l'issue de la visite d'inclusion)**

Ne seront pas inclus dans l'étude les patients déficients visuels et les sujets contrôles :

Afin de s'assurer de la qualité des données enregistrées et utilisées dans l'étude, nous avons mis en place des critères d'exclusion secondaire à l'issue de la visite d'inclusion. Ainsi ont été exclus les volontaires :

- pour lesquels la calibration n'était pas réalisable
- ayant des difficultés à maintenir une fixation visuelle.
- portant des verres correcteurs rendant l'enregistrement de l'activité oculomotrice impossible avec un oculomètre à caméra infra-rouge.

En cas d'exclusion secondaire à l'issue de la visite d'inclusion, des patients supplémentaires pouvaient être inclus, pour maintenir l'effectif prévu de patients participant effectivement à la recherche.

## II.2 Déroulement de l'étude

Pour les patients, la visite d'inclusion avait lieu à l'hôpital des Quinze-Vingts au cours de leur parcours de santé habituel. Pour les sujets contrôles, elle avait lieu à l'Institut de la Vision pour le bilan visuel puis au centre d'investigation clinique de l'hôpital des Quinze-Vingts pour la consultation avec un ophtalmologiste.

La séance de pupillométrie dynamique d'une durée de 2h se déroulait, pour les patients et les contrôles au Streetlab (centre d'expérimentation) qui se trouve dans les locaux de l'Institut de la Vision.

Un mois après la séance de pupillométrie dynamique, les participants étaient recontactés par téléphone afin de signaler d'éventuels effets indésirables liés à l'étude. La date de sortie d'étude correspond à la date de cet appel téléphonique.

Les participants ont été indemnisés pour cette étude à hauteur de 40 euros pour la séance de pupillométrie. Les volontaires contrôles ont également été indemnisés pour la visite d'inclusion d'un montant de 40 euros.

## II.3 Les données ophtalmologiques

Lors de la visite d'inclusion, un examen ophtalmologique complet était effectué, et afin de mettre en relation les comportements pupillaires et la profondeur de l'atteinte, les données suivantes ont été anonymisées et récupérées par l'expérimentateur pour analyses :

- Données générales :
  - Numéro d'inclusion
  - Date d'inclusion
  - Age
  - Sexe
  - Type de pathologie
  - Réfraction OD / OG
  - Acuité visuelle LogMAR OD / OG / Bino
  - Pelli-Robson (logCS), charte de sensibilité au contraste
- Vision des couleurs :
  - Présence et axe d'anomalie de vision des couleurs
  - 15 Hue saturé OD / OG Bino



○ 15 Hue désaturé OD / OG / Bino

Dans le test du 15 Hue saturé de Farnsworth, le patient doit ordonner 15 pions colorés de telle façon que les couleurs varient le moins possible de proche en proche. Le 15 Hue est une variante du 100 Hue utilisant 100 pions avec des variances de saturation et de luminosité plus faibles d'un pion à l'autre. Le 15 Hue désaturé de Lanthony est une variante du 15 Hue de Farnsworth avec des niveaux et des variations de saturations plus faibles, avec des pions plus proches entre eux et plus proche du gris. Il s'agit d'une mesure plus fine de la vision des couleurs.

Lorsque le patient inverse des pions, c'est l'axe de cette inversion qui va permettre de déterminer le type d'anomalie de la vision des couleurs à l'aide du graphique rempli par l'expérimentateur présenté en Figure 33.

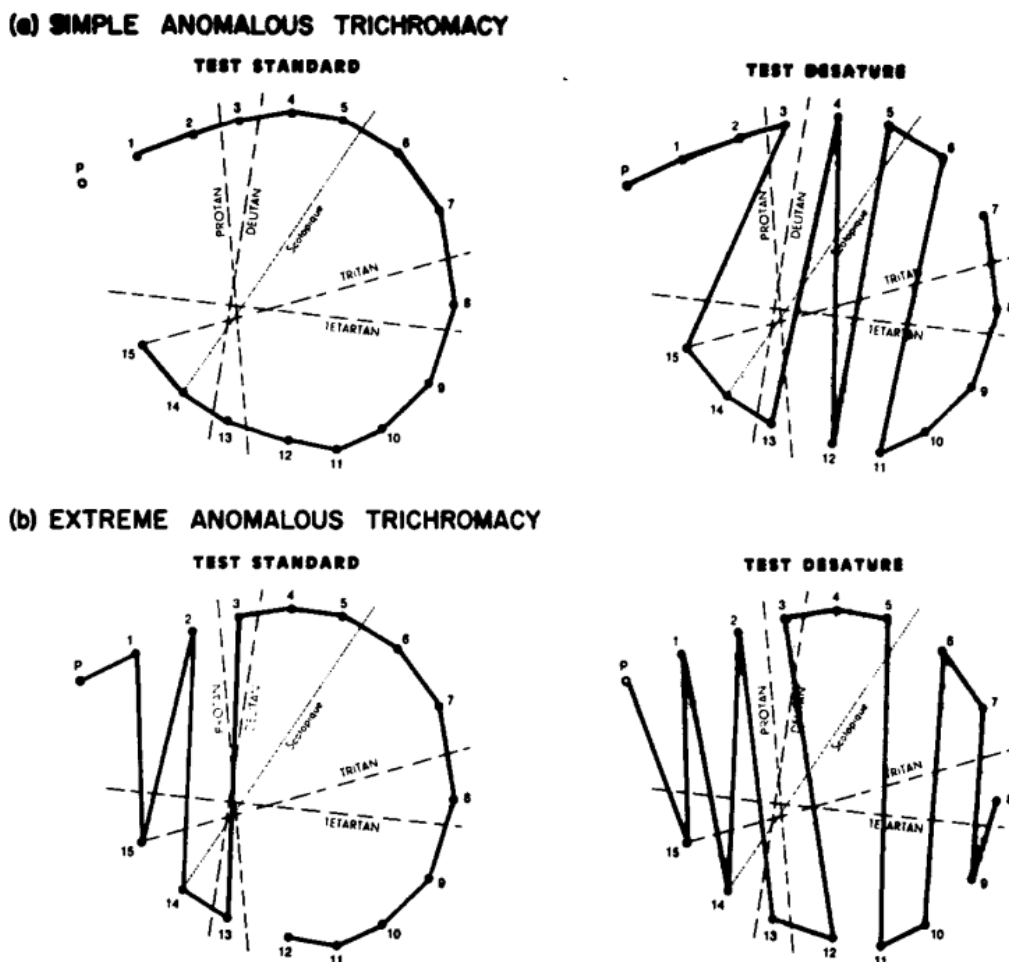


Figure 33 : Test du 15 Hue. Figure Issue de Lanthony, 1978. (a) Sujet présentant une anomalie légère de la vision des couleurs : le test standard (saturé) est normal; le test désaturé montre un pattern typique de deutéranomalie (anomalie de la vision de la couleur verte). (b) Sujet présentant une anomalie extrême de la vision des couleurs : le test standard montre quelques erreurs majeures ; le test désaturé montre des erreurs majeures typiques d'une sujet dichromate qui ne voit que 2 couleurs, contrairement à un sujet sain qui en voit les couleurs, qui est dit trichromate.

- Rétinophotographie :
  - Présence d'anomalie OD / OG (excavations, vaisseaux sanguins, papille, aspect général, œdème, exsudats, microkystes, drusens, etc...)
  - Autres remarque du clinicien
- OCT maculaire et du nerf optique
  - Epaisseur de la rétine (en  $\mu\text{m}$ ) en 9 zones autour de la fovéa (1, 3, et 6 mm de diamètre)
  - Epaisseur de la rétine (en  $\mu\text{m}$ ) en 7 zones autour du nerf optique

L'OCT, la tomographie à cohérence optique est une technique d'imagerie médicale qui permet d'obtenir des images en profondeur (tridimensionnelles) d'un matériau diffusant la lumière grâce à une onde lumineuse. Cet outil présente une précision de l'ordre du micromètre (Fercher et al, 2003). Les données numériques récupérées dans notre étude sont celles présentées en Figure 34B.

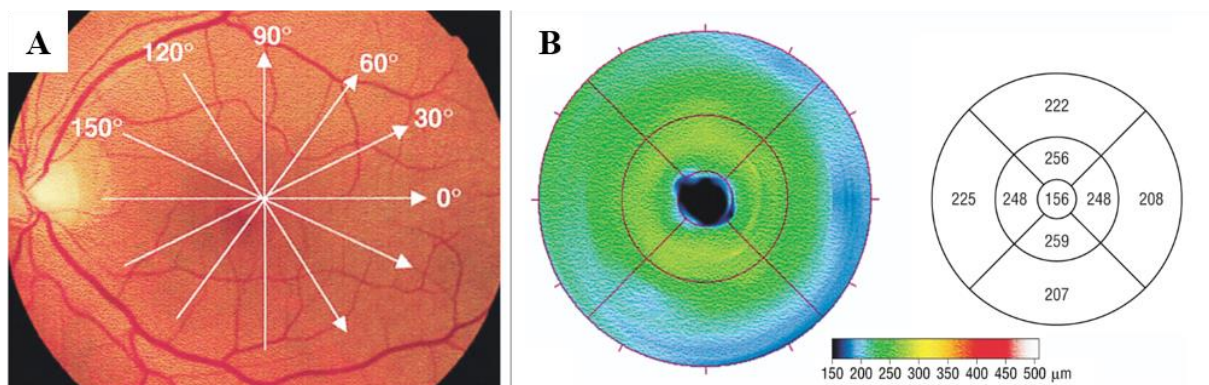


Figure 34 : Exemple de mesure à l'OCT. Figure issue de Massin et al, 2001. Cartographie maculaire de l'œil gauche d'un sujet sain. (A) Photographie du fond d'œil et rayon de 6 balayages de 6mm de long centré sur le point de fixation du patient (centré sur la fovéa sur la rétine). (B) L'épaisseur maculaire est affichée sous forme de carte en fausses couleurs (à gauche) (cf code couleur) ; et sous forme numérique (à droite) dans chacune des 9 zones d'étude.

- Champs visuels (voir Figure 35):
  - Isoptère V4 OD / OG
  - Isoptère V1 OD / OG
  - Isoptère III1 OD / OG
  - Isoptère III4 Bino

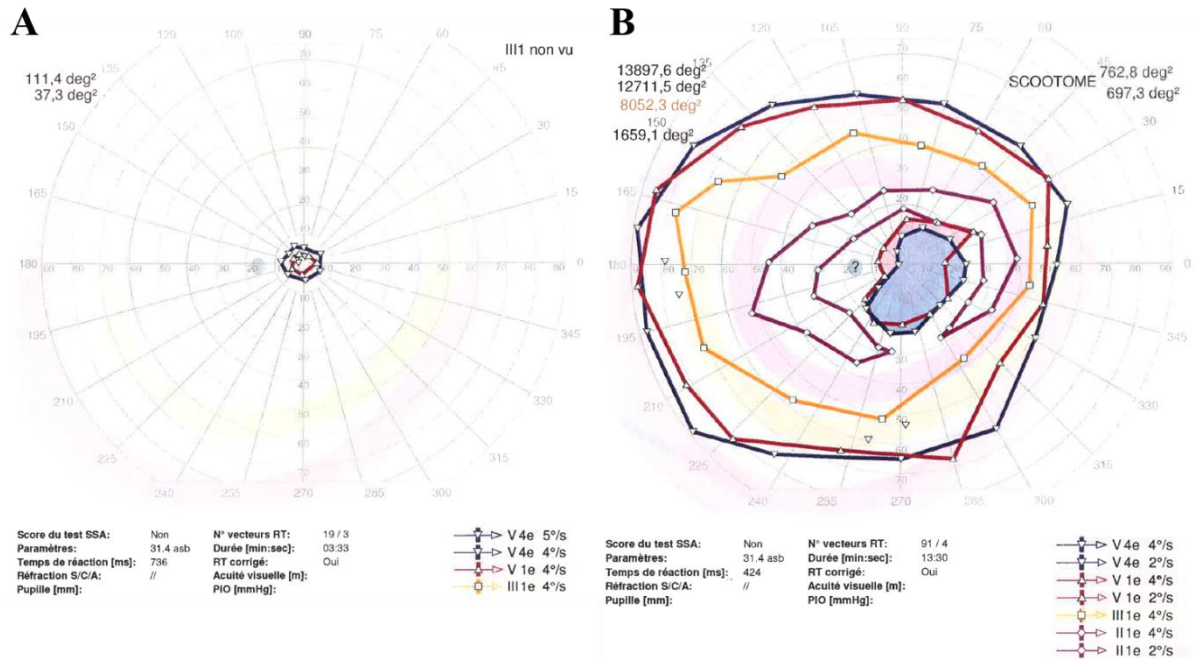


Figure 35 : Exemples de CV. Issus des documents sources de l'étude PupDyn. (A) CV de l'OG d'un sujet atteint de rétinite pigmentaire qui présente une vision tubulaire avec une très petite épargne centrale. En bleu l'isoptère V4 : la courbe bleue encercle l'épargne centrale, le sujet voit à l'intérieur de l'isoptère et ne voit pas à l'extérieur. En rouge l'isoptère V1 : à l'extérieur de la courbe rouge le sujet ne voit pas le point lumineux qui balaye le champ visuel. Entre l'isoptère bleu et l'isoptère rouge, le sujet présente une perte de sensibilité, il voit le gros point très lumineux utilisé pour l'isoptère V4 mais ne voit pas le point moins lumineux utilisé pour l'isoptère V1. (B) CV de l'OG d'un sujet atteint de maladie de Stargardt qui présente une zone importante de scotome au centre de son champ visuel. En bleu l'isoptère V4 présente un scotome absolu en central (zone bleue pleine), le sujet voit le gros point très lumineux utilisé pour mesurer l'isoptère V4 entre la courbe bleue extérieure et la zone bleue pleine au centre. En rouge, l'isoptère V1 utilisant un point de même taille que l'isoptère V4 mais moins lumineux. En jaune l'isoptère III1 plus petit mais avec la même luminosité que l'isoptère V1. En bordeaux l'isoptère III : le sujet ne voit que dans la zone encadrée. Le point d'interrogation indique la région où devrait se trouver la tâche de Mariotte ou tâche aveugle correspondant à la présence de la papille sur la rétine.

## II.4 La séance de pupillométrie

### II.4.A Matériel

Le système expérimental se compose des éléments suivants (schéma du dispositif en Figure 36) :

- Un oculomètre EyeLink 2 (EyeLink II ; SR Research, Ltd., Ottawa, Canada) composé de deux caméras infra-rouge supportées par une mentonnière, fixée sur une table devant laquelle les participants sont assis, qui enregistrent les positions de regard et la taille de la pupille à une fréquence d'échantillonnage de 500Hz.
- Un ordinateur servant de support au logiciel de l'oculomètre qui récupère les données oculométriques.
- Un écran de stimulation éclairé par un projecteur Titan 1080p 3D à 60Hz piloté par un ordinateur via le logiciel JEDA (créé par Jean Lorenceau).

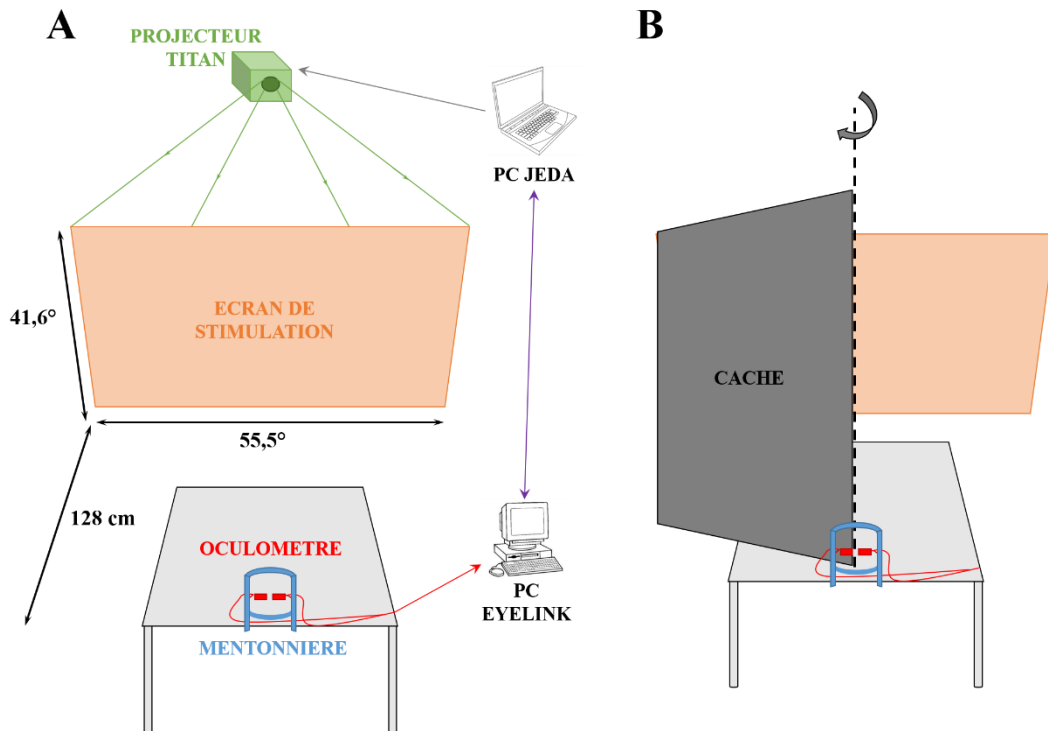


Figure 36 : (A) Schéma du dispositif utilisé lors de la séance de pupillométrie de l'étude PupDyn. (B) Un cache rotatif placé entre le sujet et l'écran de stimulation permet la stimulation en monoculaire tout en conservant un enregistrement binoculaire des données oculométriques. Ce panneau peut également être retiré afin d'effectuer des simulations binoculaires.

## II.4.B Protocole

La séance de pupillométrie dynamique débutait par l'installation du sujet, et l'adaptation de la mentonnière pour le meilleur confort du participant. Suite à une courte adaptation à l'obscurité d'environ 5min, pendant laquelle les consignes sur le déroulement de la séance étaient données, une calibration de l'oculomètre en 5 points de fixation été réalisée. La validation définitive de l'éligibilité du sujet dans l'étude se faisait en fonction de la réussite ou non de la calibration.

Les tests expérimentaux listés ci-dessous ainsi que les critères de mesure et les variables d'intérêt associées à chaque test sont présentés dans la suite de ce document.

- Les tests classiques de pupillométrie :
  - Le réflexe pupillaire à la lumière (PLR)
  - Le test du déficit pupillaire relatif afférent (RAPD)
- Le cycle endogène de la pupille (PCT)
- Le marquage fréquentiel de la pupille (PFT)

- La mesure objective de la vision des couleurs :
  - Le test d'isoluminance (présenté uniquement en Annexe Figure 81)
  - Le test de l'arc-en-ciel (Rainbow, présenté uniquement en Annexe Figure 82)

## II.5 Analyses

Les analyses de traitement du signal et les statistiques ont été réalisées offline avec des programmes personnalisés dédiés développés sous Matlab.

Un prétraitement des champs visuels a été réalisé avec le logiciel JEDA afin de mesurer le pourcentage de recouvrement entre les scotomes et isoptères et les différentes régions des stimuli utilisés.

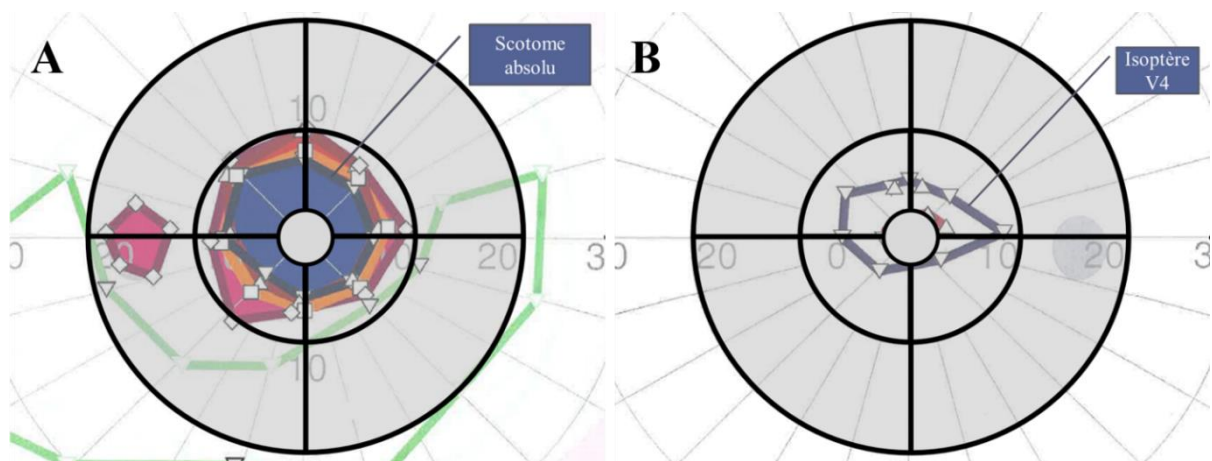


Figure 37 : Exemples de superpositions de champ visuel et de stimuli de PupDyn. Portions du CV couvert par l'écran, soit  $55.5^\circ$  de large sur  $41.6^\circ$  de haut au centre du CV. Les courbes colorées représentent les différents isoptères mesurés, les régions colorées indiquent des scotomes. Les secteurs gris représentent l'un des stimuli utilisé dans l'étude PupDyn (voir partie sur le marquage fréquentiel de la pupille). (A) CV de l'œil gauche d'un patient Stargardt présentant un scotome important en vision centrale d'environ  $15^\circ$  de diamètre ; (B) CV de l'œil droit d'un patient RP présentant une vision tubulaire avancée avec une épargne centrale d'environ  $15^\circ$  sur  $10^\circ$ .

Le logiciel JEDA a permis l'entrée des points des champs visuels ainsi que les calculs de convolution permettant d'obtenir les proportions de chaque secteur de stimulus recouvert par un isoptère ou un scotome.

## **III Les tests « classiques » de pupillométrie**

### **III.1 Le réflexe pupillaire à la lumière (PLR)**

#### **III.1.A Description**

Le PLR (Pupil Light Reflex) est la réponse pupillaire à un flash lumineux. Il a été largement étudié depuis des dizaines d'années et est actuellement beaucoup utilisé dans l'exploration du CV par pupillographie qui est l'étude du CV par la mesure objective de la réponse pupillaire à des flashes lumineux locaux dans différentes régions du CV.

Ce test fait partie d'un set de tests pupillaires réalisé en routine d'ophtalmologie et plus particulièrement en neuro-ophtalmologie qui consiste à faire une vérification des réflexes photomoteurs direct, consensuel et alternant, réalisée à l'aide d'un stylo lampe. La vérification du réflexe photomoteur direct teste la réactivité de la pupille à un éclairage direct. La vérification du réflexe photomoteur consensuel teste la réponse de la pupille à l'éclairement de l'autre œil et vérifie ainsi la consensualité des réponses pupillaires des deux yeux.

#### **III.1.B Protocole de mesure pour PupDyn et méthode d'analyses**

La mesure du PLR est effectuée au cours de l'étude PupDyn chez les patients et les sujets contrôles. La stimulation est monoculaire et l'enregistrement binoculaire, ce qui permet de mesurer à la fois le réflexe pupillaire direct et la consensualité des réponses pupillaires.

Dans une précédente étude (décrite plus en détails dans la suite de ce document) portant sur l'activité pupillaire comme nouvelle méthode de dépistage et de suivi de pathologie oculaire chez des patients atteints de névrite optique (Lamirel et al, 2018), nous avons mis en évidence une tendance à une meilleure sensibilité et une meilleure spécificité à la discrimination des patients et des contrôles (sains) lors de l'utilisation d'une stimulation lumineuse verte plutôt que grise. L'utilisation d'un écran de stimulation et d'un eyetracker au lieu d'un stylo lampe, en plus d'une précision incomparable, permet de facilement moduler la chromaticité de la stimulation. Nous avons donc pris le parti de tester ces deux couleurs dans la plupart des tests réalisés au cours de cette étude afin de vérifier cette découverte et son étendue à d'autres pathologies.

La Figure 38 illustre le design et le déroulement temporel de la mesure du PLR. L'enregistrement du PLR gris et du PLR vert en deux essais séparés d'une pause de 3 secondes pendant lequel était présenté un écran noir. Après cet intervalle inter-stimuli (ISI), les participants avaient pour instructions de fixer de la façon la plus stable possible le point de fixation central (un

cercle de  $0.8^\circ$ , environ  $378 \text{ cd/m}^2$ ) présenté sur un fond noir ( $0.005 \text{ cd/m}^2$ ). Des flashes de  $100 \text{ cd/m}^2$  d'une durée de  $0.1 \text{ sec}$  apparaissaient toutes les  $3 \text{ sec}$ .

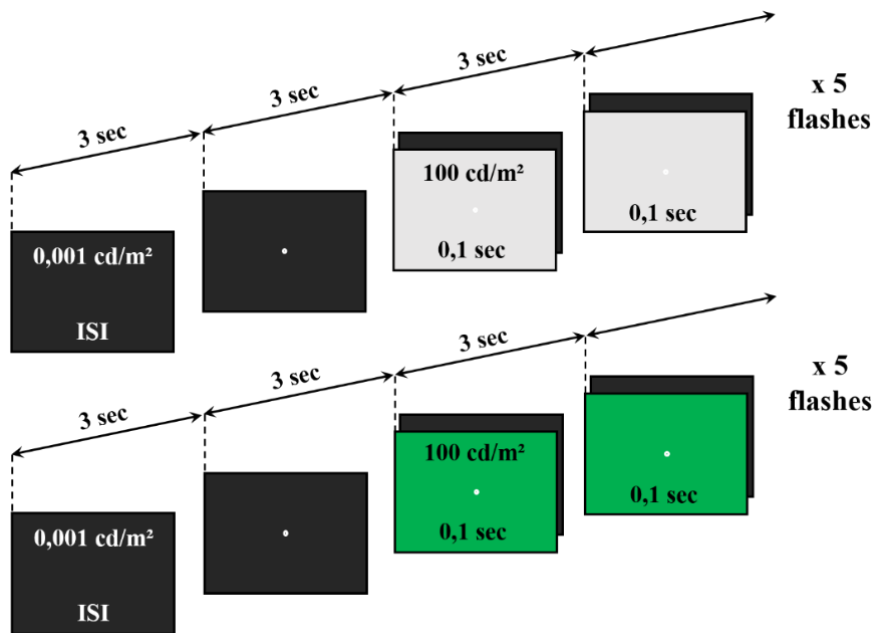


Figure 38: Mesure du PLR : stimuli projetés sur l'écran de stimulation lors de la mesure du PLR dans l'étude PupDyn.

Les enregistrements étaient constitués de 5 flashes gris et 5 flashes verts. La mesure était effectuée une fois sur chaque œil (stimulation monoculaire et enregistrement binoculaire).

Pour tous les tests réalisés dans l'étude PupDyn, avant l'analyse, le signal pupillaire était nettoyé et traité de la façon suivante :

- Élimination des clignements qui sont remplacés par une interpolation polynômiale du  $3^{\text{ème}}$  degré.
- Normalisation de la taille de la pupille en utilisant le maximum et le minimum de la trace de l'essai, ISI compris.
- Filtrage du signal avec un filtre passe-bas à  $10 \text{ Hz}$ .



### III.1.C Résultats chez les populations PupDyn

L'amplitude de la constriction du PLR montre des différences significatives entre les différentes populations, présentées sur la Figure 39.

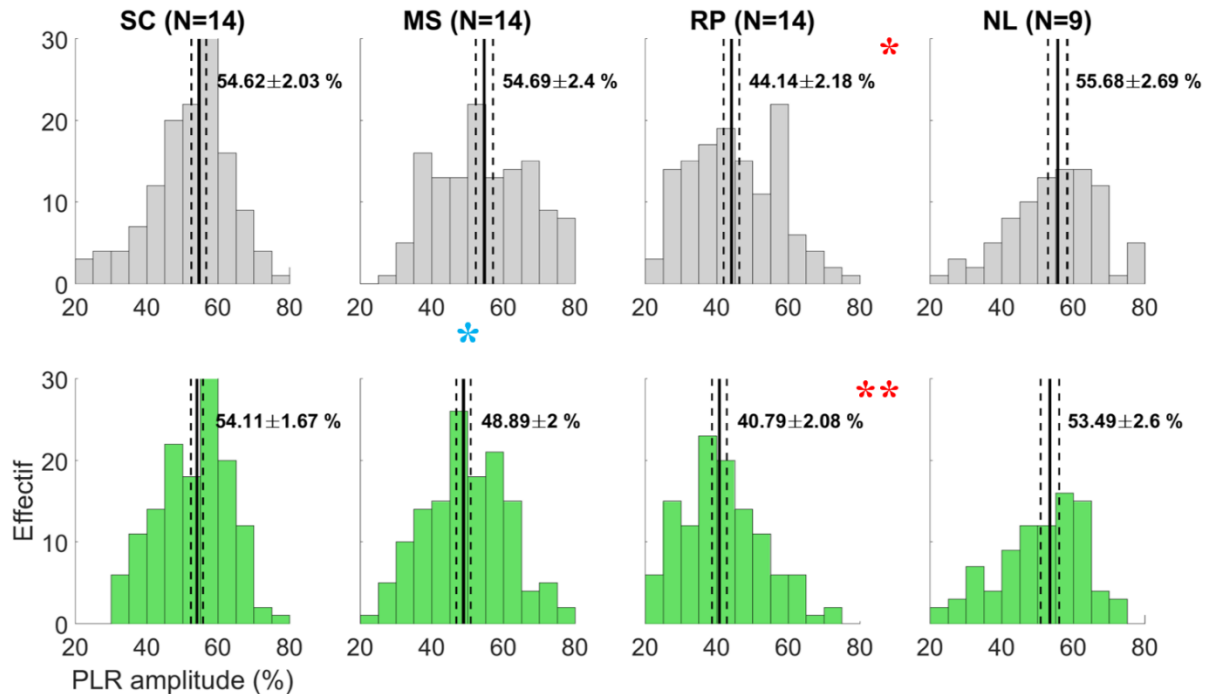


Figure 39 : Distributions de l'amplitude de la constriction du PLR (en pourcentage de la taille max de la pupille) mesurée avec des flashes blancs (histogrammes gris) et des flashes verts (histogrammes verts) chez les populations PupDyn : les sujets contrôles (SC), les sujets atteints de la maladie de Stargardt (MS), les patients souffrants de rétinopathie pigmentaire (RP) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (NL). Les droites noires verticales pleines et en pointillés représentent la médiane et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (1 enregistrement x 5 flashes x 2 yeux x N sujets). Les astérisques indiquent la significativité des  $d$  de Cohen calculés : \* :  $0.5 < d < 1$  ; \*\* :  $d > 1$  ; les astérisques rouges pour la comparaison à la population contrôle et les astérisques bleus pour la comparaison entre les deux couleurs au sein de la même population.

Il est à noter que les patients RP présentent une amplitude de constriction pupillaire plus faible d'environ 10% par rapport à la population contrôle, pour la stimulation grise ( $d$  de Cohen et son IC : pour le gris : 0.796 [0.248 ; 1.338] ; pour le vert : 1.27 [0.689 ; 1.841]). Une autre observation est que la constriction pupillaire induite par les flashes verts est d'une amplitude plus faible pour les trois populations de patients, en particulier pour les Stargardt chez qui cette différence est significative ( $d$  de Cohen et son IC : 0.602 [0.063 ; 1.135]).

Une autre variable du PLR présentant des différences entre les populations PupDyn est la latence du pic de constriction, soit le temps entre le début du flash et la fin de la constriction (Figure 40).



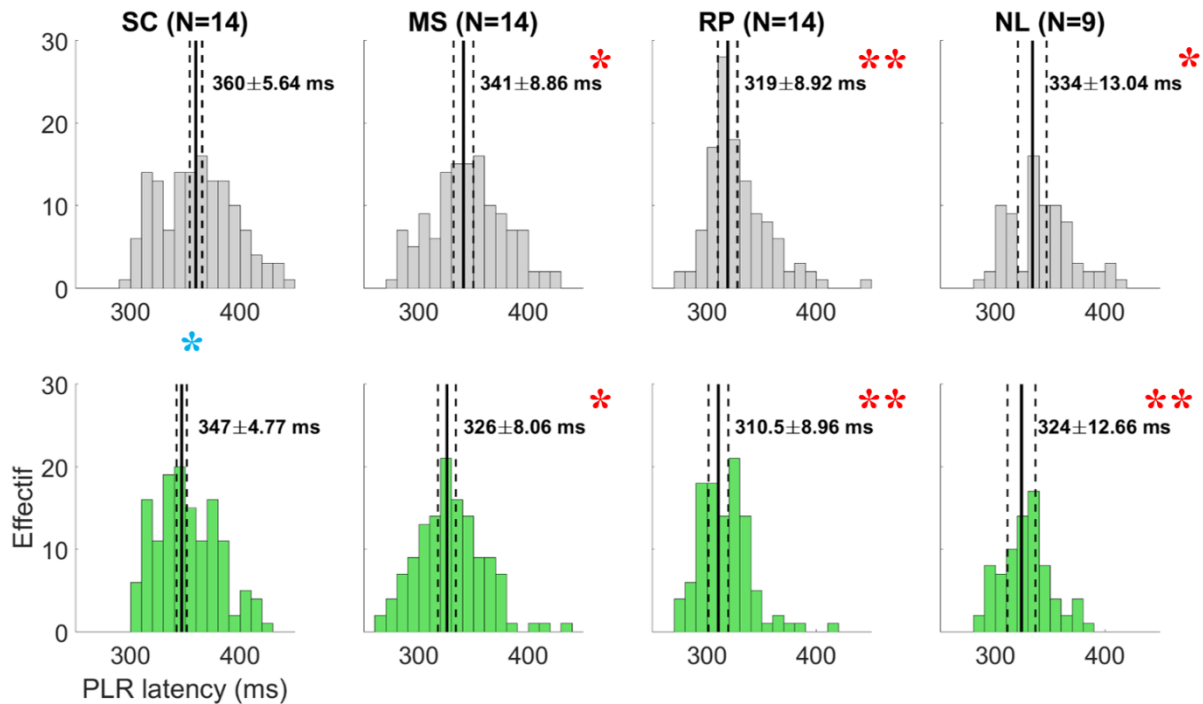


Figure 40 : Distributions de la latence du pic de constriction du PLR mesurée avec des flashes blancs (histogrammes gris) et des flashes verts (histogrammes verts) chez les populations PupDyn. Les droites noires verticales pleines et en pointillés représentent la médiane et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (1 enregistrement x 5 flashes x 2 yeux x N sujets). Les astérisques indiquent la significativité des  $d$  de Cohen calculés : \* :  $0.5 < d < 1$  ; \*\* :  $d > 1$  ; les astérisques rouges pour la comparaison à la population contrôle, aucune différence significative n'a été trouvée entre les couleurs de stimulus au sein d'une population.

Les sujets contrôles ont un pic de constriction qui arrive plus tardivement que ceux des trois populations de patients. On observe également que les patients RP présentent une latence nettement moins importante ( $d$  de Cohen et son IC : pour le gris : 1.129 [0.559 ; 1.690] ; pour le vert : 1.2 [0.625 ; 1.766]), ce qui est cohérent avec le fait que l'amplitude de leur constriction est plus faible. Par ailleurs il est à noter que la latence du pic de constriction du PLR est plus courte pour des flashes verts que pour des flashes blancs pour toutes les populations testées mais ces différences ne sont pas significatives.

Nous avons cherché à savoir si ces variables du PLR sont des indices fiables de discrimination des populations de patients. Pour ce faire, nous avons réalisé les courbes ROC (receiver operating characteristic, qui mesure la performance d'un classificateur binaire) pour chacune de ces deux variables en différenciant les trois populations de patients mais en confondant les deux couleurs de stimulus puisque ce paramètre n'influe pas significativement sur les variables du PLR (Figure 41).

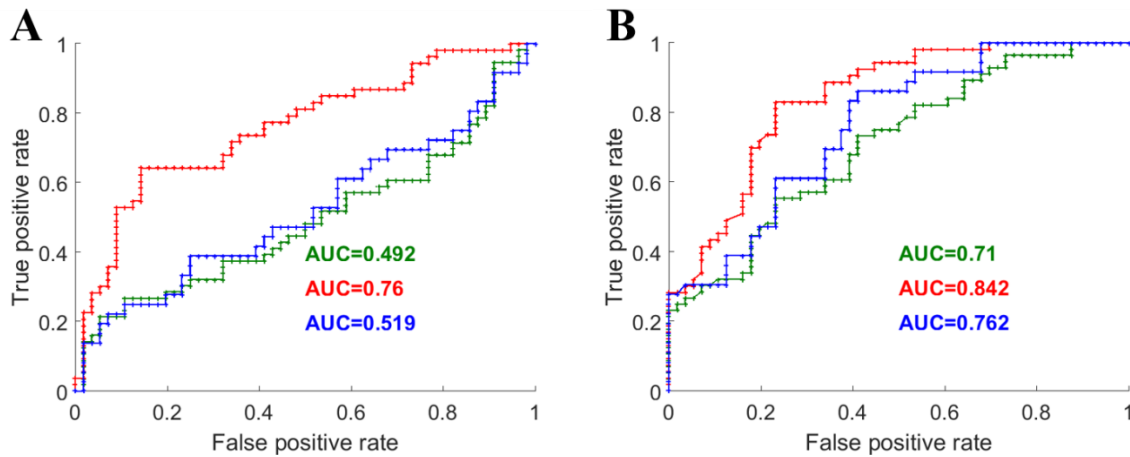


Figure 41 : Courbes ROC du PLR par population (les patients MS en vert, les patients RP en rouge et les patients NOHL en bleu). Idem que Figure précédente. (A) Probabilité de discrimination d'un patient du groupe contrôle en fonction de son amplitude moyenne de constriction lors de la mesure du PLR (couleurs et yeux séparés); (B) idem qu'en (A) avec la latence du pic de constriction pupillaire. L'AUC (area under the curve) indique l'aire sous la courbe pour chaque population. Attention, les effectifs des contrôles et des patients sont différents.

L'aire sous les courbes ROC utilisant l'amplitude de la constriction pupillaire mesurée lors du PLR indique une très mauvaise discrimination des patients MS pour qui la spécificité est nulle et NOHL pour qui la sensibilité est nulle et une discrimination moyenne pour les patients RP avec une aire sous la courbe de 0.76, une spécificité de 67.9% (38 des 58 des observations effectuées chez les contrôles sont correctement labélisées) et une sensibilité de 66.1% (37 de 56 observations effectuées chez les patients sont correctement labélisées) (Figure 41A). La latence présente une aire sous la courbe ROC plus importante que pour l'amplitude de la constriction, en particulier chez les patients RP (Figure 41B).

Chez les patients MS, l'aire sous la courbe ROC utilisant la latence du PLR est de 0.71 avec une spécificité de 66.1% (37 des 56 observations effectuées chez les contrôles sont correctement labélisées) et sensibilité de 58.9% (33 des 56 observations effectuées chez les contrôles sont correctement labélisées). La courbe ROC des patients atteints de RP présente une aire sous la courbe de 0.842 avec une spécificité de 76.8% (43/56 observations sur contrôles correctes) et une bonne sensibilité de 78.6% (44/56 observations sur patients correctes). Chez les patients atteints de NOHL, l'aire sous la courbe est de 0.762 et la courbe ROC présente une bonne spécificité de 82.1% (46/56 observations sur contrôles correctes) et une mauvaise sensibilité de 38.9% (seulement 14 des 36 observations effectuées chez les patients sont correctement labélisées).

### **III.1.D Discussion et conclusion**

La mesure du PLR avec un oculomètre permet de calculer précisément les dynamiques du réflexe photomoteur direct, ce qui est impossible avec la méthode classique au stylo lampe qui ne vérifie que sa présence. Les deux principales variables du PLR, son amplitude et sa latence ont été étudiées chez nos quatre populations PupDyn pour des stimuli blancs et des stimuli verts.

Nous n'avons pas observé de différence significative de comportement pupillaire entre ces deux conditions de chromaticité, à part pour l'amplitude du PLR chez les patients atteints de maladie de Stargardt qui présentent une amplitude de PLR médiane plus importante dans le gris avec une distribution plus étalée. Aucune différence significative d'amplitude de constriction du PLR n'a été trouvée entre les sujets sains et les patients MS et NOHL, chez qui cette mesure ne présente aucun intérêt dans l'établissement d'un indice de discrimination. Chez les RP, cette mesure est plus intéressante mais n'apporte pas un moyen fiable de les discriminer des sujets contrôles.

La latence semble fournir un meilleur indice de classification des patients, avec toujours de meilleurs résultats chez les patients RP. Cette mesure reste insuffisante pour discriminer les patients atteints de pathologies visuelles centrales des sujets contrôles.

La mesure d'un PLR localisé comme celui effectué dans les études d'exploration du CV par pupillométrie objective (Schmid et al, 2005 ; Maddess et al, 2009 ; Sabeti, Maddess & James, 2010 ; Sabeti et al, 2011 ; Carle et al, 2011 ; Sabeti et al, 2013 ; Sabeti et al, 2014) devrait donner de meilleurs résultats, mais il nécessite un temps de mesure important.

## **III.2 La mesure du déficit pupillaire afférent relatif (RAPD)**

### **III.2.A Description**

Le RAPD est un examen de routine en neuro-ophtalmologie où il peut être appelé réflexe photomoteur alternant. Mesuré habituellement à l'aide d'un stylo lampe avec lequel sont éclairées en alternances les deux pupilles, il permet de vérifier l'absence de déficience des afférences pupillaires (voir méthode en Figure 42A). En cas de présence d'une anomalie au niveau des voies afférentes de la pupille, on observe une pseudo-dilatation des pupilles au moment de l'éclairement de la pupille de l'œil atteint. La profondeur de l'atteinte peut par la suite être mesurée en plaçant un filtre coloré de densité neutre devant l'œil sain. Le test est

répété et la densité du filtre augmentée jusqu'à ce que la dilatation ne soit plus observable. La valeur du filtre alors placé devant l'œil sain est un indicateur de la profondeur de l'atteinte, plus la densité du filtre est élevée, plus l'atteinte est importante.

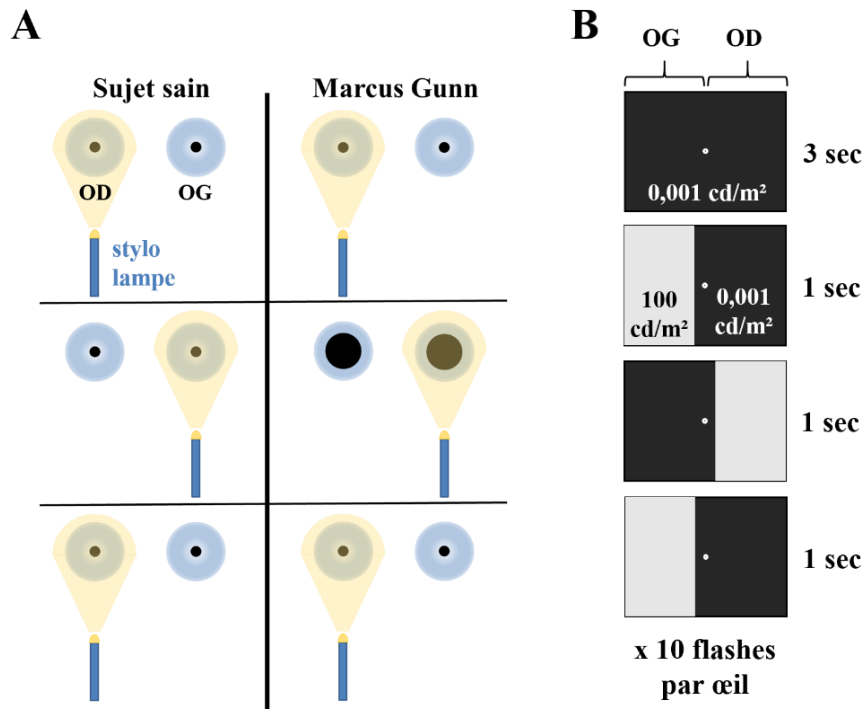


Figure 42 : Protocoles de mesure du RAPD : (A) observation qualitative à l'aide d'un stylo lampe, le sujet de droite présente une pupille de Marcus Gunn, l'œil atteint est l'œil gauche ; (B) stimuli projetés sur l'écran de stimulation lors de la mesure quantitative du RAPD avec un oculomètre ; chaque œil ne voit que la moitié de l'écran de stimulation.

Dans notre étude, nous proposons une nouvelle méthode de mesure du RAPD à l'aide d'un oculomètre permettant simplement et rapidement de détecter une atteinte et d'évaluer son importance.

### III.2.B Protocole de mesure pour PupDyn

La mesure du RAPD avec un oculomètre permet de mesurer et de quantifier directement la valeur de la pseudo-dilatation lors de la stimulation lumineuse de l'œil atteint. Pour ce faire, nous avons séparé l'écran de stimulation en deux parties égales, l'une stimulant uniquement l'OD et l'autre stimulant uniquement l'OG. Des flashes prolongés (d'une durée d'une seconde) étaient ensuite affichés successivement de chaque côté de l'écran (voir Figure 42B).

De la même façon que pour le PLR, ce test est réalisé avec des stimuli gris puis avec des stimuli verts en deux essais successifs séparés d'une pause de 3 secs d'écran noir. Chaque essai est constitué de 10 périodes, soit 10 stimulations visuelles sur chaque œil.

Dans les analyses qui vont suivre, la première réponse a été exclue, la constriction pupillaire étant plus importante lors de la première présentation du stimulus. La différence de réponse pupillaire entre les deux yeux au cours de la première présentation est très importante et n'est pas représentative du comportement stable observé par la suite.

### III.2.C Résultats chez les populations PupDyn

Lors d'un changement de luminance, la pupille réagit systématiquement par une constriction transitoire, même lorsqu'il s'agit d'un décrétement de lumière (Kohn & Clynes, 1969). Il en est de même lorsque la source lumineuse passe d'un œil à l'autre, même si le changement de l'œil stimulé est quasi instantané (1 trame, 16.67 msec). La mesure du RAPD constitue donc la mesure d'une succession de constriction pupillaires, dont l'amplitude peut être inégale d'un œil à l'autre en cas d'atteinte plus marquée sur l'un des deux yeux (Cox, 1989 ; Miki et al, 2006). Nous avons calculé la différence de constriction entre les deux yeux lors de leur stimulation successive. Les résultats de cette comparaison entre les deux yeux sont présentés en Figure 43. Le RAPD n'a été mesuré que sur 8 des 9 sujets atteints de NOHL.

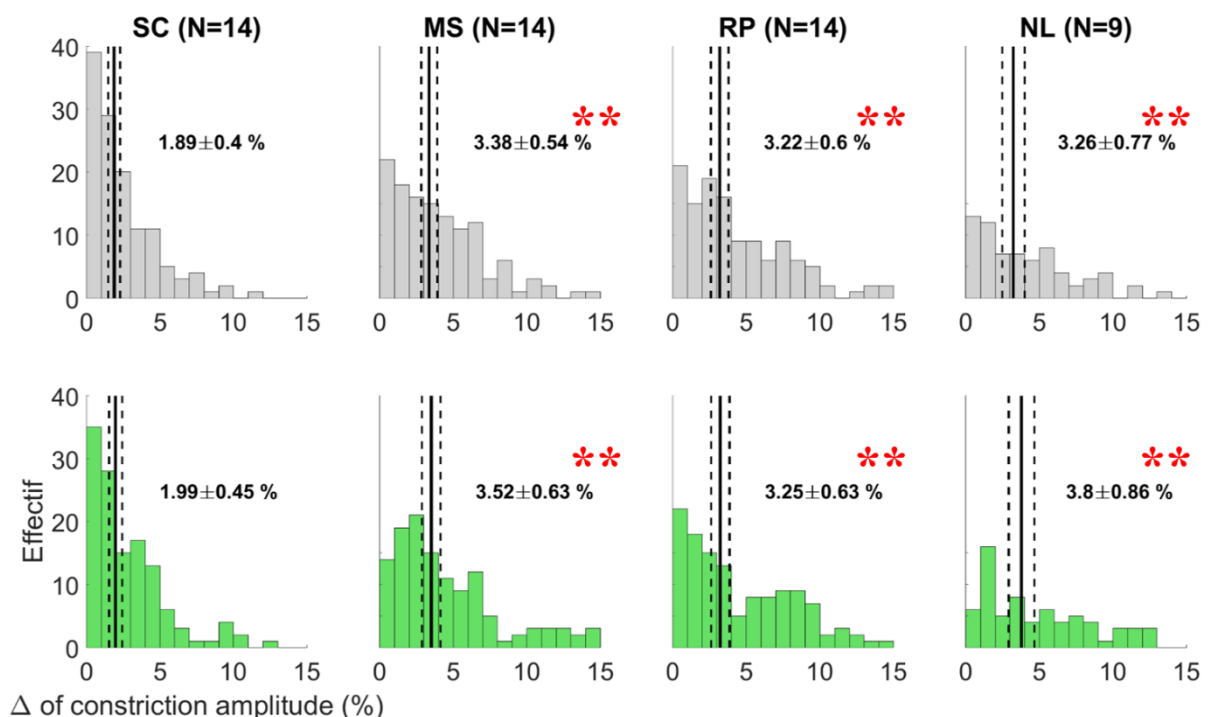


Figure 43 : Distributions de la différence d'amplitude des réflexes pupillaires des deux yeux lors de la mesure du RAPD en gris et en vert chez les populations PupDyn : les sujets contrôles (SC), les sujets atteints de la maladie de Stargardt (MS), les patients souffrants de rétinite pigmentaire (RP) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (NL). Les droites noires verticales pleines et en pointillés représentent la médiane et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (1 enregistrement x 9 flashes x N sujets). Les astérisques indiquent la significativité des d de Cohen calculés : \* :  $0.5 < d < 1$  ; \*\* :  $d > 1$  ; les astérisques rouges pour la comparaison à la population contrôle, aucune différence significative n'a été trouvée entre les couleurs de stimulus au sein d'une population.

Dans un premier temps, nous observons que la différence d'amplitude de constriction est moins importante chez les sujets sains que chez les populations de patients, et ce pour le stimulus gris (d de Cohen et son IC : pour les MS : -1.015 [-1.797 ; -0.217] ; pour les RP : -1.154 [-1.949 ; -0.341] ; pour les NOHL : -1.190 [-2.120 ; -0.235]), ou pour le stimulus vert (d de Cohen et son IC : pour les MS : -1.095 [-1.884 ; -0.288] ; pour les RP : -1.148 [-1.942 ; -0.336] ; pour les NOHL : -1.289 [-2.231 ; -0.321]). Aucune différence significative n'a été trouvée entre la différence de constriction dans le gris et la différence de constriction dans le vert, nous avons donc poolé les valeurs dans le gris et dans le vert afin de calculer les courbes ROC par population présentées en Figure 44.

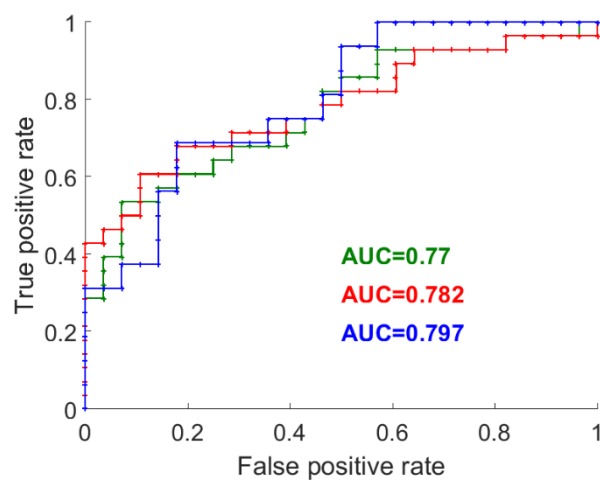


Figure 44 : Courbes ROC par population de stimulus de la différence d'amplitude de constriction entre les deux yeux lors de la mesure du RAPD (Patients MS, patients RP et patients NOHL). Probabilité de distinguer un patient du groupe contrôle. L'AUC indique l'aire sous la courbe. Attention, les effectifs des contrôles et des patients sont différents.

La courbe ROC des patients MS utilisant la différence d'amplitude de réponse pupillaire entre les deux yeux présente une aire sous la courbe de 0.77, avec une spécificité de 78.6% (22 des 28 observations faites chez les sujets contrôles sont correctement labélisées), et une sensibilité également de 60.7% (17 de 28 observations effectuées sur les patients MS sont correctement labélisées).

Chez les patients atteints de RP, l'aire sous la courbe ROC est de 0.782 avec une spécificité de 82.1% (23/28 observations sur contrôles correctes) et une sensibilité de 67.9% (19/28 observations sur patients correctes).

La courbe ROC des patients NOHL utilisant la différence d'amplitude de réponse pupillaire entre les deux yeux présente une aire sous la courbe de 0.797, avec une spécificité de 85.7%

(24 des 28 observations sur les sujets contrôles sont correctement labélisées) et une sensibilité très mauvaise de 37.5% (6 des 16 observations des patients sont correctement labélisées).

### **III.2.D Discussion et conclusion**

En théorie, en cas d'atteinte égale sur les deux yeux, ce test ne permet pas de détecter un dysfonctionnement dans l'activité pupillaire et donc de suspecter une pathologie. Cependant une atteinte parfaitement égale sur les deux yeux est assez rare, même dans les pathologies binoculaires, c'est pourquoi nous trouvons une discrimination intéressante et relativement correcte chez certains de nos groupes.

Globalement, l'égalité des réponses pupillaires des deux yeux est significativement plus faible pour nos trois groupes de patients que chez les sujets contrôles. Cependant elle apporte un bon indice de discrimination en particulier pour les patients atteints de rétinite pigmentaire, un indice plutôt correct chez les patients atteints de maladie de Stargardt et un mauvais indice chez les patients atteints de NOHL qui sont fortement confondus avec les contrôles.

La réponse pupillaire lors du RAPD chez les patients atteints de NOHL est en accord avec l'étude de Jacobson de 1998 (Jacobson, 1998) décrivant chez ces patients la présence d'un défaut pupillaire relatif afférent allant à l'encontre de l'hypothèse de dissociation totale des fonctions visuelles et pupillaires. Il n'en reste pas moins que cette observation ne permet pas de les discriminer correctement des sujets contrôles puisque plus de la moitié d'entre eux présentent une différence de réponses pupillaires entre les deux yeux dans le même ordre de grandeur que les sujets sains. Il est évident que pour pouvoir conclure de façon tranchée chez ces patients, nous manquons de données, notre effectif de patients étant très faible.

Pour conclure, le test du RAPD semble être une mesure intéressante, même s'il n'est en théorie sensible qu'à une différence d'atteinte entre les deux yeux et donc plus adapté aux pathologies monoculaires comme la névrite optique chez les patients atteints de multiples scléroses. Une autre limite de ce test est la variable unique qui en est tirée et qui limite son utilisation. Il serait intéressant d'analyser le test de la même façon que le PLR, ce qui permettrait de mesurer à la fois le réflexe pupillaire à la lumière et l'égalité de réponse des deux yeux.

# IV Le cycle d'oscillation endogène de la pupille (PCT)

## IV.1 Description

Dès les années 40, on sait que l'activité pupillaire est un indice de pathologies du système nerveux central. En 1944, Stern explique que la mesure de l'oscillation endogène de la pupille (Pupil Cycle Time, PCT), est née d'une observation « accidentelle » à la lampe à fente et que cela pourrait révéler des perturbations précoces du système nerveux central (Stern, 1944). A cette époque, l'observation du PCT est faite en positionnant une fente de lumière (à la lampe à fente) au bord de la pupille. Quand la pupille se dilate, la lumière de la lampe à fente entre dans l'œil, entraînant une constriction pupillaire. Une fois la pupille constricte, la lumière n'entre plus dans l'œil (la lampe à fente projette son faisceau sur l'iris) et la pupille se dilate jusqu'à de nouveau laisser entrer la lumière. Cette méthode entraîne donc une oscillation pupillaire, un cycle alternant constriction et dilation pupillaire. En 1950, les paramètres de cette oscillation pupillaire intéressent Campbell & Whiteside, qui vont mesurer sa période étudier son évolution au cours du temps de stimulation, et en fonction de la taille de la pupille (Campbell & Whiteside, 1950). Ils observent une oscillation pupillaire dont la fréquence se situe autour de 70 cycles par minute, soit une fréquence d'environ 1.17 Hz. En 1978, Miller & Thompson publient deux études sur le PCT, la première cherchant à mesurer l'impact de l'âge sur la fréquence du PCT (Miller & Thompson, 1978a), sujet qui intéressera quelques années plus tard Manor et ses collègues en 1981 qui trouveront que la fréquence de l'oscillation endogène de la pupille diminue avec l'âge (Manor et al, 1981). La seconde étude de Miller & Thompson de 1978 a pour objectif d'utiliser le PCT comme marqueur de la névrite optique et ils trouvent un ralentissement significatif de l'oscillation pupillaire chez les patients atteints de cette pathologie (Miller & Thompson, 1978b). Les années suivantes, d'autres études confirment l'intérêt de la mesure du PCT, lors de la compression du nerf optique (Weinstein, Van Gilder & Thompson, 1980), plus largement en présence de maladie du nerf optique (Hamilton & Drewry, 1983), plus spécifiquement en présence de glaucome à angle fermé (Clark & Mapstone, 1986), et en général comme moyen simple de mesurer un réflexe du système autonome (Martyn & Ewing, 1986).

Tous concluent que le PCT constitue une méthode simple, objective et quantitative d'évaluer le dysfonctionnement de l'afférence pupillaire. Cependant cette méthode telle qu'utilisée dans



ces études, présente des limites importantes : d'une part, elle nécessite une bonne expérience de l'expérimentateur observant le PCT, qui doit savoir placer la fente de la lampe mais qui est également en charge de chronométrer et compter le nombre de cycles de la pupille. D'autre part, l'utilisation de la lampe à fente limite considérablement la variation du stimulus entraînant la pupille. Il est impossible par exemple de faire varier la position du stimulus sur la rétine, il est également difficile de faire varier sa couleur, sa taille, sa structure, etc.

Or l'évolution des technologies de l'oculométrie nous permet aujourd'hui de répondre à toutes ces limites et de gagner considérablement en précision dans la mesure du PCT. La Figure 45 illustre les méthodes de mesure du PCT à la lampe à fente (Figure 45A) et à l'oculomètre (Figure 45B).

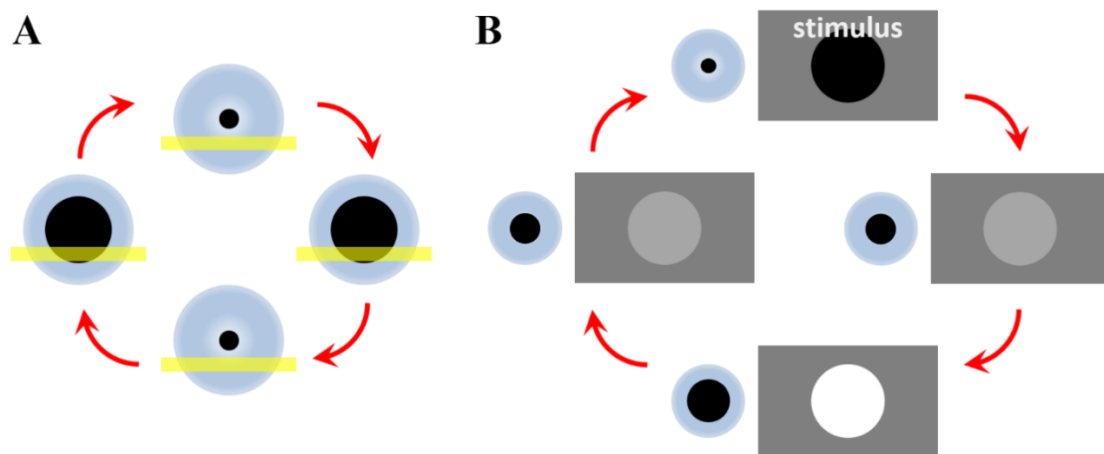


Figure 45 : Principe du PCT et stimuli. (A) Mesure du PCT à la lampe à fente ; l'examineur doit chronométrer et compter le nombre de cycle pupillaire dans un intervalle de temps donné ; (B) Mesure du PCT à l'aide de l'oculométrie ; la taille de la pupille est enregistrée en temps réel et le stimulus projeté sur l'écran varie en luminance selon la taille de la pupille ; plus la pupille est dilatée, plus la luminance du stimulus est importante et inversement.

## IV.2 Etude chez des patients atteints de névrite optique

Ce travail a fait l'objet d'une publication dans PlosOne en aout 2018 : Lamirel, C., Ajasse, S., Moulignier, A., Salomon, L., Deschamps, R., Gueguen, A., ... & Lorenceau, J. (2018). A novel method of inducing endogenous pupil oscillations to detect patients with unilateral optic neuritis. *PloS one*, 13(8), e0201730.

Cette étude a été réalisée à la Fondation Ophtalmologique A. de Rothschild et financée par l'ANR n° 2012-TECS-0009-01 accordée à Jean Lorenceau.

Ma contribution à l'étude : Recrutement du groupe contrôle – examen ophtalmologique d'inclusion des sujets sains – séance de pupillométrie chez les contrôles.

Cette étude avait pour but de tester et valider une nouvelle méthode d'induction et de mesure du PCT chez des patients atteints de névrite optique unilatérale et de décrire une nouvelle approche d'analyse du signal pupillaire afin d'évaluer dans quelle mesure le PCT permet de discriminer les patients atteints de névrite optique de sujets contrôles sains.

La névrite optique désigne une inflammation du nerf optique, souvent associée à une maladie auto-immune affectant le système nerveux central : la sclérose en plaque, qui cause une démyélinisation des axones des cellules nerveuses. La démyélinisation est la disparition de la gaine de myéline autour des fibres nerveuses du système cérébro-spinal. La myéline est une substance lipidique qui favorise la transmission de l'information électrique au niveau de la membrane cellulaire. Grâce à la myéline, l'information se propage plus rapidement le long des axones. En cas de perte de myéline, le message nerveux est donc ralenti et peut même disparaître complètement. C'est ce qui entraîne des plégies et paralysies dans la sclérose en plaque. Cette pathologie, ainsi que la névrite optique qui en résulte évolue par épisodes aigus et sévères entrecoupés de phases de récupération partielle. Le plus souvent, la névrite optique, qui est présente dans environ 20% des cas de scléroses multiples, est unilatérale. Le diagnostic de névrite est fait sur présence de chute de l'acuité visuelle accompagnée d'un défaut pupillaire afférent relatif, douleur péri-oculaire et dyschromatopsie (anomalie de la vision des couleurs) (Shams & Plant, 2009 ; Raz et al, 2012 ; Viret et al, 2013).

## **IV.2.A Méthode**

### **IV.2.A.a Participants**

22 patients d'une clinique neurologique avec un historique de névrite optique unilatérale démyélinisante dans les 5 dernières années, âgés de 24 à 60 ans ont été testés. Un groupe de 22 sujets sains appariés en sexe et en âge avec les patients a également été testé. Les participants ont été recrutés après un examen visuel complet comprenant une anamnèse sur leurs précédents médicaux et ophtalmologiques, une réfraction, une mesure de l'acuité visuelle, le contrôle de l'absence de déficit pupillaire afférent relatif, mesure de la pression intraoculaire, mesure de l'épaisseur de la cornée centrale et rétinophotographie. Aucun des participants n'étaient atteints d'anisocorie pouvant refléter une lésion de la partie efférente du PLR.

Le choix d'étudier une population de patients atteints de névrite optique unilatérale permet la comparaison des résultats entre les deux groupes mais également au sein même du groupe de patients entre l'œil atteint et l'œil sain.

#### **IV.2.A.b Matériel et Stimulus**

Les données oculométriques (positions du regard et taille de la pupille) étaient enregistrées par un oculomètre EyeLink II (SR Research Ltd) à un taux d'échantillonnage de 250 Hz.

Les stimuli étaient affichés sur un écran de 22 pouces (IIYAMA, résolution de 1024 x 768 pixels, taux de rafraîchissement de 75Hz) placé à une distance de 67 cm des yeux des participants. Le stimulus consistait en un disque de 20° de diamètre placé au centre de l'écran, sur fond noir, et dont la luminance variait en fonction de la taille de la pupille.

Un logiciel personnalisé dédié (JEDA) était utilisé pour coupler la taille de la pupille et la luminance du stimulus ainsi que pour la récupération des données (à la fréquence de rafraîchissement de l'écran : 75 Hz). Afin d'induire une oscillation périodique de la pupille, la luminance devait être d'autant plus importante que la pupille était dilatée et inversement. Pour ce faire, le logiciel JEDA était en charge de convertir les valeurs de taille de la pupille récupérées par l'oculomètre (valeurs arbitraires situées entre 3000 et 15000) en valeur de luminance (contrôlée par les canons RGB de l'écran dont les valeurs allaient de 0 à 255 bit) à l'aide d'une valeur de « gain » servant de diviseur et paramétré précédemment et manuellement par l'expérimentateur. Cette valeur était estimée pour chaque participant au début de la séance de pupillométrie afin de maximiser l'amplitude de l'oscillation pupillaire tout en conservant la luminance dans une gamme appropriée.

Afin de déterminer la taille maximale et minimale de la pupille, chaque essai débutait par un étalonnage de la pupille : 3 secondes sur écran noir (0.003 cd/m<sup>2</sup>), 3 secondes avec la luminance la plus élevée de l'écran (90 cd/m<sup>2</sup>) et 3 secondes avec un écran gris médian (45 cd/m<sup>2</sup>). Cette procédure servait par la suite à normaliser la taille de la pupille.

Le PCT était mesuré avec une stimulation monoculaire sur chaque œil et en binoculaire avec deux répétitions pour chaque condition. Le PCT était testé en 4 conditions de chromaticité du stimulus : blanc, vert, bleu et rouge.

### **IV.2.A.c Protocole**

Après une adaptation à l'obscurité de la salle de test pendant 5 minutes, une calibration standard en 9 points de l'oculomètre était réalisée. Chacun des 24 essais (3 conditions d'ocularité x 4 conditions de chromaticité x 2 répétitions) débutait par un étalonnage de la pupille avant l'induction de l'oscillation de la pupille. Chaque essai durait 39 secondes (3x3 sec d'étalonnage puis 30 sec de PCT) et était suivi d'une courte pause (environ 30 sec) avant le début de l'essai suivant. Pendant ces 39 sec, les participants avaient pour instruction de fixer le point de fixation central de la façon la plus stable possible et d'éviter un maximum de cligner des yeux.

### **IV.2.A.d Analyses**

Les analyses ont été faites offline à l'aide de programmes Matlab personnalisés dédiés. Les clignements (et pertes de signal) ont été automatiquement détectés et remplacés par une interpolation linéaire. Le signal pupillaire était ensuite normalisé par un z-score et la fréquence fondamentale d'oscillation de la pupille était calculée en utilisant différentes méthodes : par transformée de Fourier discrète (FFT), par autocorrélation et FFT de l'autocorrélogramme et par une analyse temps-fréquence en utilisant une transformée à ondelette. Le bruit de la FFT en  $1/f$  a été corrigé en multipliant chaque puissance par sa fréquence au carré. Compte tenu des précédentes études sur le PCT indiquant une fréquence de PCT autour de 1.17 Hz, uniquement les fréquences situées entre 0.5 et 2 Hz ont été considérées dans l'analyse (Campbell & Whiteside, 1950). La Figure 46 illustre ces différentes méthodes d'analyse. Même si ces différentes méthodes ont donné des résultats similaires, l'analyse temps-fréquence permet d'obtenir des résultats plus stables et offre la possibilité de mieux comprendre la dynamique pupillaire au cours du temps et la stabilité de la fréquence d'oscillation. Les analyses se sont donc concentrées sur cette méthode d'analyse du PCT.

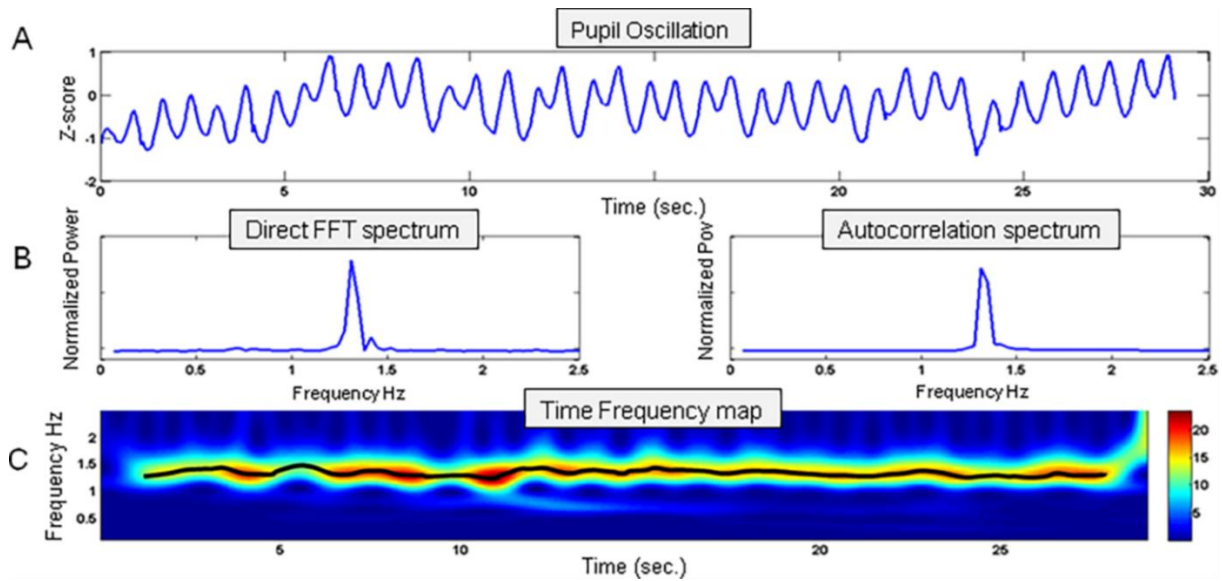


Figure 46 : Exemple d'analyse d'un essai du PCT chez un sujet sain apparié à un patient atteint de névrite optique. Issue de Lamirel et al, 2018. (A) Taille de la pupille normalisée au cours des 30 secondes d'enregistrement du PCT. (B) Spectre de puissance et spectre de l'auto-corrélogramme du signal pupillaire normalisé. (C) Carte temps-fréquence montrant la puissance aux fréquences au cours du temps ; le rouge indique une puissance élevée et le bleu une puissance faible ; la courbe noire représente la puissance maximum pour chaque pas de temps La moyenne et la variance de la fréquence de cette puissance maximum sont utilisées afin de caractériser les dynamiques pupillaires.

L'amplitude de la variation du PCT et donc la puissance du pic du PCT dans le spectre est dépendante du paramétrage de la valeur de « gain », de la distance œil-caméra, de l'orientation de la caméra. Ces paramètres sont donc variables entre les sujets, entre les yeux chez un même sujet et sont susceptibles de changer au cours d'une session de pupillométrie (adaptation à l'obscurité, le participant qui quitte la mentonnière pendant les pauses, facteurs cognitifs, etc). Il est donc difficile d'imaginer utiliser cette variable comme marqueur de détection de la névrite optique. Les analyses se sont donc concentrées sur la fréquence d'oscillation de la pupille et sur la variabilité de cette fréquence au cours du temps.

## IV.2.B Résultats

Les essais pour lesquels la taille de la pupille a dépassé les bornes de luminances fixées par le set up pendant plus de la moitié de la durée de l'essai (indiquant que la valeur de « gain » n'avait pas été correctement fixé pour ce cas particulier) et les essais pour lesquels trop de clignements ou de saccades ont été détectés ont été exclus des analyses. Ainsi ont été retenus pour l'analyse 116 essais du groupe patients et 132 du groupe contrôle.

L'analyse statistique (ANOVA et test HSD de Tukey) a montré que la fréquence du PCT de l'œil affecté chez les patients est significativement plus basse que la fréquence de l'œil sain des patients, ainsi que la fréquence de l'œil apparié des sujets contrôles. Aucune différence

significative dans la fréquence du PCT n'a été observée entre l'œil sain des patients et l'œil apparié des contrôles. Par ailleurs, on observe que la fréquence du PCT binoculaire est plus élevée chez les patients et chez les contrôles que la fréquence du PCT monoculaire de l'œil atteint ou sain (Figure 47A).

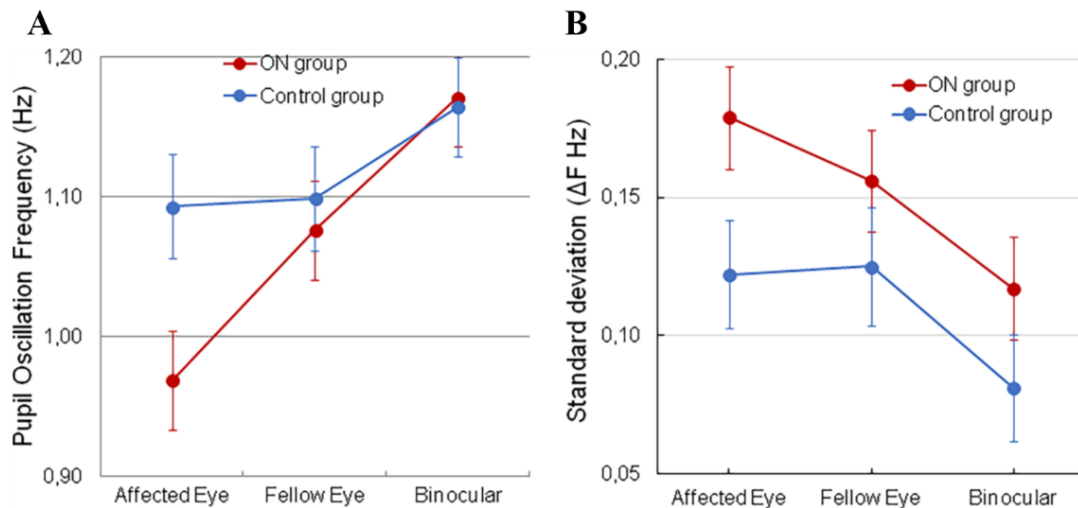


Figure 47 : PCT chez les patients atteints de névrite optique (en rouge) et les sujets sains (en bleu). Les barres d'erreurs représentent les intervalles de confiance à 95%. Ces résultats sont calculés à partir de l'analyse temps-fréquence. (A) Fréquence d'oscillation moyenne ; (B) Écart type des fréquences de PCT dont la puissance maximum se situe entre 0.5 et 2 Hz. Issue de Lamirel et al, 2018.

La variabilité de la fréquence du PCT a été analysée de la même manière. Cette analyse a montré que la variabilité de la fréquence du PCT était en moyenne plus importante chez les patients atteints de névrite optique que chez les sujets contrôles et moins importante pour la condition binoculaire que pour les conditions monoculaires (Figure 47B).

Une courbe ROC est utilisée afin de déterminer la précision avec laquelle la fréquence du PCT peut être utilisée pour discriminer les patients des contrôles. Deux variables d'intérêts ont été utilisées afin de calculer des courbes ROC et trouver la meilleure façon de discriminer les patients et les contrôles : la première est la fréquence du PCT et la seconde est un indice mixte calculé à partir de la fréquence du PCT modérée par sa variabilité au cours du temps.

Dans un premier temps, les dynamiques pupillaires de l'œil sain des patients sont comparées avec celles de l'œil atteint de ces derniers. La courbe ROC correspondante et utilisant uniquement la fréquence du PCT présente une aire sous la courbe de 0.76, une sensibilité de 73% (intervalle de confiance de 95% CI : 50-89%) et une spécificité de 71% (CI : 48-89%) avec un seuil à 1.02 Hz. 16 des 22 yeux atteints et 15 des 21 yeux sains ont été correctement classifiés (Figure 48A-courbe verte).

La courbe ROC utilisant l'indice mixte afin de discriminer l'œil atteint et l'œil sain des patients, présente une aire sous la courbe de 0.71, une sensibilité de 68% (CI : 45-86%), et une spécificité de 67% (CI : 43-85%). 15 des 22 yeux atteints et 14 des 21 yeux sains ont été correctement classifiés (Figure 48A-courbe violette).

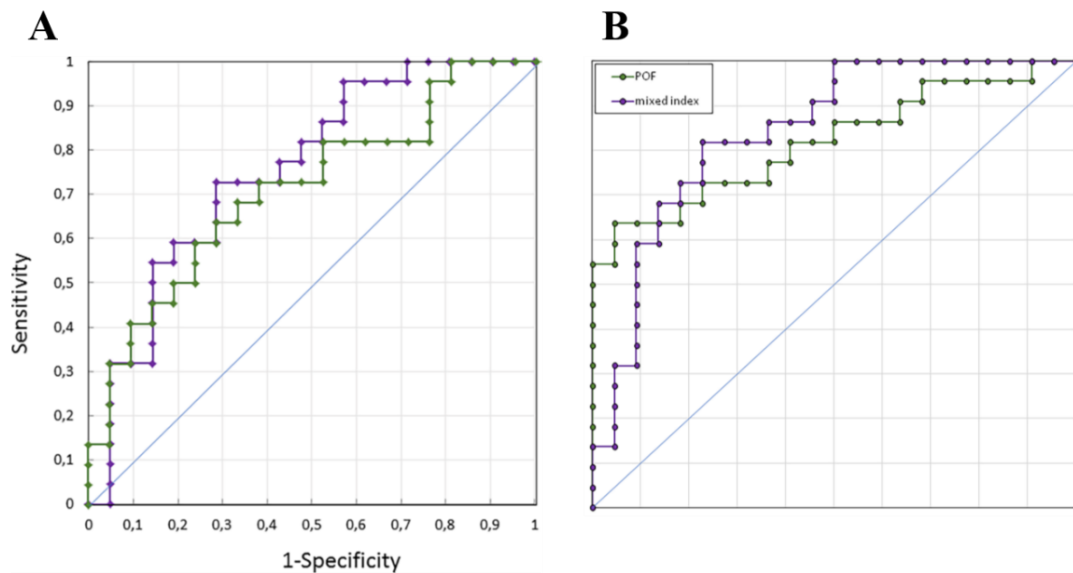


Figure 48 : Courbes ROC de la fréquence du PCT (en vert) et de l'index mixte (en violet). (A) Discrimination de l'œil atteint et de l'œil sain des patients atteints de névrites optiques. (B) Discrimination de l'œil atteint du patient et de l'œil correspondant du sujet contrôle apparié. Issue de Lamirel et al, 2018.

Afin de discriminer les patients et les contrôles, seuls les résultats du PCT de l'œil atteint des patients et de l'œil apparié chez les contrôles ont été utilisés.

La courbe ROC utilisant la fréquence du PCT présente une aire sous la courbe de 0.75, une sensibilité de 64% (CI : 41-83%), une spécificité de 82% (CI : 60-95%) et un seuil à 0.99 Hz. 14 des 22 patients et 18 des 22 contrôles ont été correctement classifiés (Figure 48B-courbe verte).

En utilisant l'indice mixte, la courbe ROC présente une aire sous la courbe de 0.82, une sensibilité de 82% (CI : 60-95%), une spécificité de 77% (CI : 55-92%) et un seuil à 6.89 unités arbitraires. 18 des 22 patients et 17 des 22 contrôles ont été correctement classifiés (Figure 48B-courbe violette).

## **IV.2.C Discussion et conclusion**

Nous avons trouvé que la moyenne et la variabilité de la fréquence d'oscillation pupillaire permettent de discriminer l'œil affecté de l'œil sain chez les patients atteints de névrite optique ainsi que les patients des contrôles avec une sensibilité et une spécificité raisonnables.

De façon étonnante, la fréquence du PCT binoculaire est plus élevée que la fréquence du PCT monoculaire chez les patients comme chez les sujets contrôles. De plus, la fréquence en binoculaire chez les patients n'est pas différente de celle des contrôles, ce qui est surprenant puisque l'augmentation de la fréquence en binoculaire devrait théoriquement résulter de la sommation des informations lumineuses envoyées aux deux yeux, or la fréquence de l'œil atteint chez les patients est grandement affectée. Pourtant la sommation de l'œil atteint avec l'œil sain chez les patients est ici égale à la sommation des deux yeux sains chez les sujets contrôles. Cela soulève des questions sur la façon dont les informations des deux yeux sont combinées afin de moduler le diamètre pupillaire.

Des études en cours menées sur des sujets sains semblent montrer qu'il n'y a pas d'effet de la charge cognitive ainsi que de la modulation du gain (et donc l'amplitude de la modulation de luminance) sur la moyenne et la variabilité de la fréquence du PCT, ce qui est intéressant dans l'optique d'utiliser cette méthode en routine ophtalmologique ou neuro-ophtalmologique.

Cette étude apporte de nouvelles évidences, en cohérence avec les précédentes études de la littérature, de l'intérêt d'utiliser le comportement pupillaire et l'analyse spectrale de ses dynamiques comme moyen simple, rapide et fiable de détecter et mesurer des atteintes liées à des neuropathologies optiques.

## **IV.2.D Conséquences pour l'étude PupDyn**

Etant donnée la nature de la névrite optique, nous avons de fortes attentes quant au comportement pupillaire qui est logiquement ralenti par la démyélinisation des fibres nerveuses. Nous avons cherché à savoir si des modifications des dynamiques pupillaires sont également visibles dans d'autres types de pathologies, ayant montré ou non une modification de la réponse pupillaire à la lumière lors de la mesure du PLR. Nous étendons donc nos observations concernant le PCT sur les populations PupDyn, chez des patients atteints de neuropathie optique de Leber (NOHL, atteinte des cellules ganglionnaires), chez les patients atteints de maladie de Stargardt (MS, rétinopathie responsable de la dégénérescence des cônes), et chez des patients atteints de rétinopathie pigmentaire (RP, entraînant une perte des bâtonnets).



Pour rappel, chez les patients atteints de NOHL, une dissociation de la fonction visuelle et de la fonction pupillaire a été observée, liée à une épargne relative des ipRGC impliquées dans les réponses pupillaires. On ne s'attend donc pas à voir un effet important de la pathologie sur les dynamiques du PCT. Nous pouvons cependant imaginer pour observer un ralentissement de sa fréquence liée à la diminution de la réponse transitoire pupillaire, tandis que la réponse soutenue sera maintenue.

Chez les patients atteints de MS, la diminution du nombre de cônes entraîne une perte de la sensibilité rétinienne en particulier dans la région centrale du CV, c'est donc dans cette région qu'on s'attend à voir une modification des réponses pupillaires, avec probablement une difficulté accrue à entraîner l'oscillation pupillaire en cas d'atteintes avancées liées à la pathologie.

Pour finir, chez les patients atteints de RP chez qui ce sont les bâtonnets qui sont majoritairement atteints, la région périphérique est la plus impactée par la pathologie, c'est dans cette région qu'on s'attend à voir la différence de comportement pupillaire la plus importante comparé au comportement pupillaire des sujets contrôles sains.

### **IV.3 Protocole de mesure pour PupDyn**

Dans le cadre de l'étude PupDyn, nous avons mesuré le PCT avec 4 conditions de chromaticité (gris, vert, bleu et rouge), 3 conditions de localisation/surface (Plein champ, anneau périphérique et disque central, voir Figure 49), sur chacun des deux yeux. Nous avons également ajouté un enregistrement du PCT en stimulation binoculaire avec un stimulus vert en plein écran.

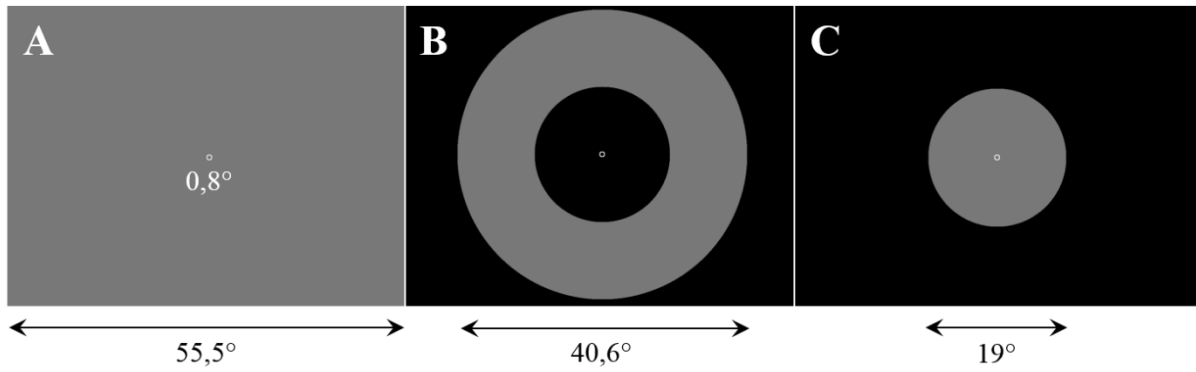


Figure 49 : Aspect des stimuli de PCT pour l'étude PupDyn : (A) Mesure du PCT plein écran ; (B) Mesure du PCT périphérique ; (C) Mesure du PCT central.

L'amplitude de l'oscillation de luminance est variable selon les individus et les essais mais la plage de luminance dans laquelle elle s'inscrit se situe entre les luminances extrêmes de l'écran qui sont  $0.005 \text{ cd/m}^2$  et  $378.10 \text{ cd/m}^2$ .

## IV.4 Résultats chez les populations PupDyn

### IV.4.A Analyse du PCT

L'analyse fréquentielle du signal pupillaire est réalisée sur une trace pupillaire nettoyée des clignements, filtrée avec un filtre passe-bas à 10 Hz et normalisée en pourcentage en utilisant la taille maximale et minimale de la pupille enregistrée sur l'essai (baseline comprise), de manière à obtenir le type de traces visibles en Figure 50A-B.

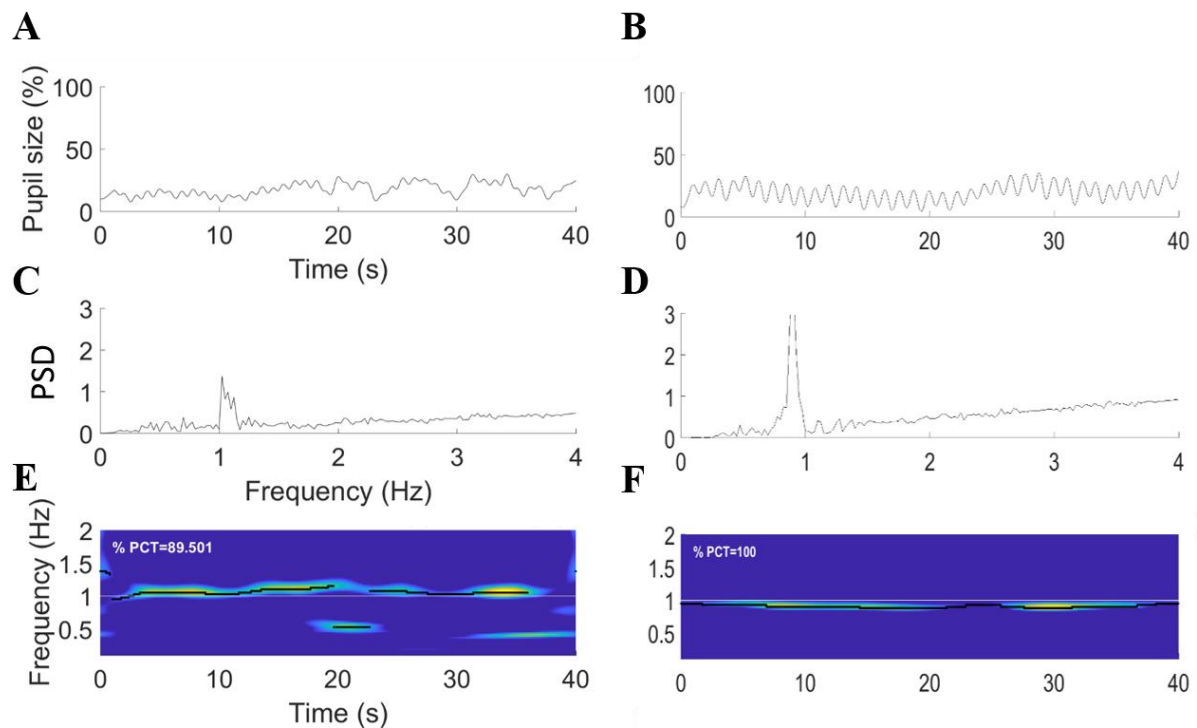


Figure 50 : Exemple de résultats de PCT enregistré en gris plein écran chez un patient NOHL (A, C et E) et un sujet contrôle (B, D et F). (A-B) Taille de la pupille au cours du temps en pourcentage de la taille maximale de la pupille ; (C-D) Spectre normalisé du signal pupillaire (normalisation en  $1/f^2$ ) ; (E-F) Analyse temps-fréquence du signal pupillaire, plus la couleur est chaude et plus la puissance à la fréquence est importante, la courbe noir représente à chaque pas de temps la fréquence de la puissance maximum située entre 0.5 et 1.5 Hz. Le pourcentage d'oscillation en haut à gauche de la carte temps-fréquence indique la proportion du temps passé avec la puissance maximale située entre 0.5 et 1.5 Hz.

Les participants présentant une fréquence d'oscillation avec une grande variabilité ont un pic de FFT qui peut être multiple ou étalé, comme par exemple chez le patient NOHL présenté en Figure 50C. Ceci rend difficile l'interprétation de la fréquence repérée comme étant la plus puissante dans le spectre, qui n'est pas aussi représentative que lors d'une oscillation à une fréquence stable comme c'est le cas pour le sujet sain donc un spectre est présenté en Figure 50D. Nous sommes donc restés en cohérence avec notre étude du PCT chez les patients atteints de névrite optique en utilisant l'analyse temps-fréquence nous délivrant trois principales variables d'intérêt : la portion de temps pendant laquelle la pupille oscille à une fréquence comprise entre 0.5 et 1.5 Hz et la fréquence à la puissance maximale au cours du

temps, à partir de laquelle nous dérivons une fréquence moyenne et sa variabilité au cours du temps (Figure 50E-F).

Les essais présentant une perte de signal (par exemple liée à des clignements) pendant plus de la moitié de la durée de l'essai ont été exclus des analyses. Le nombre d'essais enregistrés et exclus par population et par région de stimulation est disponible ci-dessous en Tableau 1.

*Tableau 1 : Nombre d'essais de PCT enregistrés et exclus par pathologie (SC : sujets contrôles ; MS : patients atteints de maladie de Stargardt ; RP : patient atteint de rétinite pigmentaire ; NOHL : patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber) et par région de stimulation.*

	<b>Plein écran</b>	<b>Périphérique</b>	<b>Centrale</b>
<b>SC</b>	0/147	0/111	0/112
<b>MS</b>	1/120	1/94	3/94
<b>RP</b>	0/121	4/89	3/86
<b>NOHL</b>	0/80	0/66	0/67

#### **IV.4.B PCT et spatialisation**

Nos populations de PupDyn ayant des types d'atteintes différentes, une vision tubulaire chez les RP (scotomes périphériques) et des scotomes plutôt en région centrale chez les MS et les NOHL, nous nous sommes tout d'abord intéressés aux effets de la localisation des stimuli avec comme hypothèse que le PCT chez les RP sera moins stable et plus lent en périphérie qu'en central, et inversement chez les patients MS et NOHL. La Figure 51 présente les variables du PCT, la proportion de temps pendant lequel ont été observées des oscillations pupillaires, la moyenne et la stabilité de la fréquence d'oscillation du PCT en fonction des populations et des régions du stimulus utilisées.

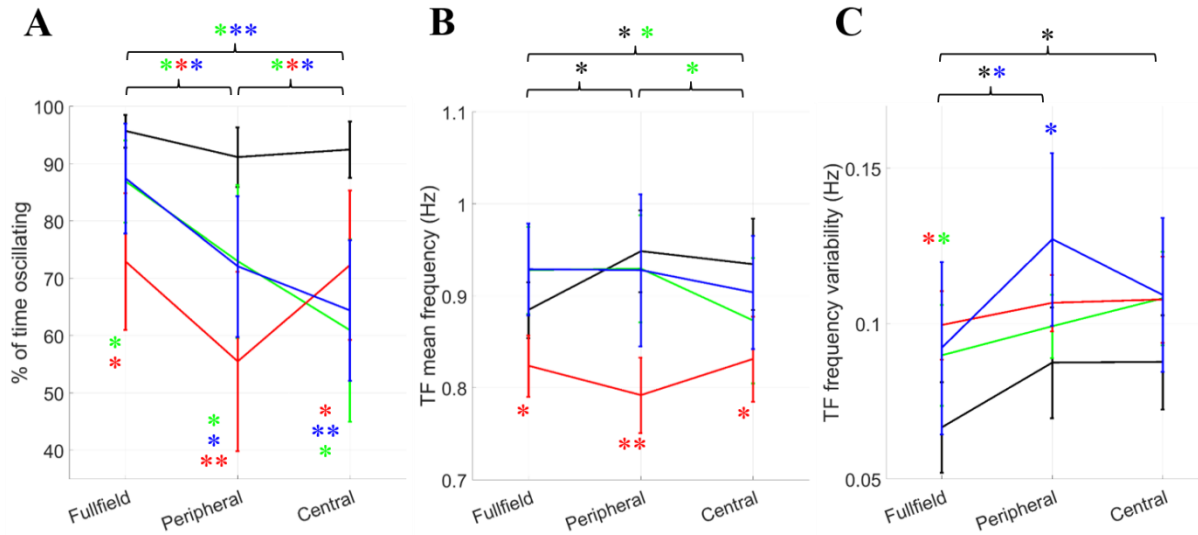


Figure 51 : Variables du PCT enregistré chez les populations de l'étude PupDyn : les sujets contrôles (en noir), les patients atteints de maladie de Stargardt (en vert), les patients souffrant de *rétinite pigmentaire* (en rouge) et les patients atteints de *neuropathie optique héréditaire de Leber* (en bleu). Les courbes et les barres d'erreurs représentent la moyenne et les intervalles de confiance à 95% sur les moyennes par sujet. Effet de la région du stimulus sur (A) le temps d'oscillation, (B) la fréquence moyenne d'oscillation calculée par analyse temps fréquence et (C) la variabilité de la fréquence d'oscillation calculée par analyses temps fréquence. Les astérisques colorés indiquent la significativité du  $d$  de Cohen calculé entre la population de patients correspondante et la population de contrôles ou chez la même population entre les conditions de localisation (en haut avec les accolades). \* :  $0.5 < d < 1.5$  ; \*\* :  $d > 1.5$ .

Dans un premier temps, le pourcentage de temps passé pendant lequel la pupille oscille à une fréquence comprise entre 0.5 et 1.5 Hz permet de différencier la population contrôle des populations de patients (Figure 51A). En effet pour toutes les conditions de localisation, les sujets contrôles ont une pupille qui oscille plus longtemps, avec un temps d'oscillation moyen de 93.1%. Les patients RP sont les patients qui se distinguent les plus du groupe de contrôles avec un temps d'oscillation moyen situé autour de 66.9% avec une chute importante de ce taux lors de la stimulation en région périphérique (moyenne et intervalle de confiance à 95% :  $55.5 \pm 13.5\%$ ). Les patients MS et NOHL ont des profils de réponse très similaires avec un bon temps d'oscillation lors de la stimulation plein champ, un temps réduit lors de la stimulation en périphérie, et un temps minimal lors de la stimulation en région centrale. Le temps d'oscillation lors de la stimulation en central est néanmoins légèrement plus impacté chez les patients atteints de maladie de Stargardt que chez les patients atteints de NOHL. Il est à noter que la variabilité de ce temps d'oscillation, symbolisée par les intervalles de confiance (en barre d'erreur) est moins important dans la population contrôle que dans les populations de patients. Ceci ne peut être uniquement lié à un écart d'effectif, la population contrôle étant représentée par 14 sujets sains, les populations MS et RP par 14 participants et la population

NOHL par 9 participants (à variabilité égale on s'attend à une diminution des intervalles de confiance avec l'augmentation de l'effectif).

La différence marquée de comportement pupillaire des RP se confirme lors de l'observation de la fréquence moyenne d'oscillation de la pupille (Figure 51B). En effet leur oscillation est nettement plus lente que celle des sujets sains testés (moyennes et intervalles de confiance à 95% :  $0.82 \pm 0.04$  Hz chez les RP contre  $0.92 \pm 0.05$  Hz chez les sujets sains), avec une baisse de la fréquence plus marquée lors de la stimulation dans la région périphérique ( $0.79 \pm 0.04$  Hz chez les RP contre  $0.95 \pm 0.05$  Hz chez les sujets sains,  $d$  de Cohen : 1.922 [1.005 ; 2.814]). Notons que la fréquence moyenne d'oscillation chez les sujets sains est plus faible lors de la stimulation plein écran que lors des stimulations en central et périphérique qui sont très similaires (moyennes et intervalles de confiance à 95% : plein écran :  $0.88 \pm 0.04$  Hz ; périphérique :  $0.95 \pm 0.05$  Hz ; central :  $0.93 \pm 0.06$  Hz). Cette fois encore, les comportements des MS et des NOHL sont très similaires avec néanmoins une fréquence moyenne lors de la stimulation en centrale légèrement plus élevée chez les NOHL ( $0.90 \pm 0.06$  Hz chez les NOHL contre  $0.87 \pm 0.07$  chez les MS, non significatif).

La variabilité de la fréquence d'oscillation de la pupille ne permet pas une aussi bonne discrimination entre les populations (Figure 51C). Néanmoins, il est notable que la variabilité de la fréquence d'oscillation de la pupille chez les sujets sains est plus faible lors de la stimulation en plein écran que lors des stimulations localisées (moyennes et intervalles de confiance à 95% : plein écran :  $0.07 \pm 0.02$  Hz ; périphérique :  $0.09 \pm 0.02$  Hz ; central :  $0.09 \pm 0.02$  Hz) de façon significative ( $d$  de Cohen et IC : plein écran/périphérique : -0.591 [-1.152 ; -0.011] ; plein écran/centre : -0.681 [-1.255 ; -0.086]).

On peut se demander dans quelle mesure ces différences de fréquence d'oscillation endogène de la pupille permettent de distinguer les patients de la population contrôle. Pour ce faire, la probabilité d'identifier un individu comme étant un patient à partir de sa fréquence d'oscillation pupillaire, spécifique à une région de stimulation dans le CV, a été réalisée à l'aide d'un modèle linéaire généralisé de type logistique simple, appliqué à une distribution binomiale.

Le modèle linéaire généralisé logistique simple permet d'expliquer une variable selon une variable explicative binomiale prenant comme valeur 0 (dans notre cas quand il s'agit d'un sujet contrôle) et 1 (dans notre cas pour un patient). Il nous permet ainsi de calculer la probabilité que la donnée tirée au hasard dans notre jeu de donnée soit celle d'un patient. Par exemple pour le test du PCT, on s'attend à observer une diminution du temps d'oscillation

chez les patients. Donc plus la portion du temps d'oscillation sera basse, plus la probabilité de détecter un patient sera élevée. Le GLM est caractérisé par deux coefficients, chacun accompagné d'un pValue. Le premier coefficient donne une information sur la pente de notre fonction logistique, soit l'évolution de la probabilité de détecter un patient lorsque le temps d'oscillation gagne 1%. Le second coefficient, l'ordonnée à l'origine, permet de calculer la proportion de patients pour lesquels notre variable prend une valeur nulle, soit dans notre exemple, la proportion de patients dont le temps d'oscillation est nul.

Notre hypothèse est que les variables du PCT, le temps d'oscillation, la fréquence moyenne d'oscillation pupillaire ainsi que sa variabilité, devraient être d'avantage affectées dans les secteurs du CV suspectés, selon les pathologies, de présenter une baisse de sensibilité rétinienne. Les résultats sont présentés en Figure 52.

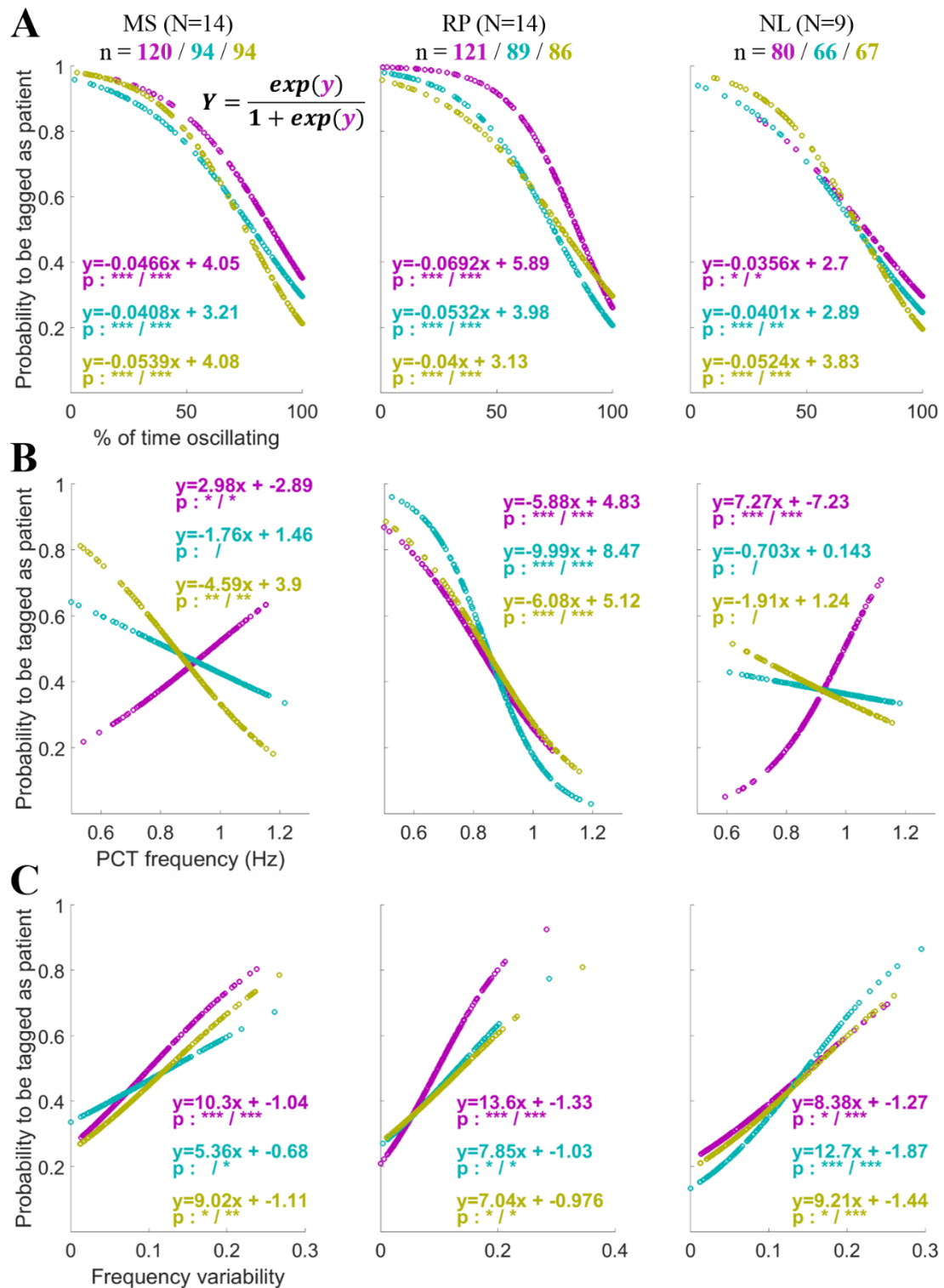


Figure 52 : Probabilité de détecter un patient selon les pathologies (MS : maladie de Stargardt ; RP : rétinite pigmentaire ; NL : neuropathie optique héréditaire de Leber) et les régions testées (plein écran en rose, région périphérique en bleu et région centrale en jaune), calculée par un modèle linéaire généralisé de type logit (GLM); (A) en fonction du temps d'oscillation ; (B) en fonction de la fréquence moyenne d'oscillation pupillaire; (C) en fonction de la variabilité de la fréquence d'oscillation pupillaire. Pour chaque modèle, les moyennes pour toutes les conditions de couleur, pour les 2 yeux et pour tous les sujets ont été poolées. Le n indique le nombre d'observations pour la population et la région concernées, comparées aux effectifs de la population contrôle qui sont de 147 observations pour le plein écran, 111 pour la région périphérique et 112 pour la région centrale. Les coefficients du GLM sont présentés accompagnés de leur pValue : ' ' : pValue > 0.05 ; '\*' : pValue < 0.05 ; '\*\*' : pValue < 0.001 ; '\*\*\*' : pValue < 0.0001.



Chez les patients MS, la proportion de temps d'oscillation apporte un indice significatif de la présence d'une atteinte, et ce pour toutes les conditions de localisation du stimulus, avec cependant une pente plus importante (et donc une discrimination plus franche avec les sujets contrôles) lors de la stimulation en région centrale (Figure 52A gauche). Lors de la stimulation en plein écran, la probabilité de détecter un patient augmente avec la fréquence moyenne d'oscillation du PCT, les patients oscillent plus rapidement que les sujets contrôles en plein écran. A l'inverse, lors de la stimulation en région centrale, les patients oscillent plus lentement que les sujets contrôles, la probabilité de détecter un patient diminue significativement avec l'augmentation de la fréquence (Figure 52B gauche). La fréquence d'oscillation du PCT lors de la stimulation en région périphérique n'apporte pas un bon indice pour discriminer les patients MS des contrôles. Concernant la variabilité de la fréquence d'oscillation du PCT, on observe que la probabilité de détecter un patient augmente avec la variabilité de la fréquence pour les trois conditions d'étendue de la stimulation. Cependant la stimulation en périphérie n'apporte toujours pas un moyen efficace de discriminer les patients MS et la stimulation en plein écran apporte un meilleur indice que la stimulation en région centrale (Figure 52C gauche).

L'observation du temps d'oscillation chez les patients RP en fonction de la région de stimulation montre une discrimination de ces patients du groupe contrôle un peu moins efficace lors de la stimulation en région centrale (Figure 52A centre) que lors des stimulations en central et en plein écran. Comme chez les patients MS, la probabilité de détecter un patient augmente avec la diminution du temps d'oscillation. La stimulation en région périphérique est la plus discriminante lorsqu'on se base sur la fréquence moyenne du PCT (Figure 52B centre) avec tout de même une bonne discrimination dans les trois conditions de stimulation et une probabilité de détecter un patient qui diminue avec l'augmentation de la fréquence moyenne du PCT. La Figure 52C centre montre que la variabilité de la fréquence du PCT est plus discriminante lors de la stimulation en plein écran que lors des stimulations centrale et périphérique, et la variabilité de la fréquence augmente avec la probabilité de détecter un patient.

Pour finir, chez les patients atteints de NOHL, le temps d'oscillation apporte la même qualité d'indice de discrimination pour les trois conditions de stimulation, avec un temps d'oscillation plus bas chez les patients que chez les sujets contrôles (Figure 52A droite). La fréquence d'oscillation du PCT n'apporte un élément de discrimination que pour la stimulation en plein écran. Contrairement aux patients RP et de la même façon que pour les

patients MS, la probabilité de détecter un patient NOHL augmente avec la fréquence d'oscillation (Figure 52B droite). Enfin la probabilité de détecter un patient NOHL augmente avec la variabilité de la fréquence d'oscillation, avec un effet plus marqué lors de la stimulation en région périphérique (Figure 52C droite).

Globalement, ces résultats nous confortent dans l'idée que les variables du PCT sont plus impactées dans les régions du CV suspectées d'atteintes (en particulier chez les RP et les MS). Ces observations sont à mettre en rapport avec le CV qui nous donne pour chaque patient une évaluation de l'étendue de l'atteinte rétinienne.

#### **IV.4.C Mise en relation du PCT avec les données ophtalmologiques**

La superposition des champs visuels et des stimuli nous permet de mettre en relation les variables du PCT avec l'étendue de la portion du stimulus visible par les patients (exemples de cette superposition en Figure 37). Cette analyse vise à fournir une évaluation plus précise du rapport entre les paramètres du PCT, et en particulier sa fréquence, et la position de l'atteinte rétinienne. La Figure 53 présente la relation entre la portion visible du stimulus et la fréquence moyenne d'oscillation de la pupille en fonction des populations de patients pour toutes les régions testées.

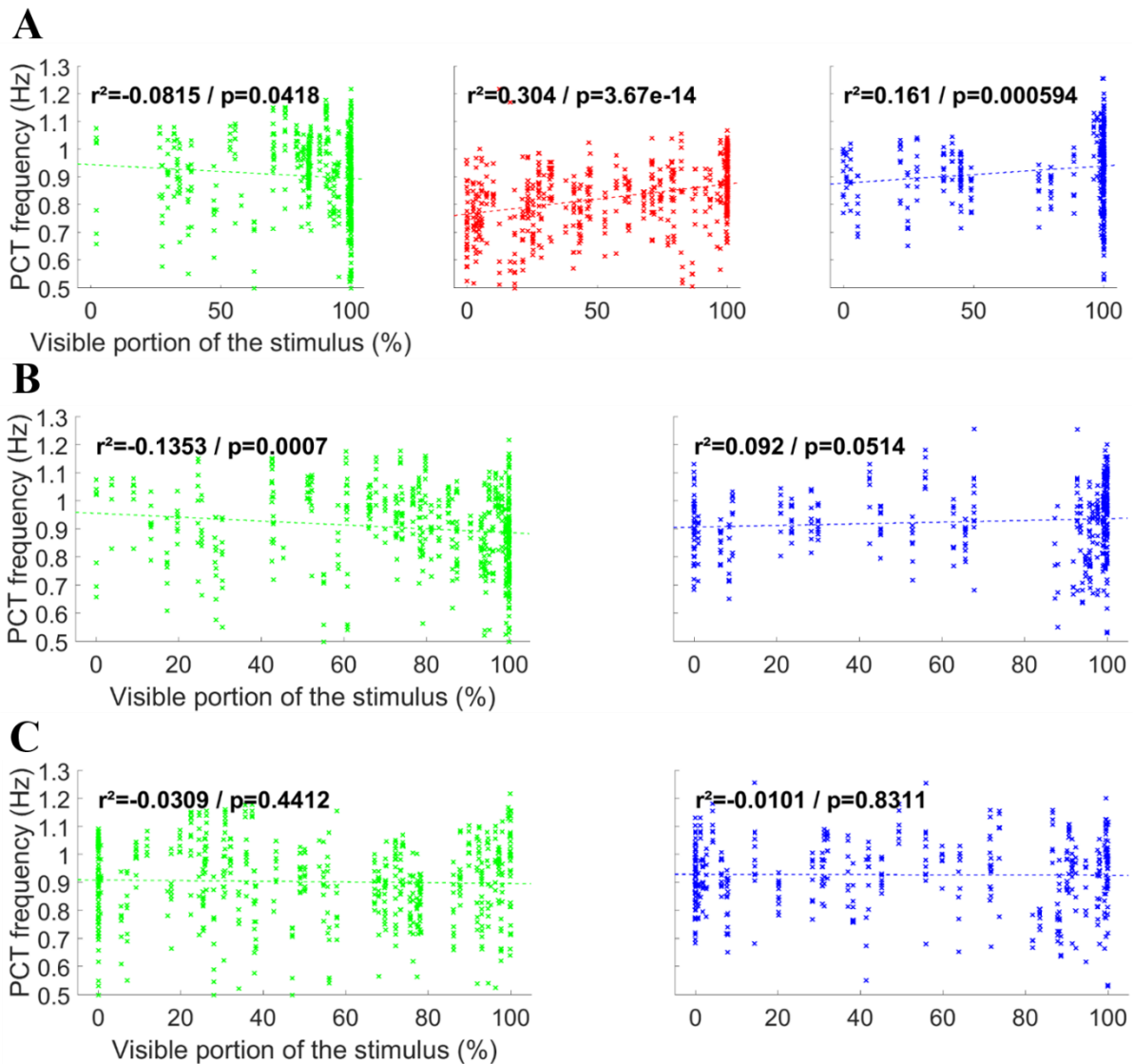


Figure 53 : Fréquence moyenne d'oscillation de la pupille en fonction du pourcentage du stimulus visible par les patients compte tenu de leur CV. Les points représentent les essais, en vert pour les MS, en rouge pour les RP et en bleu pour les NOHL. (A) Fréquence moyenne d'oscillation de la pupille lors de la stimulation en plein écran, en anneau périphérique et en région centrale, en fonction du pourcentage de la région visible compte tenu de la présence de scotomes absolus mesurés à l'isoptère V4. (B) Idem qu'en (A) avec uniquement les MS et les NOHL et en prenant en compte les scotomes relatifs mesurés à l'isoptère V1 comme des portions non vues. (C) Idem qu'en (B) avec isoptère III1. Le  $r^2$  indiqué sur chaque graphe représente le coefficient de corrélation de Pearson et est accompagné de sa pValue.

La Figure 53A montre la corrélation entre le pourcentage visible du stimulus et la fréquence d'oscillation pupillaire en utilisant les champs visuels mesurés à l'isoptère V4 qui doit être le plus étendu des champs visuels enregistrés car le point lumineux le plus gros et le plus lumineux est utilisé pour sa mesure. Cette corrélation est forte chez les patients RP, avec une fréquence qui augmente avec la proportion visible du stimulus. La même relation est visible chez les patients NOHL, plus la zone stimulée est saine, plus la fréquence augmente. Chez les patients atteints de maladie de Stargardt, la relation s'inverse mais la corrélation n'est pas significative. La corrélation observée chez les NOHL est très faible. On observe une forte

variabilité de la fréquence d'oscillation de la pupille empêchant de faire le lien avec la perte du champ visuel.

Le passage entre les régions saines du CV et les régions scotomateuses chez les MS et les NOHL étant douce avec parfois une perte progressive de sensibilité sur de larges surfaces, nous avons cherché à corrélérer la fréquence du PCT avec l'étendue de ces régions présentant une diminution relative de la sensibilité rétinienne. Pour ce faire, nous avons utilisé les isoptères V1, mesurés avec un point lumineux de la même taille que le V4 mais avec une intensité moindre (Figure 53B), et les isoptères III1 mesurés avec un point lumineux plus petit mais aussi intense que le V4 (Figure 53C). On observe, en particulier chez les MS, une meilleure dispersion des données suivant l'axe des abscisses correspondant à la proportion visible du stimulus. En utilisant les valeurs de CV mesurées à l'isoptère V1, la corrélation entre l'intégrité des régions du CV stimulées et la fréquence d'oscillation pupillaire qui y est mesurée devient significative pour les patients MS, avec toujours une fréquence d'oscillation qui diminue quand la sensibilité rétinienne augmente. A l'inverse chez les NOHL, le lien entre nos deux variables est plus faible avec l'isoptère V1. Les mesures de sensibilité rétinienne à l'isoptère III1 font disparaître la corrélation entre sensibilité rétinienne et fréquence d'oscillation de la pupille chez les MS et les NOHL.

Aucune relation n'a été trouvée entre la stabilité de la fréquence d'oscillation pupillaire et l'intégrité du CV (voir Annexe Figure 83).

La relation entre l'atteinte fonctionnelle du CV et l'atteinte structurelle de la rétine a déjà été établie pour la mesure de périmétrie et de campimétrie classique subjective (Wollstein et al, 2004 ; Danesh-Meye et al, 2006 ; Ajtony et al, 2007, Cho et al, 2009). Afin de mettre en relation nos données comportementales avec des données structurelles de l'œil, nous avons utilisé les valeurs d'épaisseur rétinienne données par l'OCT. Cette mesure se faisant sur un diamètre de 6 mm au fond de l'œil et autour de la fovéa, ce qui correspond dans le CV à environ 20° d'angle de vision, nous avons comparé ces valeurs aux valeurs des variables du PCT enregistré lors de la stimulation centrale qui présente un diamètre de 19° (les valeurs des OCT utilisés dans l'étude PupDyn sont disponibles en Annexe Figure 84). La fréquence d'oscillation moyenne ainsi que sa variabilité en fonction de l'épaisseur rétinienne mesurée sont présentées en Figure 54A-B.

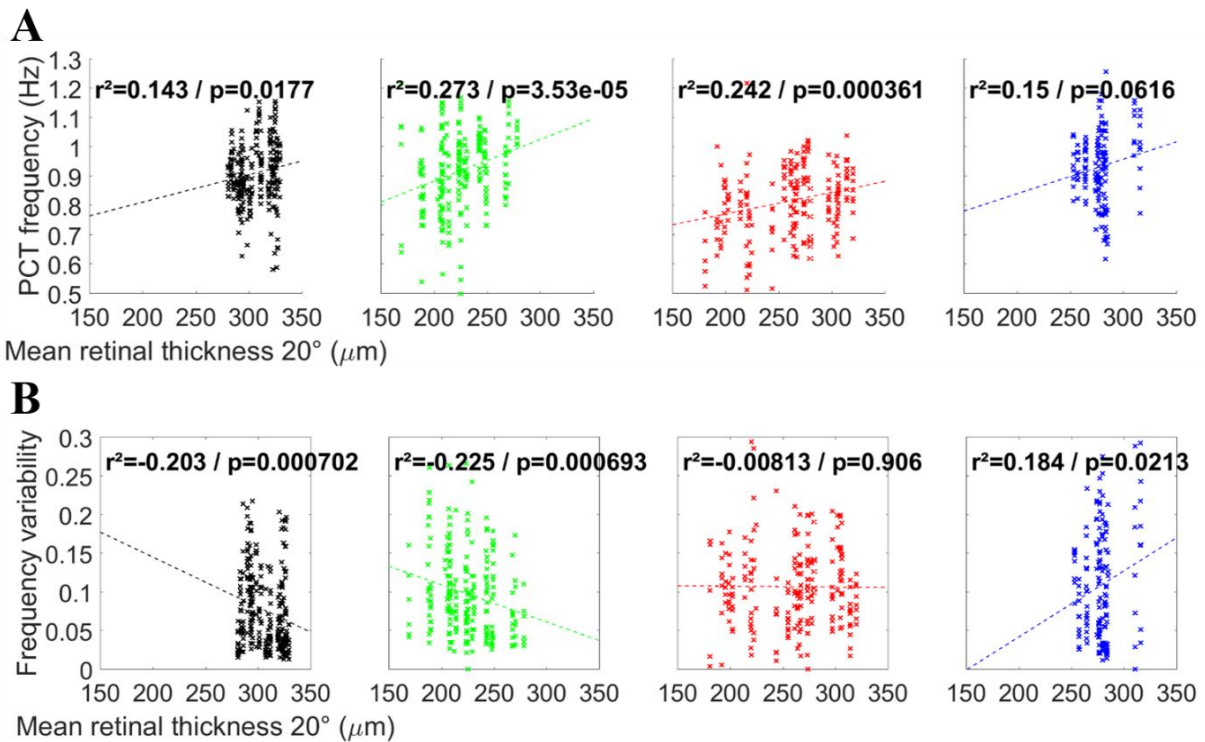


Figure 54 : Mise en relation de l'aspect fonctionnel de la réponse pupillaire et l'aspect structurel de la mesure de l'OCT chez les différentes populations PupDyn : Les sujets sains en noir, les patients MS en vert, les RP en rouge et les patients atteints de NOHL en bleu. (A) Fréquence du PCT enregistré en région centrale en fonction de l'épaisseur moyenne du centre de la rétine entourant la fovéa sur une région recouvrant environ 20° autour de l'axe visuel. (B) Variabilité de la fréquence d'oscillation de la pupille en fonction de l'épaisseur moyenne de la rétine.

Nous constatons que de façon attendue, les sujets contrôles présentent une épaisseur de rétine globalement supérieure à celle des autres populations de patients et en particulier par rapport aux patients MS qui présentent une épaisseur de rétine centrale très diminuée. Chez les RP, il y a une grande variabilité d'épaisseur de rétine centrale qui va dépendre de l'amplitude de l'atteinte et donc de la taille du CV intact au centre de la vision tubulaire. Les patients RP et les patients MS présentent une corrélation significative entre leur épaisseur rétinienne et leur fréquence d'oscillation. Chez les patients atteints de NOHL, on observe une forte tendance qui va dans le même sens : la fréquence du PCT croît avec l'épaisseur des couches cellulaires de la rétine. Les patients présentant les rétines les plus fines dans la région entourant la fovéa sont les patients MS. Ceux sont également eux qui présentent le lien le plus étroit entre épaisseur rétinienne et fréquence d'oscillation pupillaire. Les patients MS, tout comme les sujets contrôles, présentent également une variabilité de la fréquence d'oscillation pupillaire qui diminue avec l'épaisseur de la rétine. Chez les patients atteints de NOHL cette corrélation s'inverse et la variabilité de la fréquence du PCT augmente avec l'épaisseur rétinienne.

#### IV.4.D PCT et couleurs

Nous avons constaté une inégalité du temps d'oscillation ainsi que de la fréquence moyenne d'oscillation en fonction de la chromaticité du stimulus (gris, vert, bleu et rouge). La Figure 55 illustre ces différences en fonction des 4 populations testées.

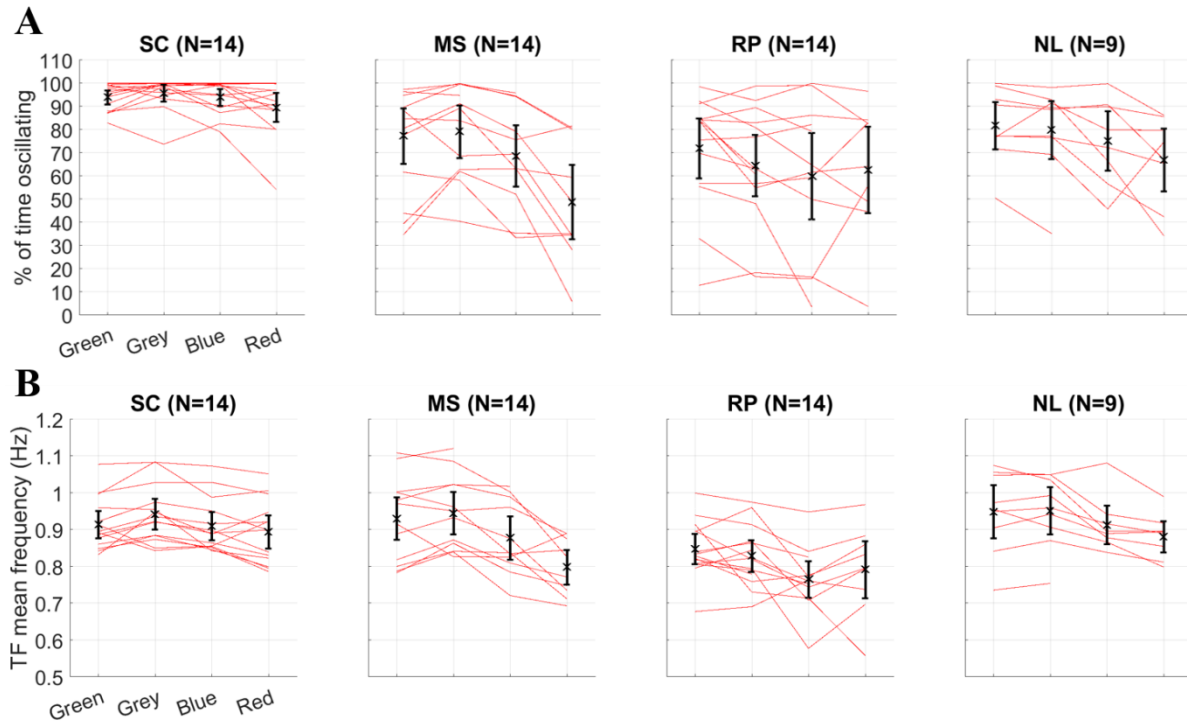


Figure 55 : Effet de la couleur du stimulus sur le PCT enregistré chez les populations PupDyn : les sujets contrôles (SC), les sujets atteints de la maladie de Stargardt (MS), les patients souffrants de rétinopathie pigmentaire (RP) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (NL). (A) Effet de la couleur sur le temps passé en oscillation (calculé depuis l'analyse temps-fréquence). (B) Effet de la couleur sur la fréquence d'oscillation pupillaire. Les courbes rouges représentent les moyennes par sujets (toutes conditions confondues) et les croix et les barres d'erreurs noires représentent les moyennes et les intervalles de confiance à 95% sur  $N$  sujets.

Chez les trois populations de patients, on note une grande variabilité inter-individuelle du temps d'oscillation tandis que pour le groupe contrôle ce taux reste assez stable entre les individus et pour les différentes couleurs de stimulus testées (Figure 55A). Ce taux semble être dépendant de la couleur du stimulus en particulier chez les MS chez qui le temps d'oscillation chute drastiquement dans le rouge pour 7 des 10 patients testés dans cette condition de chromaticité. Chez les RP et les NOHL, les variabilités inter-individuelles importantes nous empêchent de conclure quant à l'effet de la couleur sur le temps d'oscillation. La fréquence d'oscillation pupillaire présente quant à elle une variabilité inter-individuelle moins importante, ce qui rend la comparaison entre condition de chromaticité plus aisée (Figure 55B). Chez les participants sains, la fréquence d'oscillation pupillaire reste stable à travers les conditions de chromaticité tandis que chez la population de MS, la

condition rouge semble de nouveau sortir du lot avec une fréquence moyenne plus faible dans cette condition.

L'analyse statistique à l'aide d'un modèle linéaire généralisé permettant de calculer la probabilité de détecter un patient en se basant sur la fréquence d'oscillation moyenne au cours d'un essai en fonction de la couleur du stimulus et de la population testée est présentée en Figure 56.

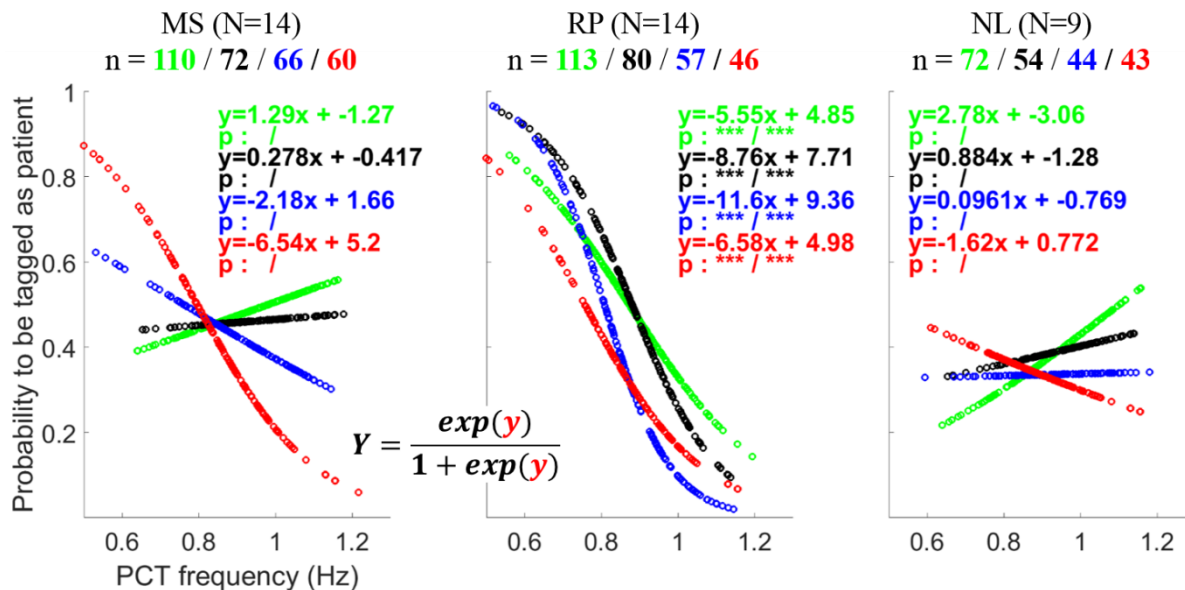


Figure 56 : Prédiction de la probabilité de discerner un patient de la population de contrôles selon les pathologies et les conditions de chromaticité testées (stimulation verte en vert, stimulation grise en noir, stimulation bleue en bleu et stimulation rouge en rouge), calculée par un modèle linéaire généralisé de type logit (GLM). Pour chaque modèle, les essais pour toutes les conditions de localisation, des 2 yeux et tous les sujets ont été poolées. Le n indique le nombre d'observations pour la population et la région concernées, comparées aux effectifs de la population contrôle qui sont de 115 observations pour le vert, 84 pour le gris, 87 pour le bleu et 84 pour le rouge. Les coefficients du GLM sont présentés accompagnés de leur pValue : ' ' : pValue > 0.05 ; '\*' : pValue < 0.05 ; '\*\*' : pValue < 0.001 ; '\*\*\*' : pValue < 0.0001.

Les patients atteints de MS sont mieux discriminés des contrôles par les valeurs de fréquence d'oscillation lors d'une stimulation rouge que lors des stimulations verte, grise et bleue qui n'apportent pas d'indice d'atteinte, ce qui est cohérent avec nos observations précédentes. Chez les patients RP chez lesquels la fréquence d'oscillation était significativement plus basse pour les 3 étendues de stimulation, la stimulation rouge est celle qui discrimine le moins les patients des contrôles, avec malgré tout une bonne discrimination dans cette condition. Les patients NOHL ne sont distingués de la population contrôle dans aucune des conditions de chromaticité.

## IV.5 Discussion

Nous avons montré que le PCT est affecté par des pathologies comme la névrite optique, la maladie de Stargardt, la rétinite pigmentaire et la neuropathie optique héréditaire de Leber. Nous avons vu que la stabilité de l'oscillation de la pupille lors d'une stimulation dont la luminance dépend de la taille de la pupille, est plus faible chez les patients atteints de MS, de RP et de NOHL, avec une diminution plus importante dans la région du champ visuel où l'on s'attend à trouver l'atteinte visuelle compte tenu du type de pathologie. Cette variable est en elle-même un bon indice de la présence d'une pathologie, néanmoins elle dépend en partie d'éléments externes à l'activité pupillaire comme la qualité de la fixation, le nombre de clignements, qui lui-même peut dépendre d'une photophobie (qui peut être liée à la pathologie ou non), une sécheresse oculaire, un état d'éveil etc. Il était donc important de ne pas s'arrêter uniquement à cette observation qui semble prometteuse et de poursuivre les analyses afin d'obtenir entre autre la fréquence d'oscillation du PCT. Celle-ci est affectée différemment suivant les pathologies des patients étudiés, et selon la localisation et la chromaticité du stimulus.

Les patients atteints de rétinite pigmentaire présentent un comportement qui diffère de celui des sujets contrôles avec en moyenne une fréquence plus basse pour toutes les conditions de localisation du stimulus et particulièrement pour la stimulation en périphérie correspondant à la localisation des atteintes du CV chez ces patients. La fréquence moyenne d'oscillation pupillaire chez les patients RP est en effet corrélée avec l'intégrité du CV et la portion vue du stimulus. Cette corrélation est moins évidente chez les patients présentant des atteintes centrales.

Si l'on a montré que l'induction du PCT chez les patients NOHL est plus difficile, en particulier dans la région centrale du CV, leur fréquence d'oscillation pupillaire ne diffère pas de façon significative de celle des contrôles. Néanmoins l'oscillation pupillaire ralentit significativement avec l'augmentation de l'ampleur des scotomes absolus, lien qui diminue et disparaît lorsqu'on prend en compte la perte de sensibilité rétinienne partielle.

Contrairement à nos attentes, la fréquence des patients atteints de maladie de Stargardt augmente avec l'ampleur des scotomes absolus et relatifs au V1, ce qui est assez étonnant puisqu'on observe une diminution significative de leur fréquence d'oscillation lors de la stimulation en centrale.



Il est intéressant de noter que chez les patients présentant une atteinte centrale, le comportement pupillaire lors du PCT corrèle mieux avec les données d'atteintes structurelles de la rétine qu'avec les données d'atteintes fonctionnelles des champs visuels, que ce soit au niveau de la moyenne ou de la variabilité de la fréquence d'oscillation pupillaire. Cela pourrait être expliqué par la difficulté rencontrée d'enregistrer un CV subjectif fiable chez ces patients qui doivent fixer un point en vision centrale, qu'ils ne peuvent pas voir, tout en indiquant quand le point lumineux mesurant l'isoptère apparaît et disparaît de leur champ de vision. Une autre explication possible est que la surface des stimuli utilisés ici est importante, et que des recouvrements partiels avec des régions scotomateuses ne modifient pas le cycle temporel des régions « saines » qui imposent le rythme d'oscillation reflétant le cycle rétine-nerf optique-pupille, qui n'est pas nécessairement atteints chez les patients étudiés ici, contrairement aux patients présentant une atteinte du nerf optique, où la démyélinisation des axones augmente le temps de conduction (comme dans la sclérose en plaque ou les névrites optiques), ralentissant ainsi la fréquence du PCT. On s'attend en revanche à observer une diminution de l'amplitude de l'oscillation. Pour s'en assurer, il faudrait analyser la puissance spectrale à la fréquence du PCT. Ce calcul n'a pas pu être réalisé de façon fiable, les caméras du dispositif d'enregistrement étant à une distance variable, la taille de la pupille mesurée par l'oculomètre est modifiée d'un essai à l'autre et les puissances spectrales également.

A l'inverse, chez les patients atteints de rétinite pigmentaire le comportement pupillaire reflète mieux l'atteinte fonctionnelle sur le CV que l'épaisseur de la rétine. D'une part il est plus aisé chez ces patients de mesurer un CV subjectif fiable car ils ont une meilleure capacité de fixation puisqu'une meilleure acuité et il est souvent plus facile d'indiquer l'apparition du point de l'isoptère que sa disparition. D'autre part, la rétinite pigmentaire affecte principalement les bâtonnets, mais également les cônes dans un second temps, et pour finir une partie des RGC subissant une dégénérescence trans-neuronale faisant suite à la suppression rapide des contributions des photorécepteurs (Stone et al, 1992) ; les RGC restantes conservant une activité synaptique normale (Margolis et al, 2008). Une hypothèse expliquant que l'épaisseur rétinienne observée chez ces patients est considérablement diminuée en rétine centrale où la vision est épargnée serait qu'il y a une diminution du nombre d'axones des RGC périphériques longeant la rétine pour se projeter dans le nerf optique, réduisant ainsi l'épaisseur globale de la rétine même là où il n'y a pas de perte de RGC. Cela pourrait expliquer la corrélation plus faible chez ces patients entre l'épaisseur de la rétine centrale supposée être saine et la fréquence du PCT stimulé dans cette région du CV.

Nous avons observé que la chromaticité du stimulus influe sur les variables du PCT avec en particulier un stimulus rouge qui semble impacter l'induction de l'oscillation pupillaire ainsi que sa fréquence et sa stabilité. De par le protocole utilisé, cet effet de la chromaticité sur les variables du PCT est discutable. En effet, l'importance de la détérioration du PCT, son ralentissement et son instabilité est à mettre en relation direct avec l'ordre de passation des tests (disponible en Annexe Tableau 2). On observe que la « détérioration » du PCT augmente au fur et à mesure des enregistrements de sorte qu'il est possible que cet effet soit lié à la fatigue et pas seulement aux couleurs utilisées. Au cours de la séance de pupillométrie d'une durée de 2h, les participants étaient plongés dans l'obscurité, ce qui favorisait l'apparition de somnolence. Si les participants étaient plus fatigués et somnolents en fin de séance qu'à son début, on peut imaginer que cela puisse causer une diminution de la durée, de la vitesse et de la stabilité de l'oscillation. Une étude de 2015 a en effet montré une diminution de l'amplitude de la dilatation pupillaire évoquée par une tâche mentale lors de la répétition de cette tâche et l'apparition d'une « fatigue mentale » (Hopstaken et al, 2015). Dans notre cas, le stimulus visuel étant modulé en luminance, il devrait constituer l'inducteur principal des réponses pupillaires, sans charge cognitive particulière. Mais le stimulus dépendant de l'oscillation de la pupille elle-même, il est possible que la durée et la répétition des tests entraîne un désengagement attentionnel voire une somnolence, susceptible d'augmenter la variabilité inter et intra-individuelle. Si c'était en effet le cas, les effets de « détérioration » du PCT que nous avons observés constitueraient un index de ces aspects cognitifs et devraient être pris en compte lors d'examens visuels.

## **IV.6 Conclusion**

Nos travaux ont montrés des résultats encourageant quant à l'utilisation du PCT comme nouvelle méthode objective pour la détection de pathologies oculaires affectant différents tissus réiniens.

La névrite optique, causant une démyélinisation des axones des cellules ganglionnaires réiniennes et donc des faisceaux du nerf optique, va ralentir l'activité pupillaire et donc la fréquence moyenne d'oscillation du PCT tout en augmentant sa variabilité, apportant un outil prometteur de détection de la pathologie.

Les patients atteints de maladie de Stargardt, pathologie affectant les cônes, présentent une difficulté particulière à l'induction de l'oscillation pupillaire couplée à une diminution de la fréquence du PCT lors de la stimulation en région centrale qui permet de les discerner des

sujets sains. L'activité pupillaire lors du PCT corrèle mal avec l'atteinte visuelle décrite par l'exploration subjective du CV mais reflète bien l'atteinte structurale de la rétine décrite par l'épaisseur de la rétine centrale mesurée par l'OCT.

Les patients atteints de rétinite pigmentaire présentent une atteinte plus généralisée de l'activité pupillaire lors de la mesure du PCT avec une grande difficulté à l'entraînement de l'oscillation pupillaire ainsi que son ralentissement dans toutes les régions du CV avec néanmoins un effet plus prononcé encore en région périphérique, ce qui reflète la corrélation trouvée entre atteinte du CV dans les régions stimulées et fréquence de l'oscillation pupillaire.

La fréquence et la stabilité de l'oscillation pupillaire chez les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber ne reflète pas bien les atteintes du CV. Néanmoins ils restent discernables des sujets contrôles par la difficulté à entraîner le PCT en particulier en région centrale et sont également discernables des patients MS dont les atteintes visuelles et la fréquence du PCT sont inversement corrélées.

Une grande force du PCT est son indépendance vis-à-vis de l'amplitude d'oscillation de la pupille, ce qui le rend utilisable même chez des personnes présentant des mouvements pupillaires de faible amplitude comme par exemple les personnes âgées chez qui la taille moyenne et la tonicité de la pupille sont réduites.

Le PCT localisé utilisé dans des régions stratégiques du CV, et couplé avec des données structurales permet de discriminer différents types d'atteintes visuelles. Des analyses complémentaires seraient nécessaires pour préciser les relations entre fréquences du PCT et diverses variables (âge, taille absolue de la pupille, par exemple), pour mieux déterminer des valeurs de référence dans les populations étudiées.

# V La mesure de l'activité pupillaire par marquage fréquentiel (PFT)

## V.1 Description

Le marquage fréquentiel d'activités physiologiques est une méthode largement utilisée, par exemple en électro-encéphalographie (EEG). Lors de la mesure d'un électro-encéphalogramme, une stimulation visuelle lumineuse et intermittente à une fréquence temporelle connue entraîne au niveau du cortex visuel des réponses à la même fréquence ou à des harmoniques de cette fréquence (Niedermeyer & da Silva, 2005). Il est ainsi possible d'examiner de façon objective l'intégrité des voies visuelles, de la rétine au cortex. Cependant cette méthode impose la mise en place d'électrodes pour un résultat qui peut être bruité puisque le signal, très faible et devant être amplifié, est sujet à des perturbations de tout champ magnétique situé à proximité. Il est possible d'envoyer un stimulus composé de différentes fréquences temporelles, ce qui est utilisé en particulier pour l'étude de la rivalité binoculaire (Zhang, Jamison, Engel, He & He, 2011 ; Aissani et al, 2011).

Nous réutilisons ici le principe du marquage fréquentiel multifocal en l'appliquant à la pupille. Pour cela, nous avons conçu un stimulus composé de plusieurs secteurs répartis dans le CV, chacun étant modulé en luminance à une fréquence temporelle spécifique adaptée à la dynamique de la pupille (voir Figure 64). L'observation de ce stimulus pendant 45 secondes entraîne des changements du diamètre pupillaire qui doivent refléter l'ensemble des modulations locales de luminance chez le sujet sain. Une analyse de Fourier du signal pupillaire enregistré, permet de déterminer quelles fréquences du spectre ont contribué à la réponse pupillaire, en calculant les puissances spectrales, qui nous intéressent en particulier pour les fréquences de stimulation choisies (fréquences d'intérêt). L'absence de réponse à une fréquence d'intérêt permet d'identifier une région non-fonctionnelle du CV de façon objective et rapide, sans qu'il soit nécessaire d'imposer une tâche et de demander une réponse du sujet, contrairement aux mesures de CV réalisées en routine clinique en ophtalmologie, où il est demandé au patient de rapporter la présence d'une cible.

L'hypothèse est donc que la pupille d'un sujet ne présentant pas de déficit du CV répondra à toutes les fréquences contenues dans le stimulus. En cas de présence de scotome recouvrant l'un des secteurs du stimulus, la puissance du signal à la fréquence d'intérêt spécifique à ce

secteur sera nulle ou faible puisque le substrat rétinien susceptible de moduler le diamètre pupillaire est défectueux.

Avant de mettre en œuvre cette méthode avec des patients, une première étape a consisté à paramétrer et calibrer le dispositif (nombres de secteurs, choix des fréquences, localisation des secteurs, amplitude et durée des modulations induites, stabilité des réponses, etc.). Les résultats de ces études préliminaires sont présentés ci-après.

## V.2 Etudes préliminaires chez des sujets sains

### V.2.A Choix des fréquences

D'après l'étude de Clarke et al, 2003a, il est possible d'entraîner une oscillation de la pupille à une fréquence donnée en utilisant un stimulus temporel sinusoïdal de cette fréquence d'intérêt. Par ailleurs, comme le montre la Figure 57 issue de cette même étude, si la pupille suit bien une oscillation de faible fréquence (ex : 0.2 Hz pour la Figure 57A), l'amplitude de l'oscillation pupillaire diminue quand la fréquence augmente (ex : 2.0 Hz pour la Figure 57D) jusqu'à disparaître à des fréquences plus élevées (ex : 4.0 et 10 Hz pour la Figure 57E-F).

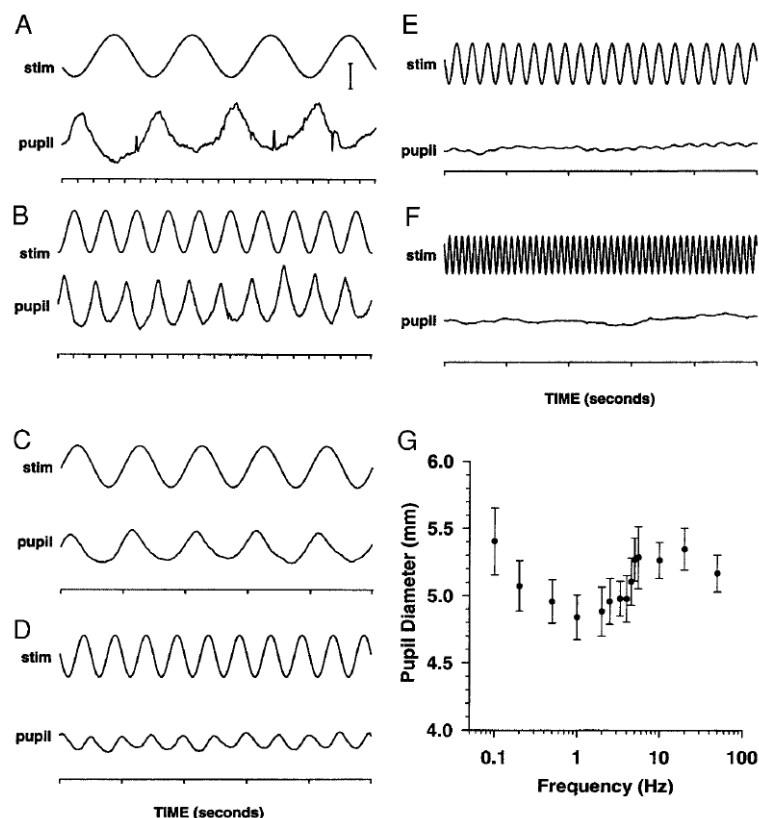


Figure 57 : Réponses de la pupille à des stimuli binoculaires sinusoïdaux de différentes fréquences temporelles. La barre verticale en A représente une variation de la taille de la pupille de 1 mm. (A) 0.2 Hz ; (B) 0.5 Hz ; (C) 1.0 Hz ; (D) 2.0 Hz ; (E) 4.0 Hz ; (F) 10 Hz ; (G) Diamètre pupillaire moyen lors d'une illumination sinusoïdale pour des fréquences temporelles entre 0.1 et 50 Hz. Issue de Clarke et al, 2003a.

Nous nous sommes appuyés sur ces résultats pour concevoir nos protocoles et détailler les fréquences au-delà desquelles le mouvement pupillaire ne suit plus la luminance du stimulus, ainsi que la dépendance de cette fréquence aux caractéristiques du stimulus (luminance, étendue, position, etc.).

Pour commencer, nous avons étudié l'effet de la fréquence sur l'oscillation pupillaire en utilisant nos routines d'analyses en partie développées au cours de l'étude sur le PCT chez les patients atteints de névrite optique.

Pour ce faire, nous avons enregistré à l'aide d'un oculomètre (EyeLink II, SR Research, taux d'échantillonnage : 500Hz) l'activité pupillaire d'un sujet sain lors de la fixation d'un disque affiché au centre d'un écran LCD. Nous avons ensuite réalisé des cartes temps-fréquence sur le signal pupillaire après nettoyage des clignements et des pertes de signal (traités par interpolation).

Nous avons testé les fréquences suivantes lors d'enregistrements au cours desquels la fréquence de modulation de la luminance variait toutes les 30 secondes en prenant les valeurs suivantes :

1.00 Hz – 1.50 Hz – 1.75 Hz – 2.00 Hz – 2.50 Hz – 3.25 Hz – 3.75 Hz – 4.17 Hz – 4.70 Hz

Les stimuli utilisés ainsi que les cartes temps-fréquence résultantes sont visibles en Figure 58.

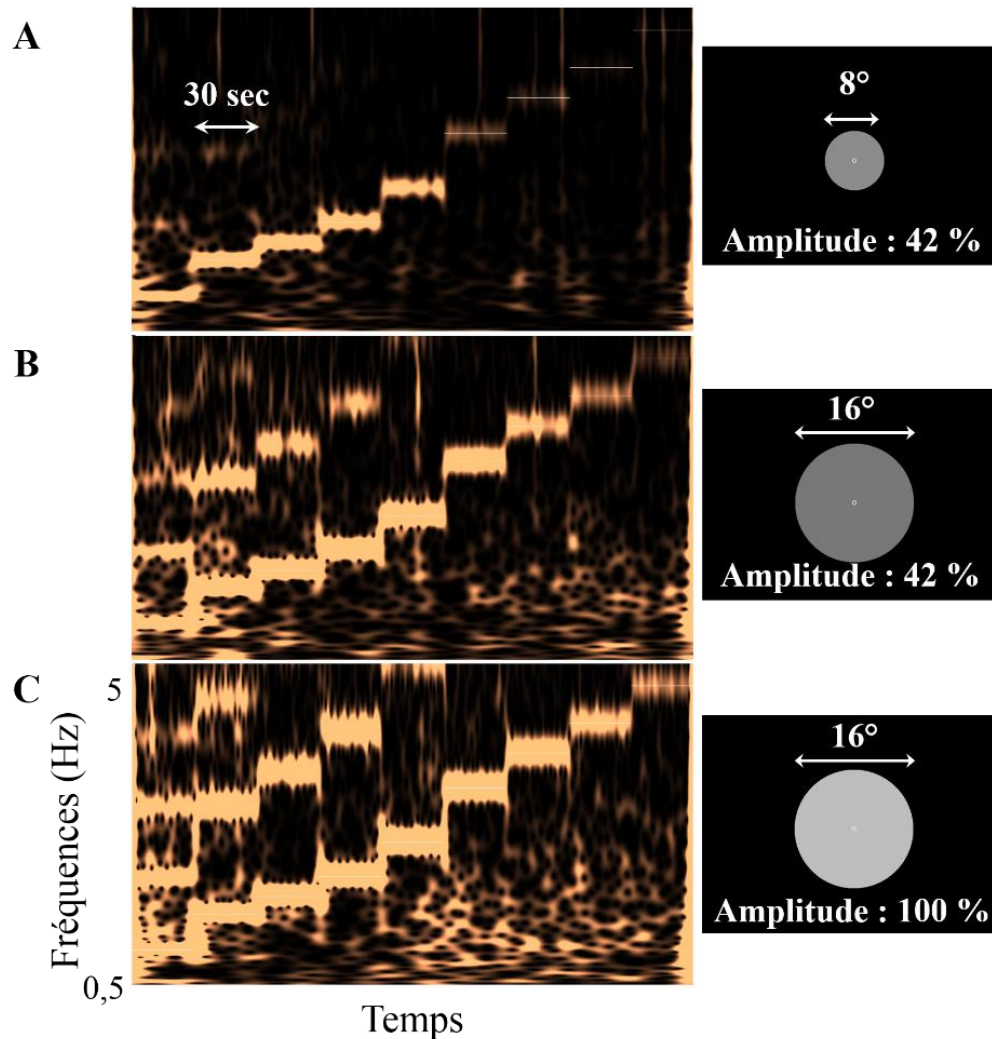


Figure 58 : Etude paramétrique préliminaire au PFT : Cartes temps fréquences de l'oscillation de la pupille ; effet de la fréquence, la taille et l'amplitude de la variation de luminance du stimulus sur la puissance spectrale de l'oscillation de la pupille aux différentes fréquences d'intérêt ; code couleur : plus la couleur est claire, plus la puissance est élevée. (A) Carte temps-fréquence du signal pupillaire lors de la stimulation avec un disque de  $8^\circ$  de diamètre dont la luminance oscille à une fréquence variable avec une amplitude de 42% des capacités de l'écran. (B) Idem qu'en A avec un disque de  $16^\circ$  de diamètre. (C) idem qu'en B avec une amplitude d'oscillation de 100%. La durée de stimulation est de quatre minutes et demie, découpées en périodes de 30 secondes.

On observe en Figure 58A que la puissance d'oscillation chute drastiquement lorsque la fréquence du stimulus dépasse 3.00 Hz et que l'oscillation pupillaire est inexistante pour les fréquences au-delà de 4.00 Hz.

Nous avons tenté d'améliorer l'amplitude de la réponse pupillaire en modifiant les caractéristiques du stimulus. La Figure 58B montre les résultats obtenus en doublant le diamètre du disque de stimulation. La puissance est globalement augmentée à toutes les fréquences d'intérêt, en particulier dans les fréquences hautes : les puissances dans les fréquences entre 3 et 4 Hz sont améliorées et une réponse pupillaire commence à être visible pour les fréquences au-delà de 4 Hz. Il est à noter que la modification de la taille du stimulus

a des conséquences sur l'ensemble du spectre puisque les harmoniques des fréquences d'oscillation les plus basses sont observables. On observe également une augmentation de la proportion dans le signal du bruit dans les basses fréquences lors de la stimulation à des fréquences plus élevées.

Lors de l'augmentation de l'amplitude d'oscillation de la luminance du stimulus de 42 à 100% des capacités de l'écran, la puissance globale aux fréquences d'intérêt est augmentée (Figure 58C). Les harmoniques secondaires et tertiaires des basses fréquences sont clairement visibles et le bruit dans les basses fréquences est globalement plus marqué.

Ces harmoniques et les produits d'intermodulation (sommés et différences des fréquences d'intérêt) indiquent l'existence de non-linéarités, soit du système pupillaire, soit du système de stimulation. Les latences et la tonicité des mouvements de la pupille étant différentes entre la constriction qui est relativement rapide et la dilatation qui est plus lente. On peut attendre que le signal pupillaire ne soit pas parfaitement sinusoïdal générant ainsi du bruit, des réponses aux harmoniques et aux produits d'intermodulation observables dans le spectre de la pupille.

A fréquence élevée, l'augmentation de la puissance est plus importante lors de l'augmentation de la surface du stimulus que lors de l'augmentation de l'amplitude de l'oscillation lumineuse (voir également Annexe Figure 86). Cet effet est attendu et reflète le recrutement d'une population plus importante de cellules contribuant à la réponse pupillaire.

Les contraintes pour développer le stimulus sont donc :

- Ne pas utiliser des fréquences trop hautes
- Utiliser une surface et une amplitude d'oscillation suffisantes pour entraîner une réponse pupillaire
- Prendre garde aux harmoniques et aux autres produits d'intermodulations lors du choix des fréquences de marquage pour éviter au maximum les interférences entre les fréquences.

## **V.2.B Design du stimulus**

L'objectif des études suivantes était d'évaluer le nombre de secteurs, et donc le nombre de fréquences de stimulation, qu'il était possible de multiplexer afin d'étudier le plus finement et le plus rapidement possible le champ visuel, tout en conservant une distribution des puissances des réponses pupillaires aux fréquences d'intérêt qui reflètent l'intégrité du tissu



rétinien dans les différentes régions testées. La Figure 59 illustre l'évolution du développement du stimulus.

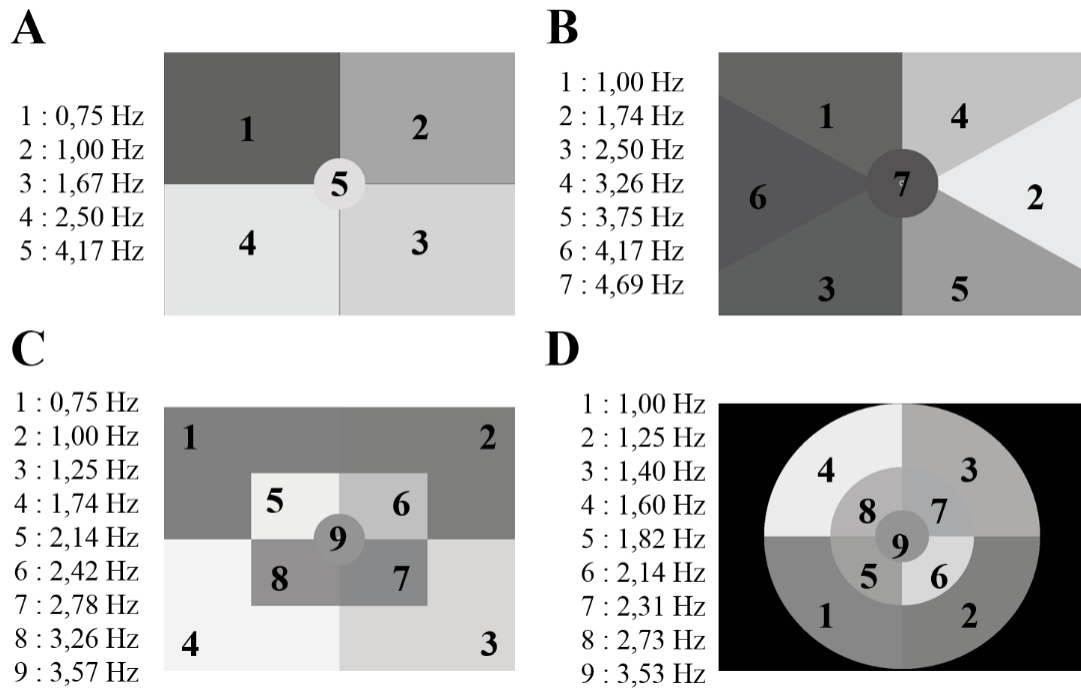


Figure 59 : Design des stimuli des expériences préliminaires à la mise en place du PFT.

En Figure 59A le premier stimulus testé présentait 5 secteurs et autant de fréquences de marquage. Les résultats étant concluants, nous avons augmenté le nombre de secteur afin d'être en cohérence avec l'objectif d'utilisation de ce test et de maximiser la précision de l'évaluation du CV. Nous avons donc testé le stimulus présenté en Figure 59B avec 7 fréquences, puis le stimulus en Figure 59C avec 9 fréquences. Nous sommes montés jusqu'à 13 secteurs mais les résultats n'étaient pas satisfaisants. Nous avons donc continué le travail sur le stimulus à 9 fréquences et sommes passés à des secteurs circulaires dont la taille et le design se rapproche le plus du type de mesure CV réalisée en clinique afin de faciliter la comparaison des résultats entre notre mesure du CV par pupillométrie dynamique et la mesure du CV classique subjective (Figure 59D).

La Figure 60 montre l'effet de la séparation des secteurs du stimulus sur les spectres du signal pupillaire. Quatre sujets sains ont été stimulés avec les deux stimuli illustrés en encarts sur la figure.

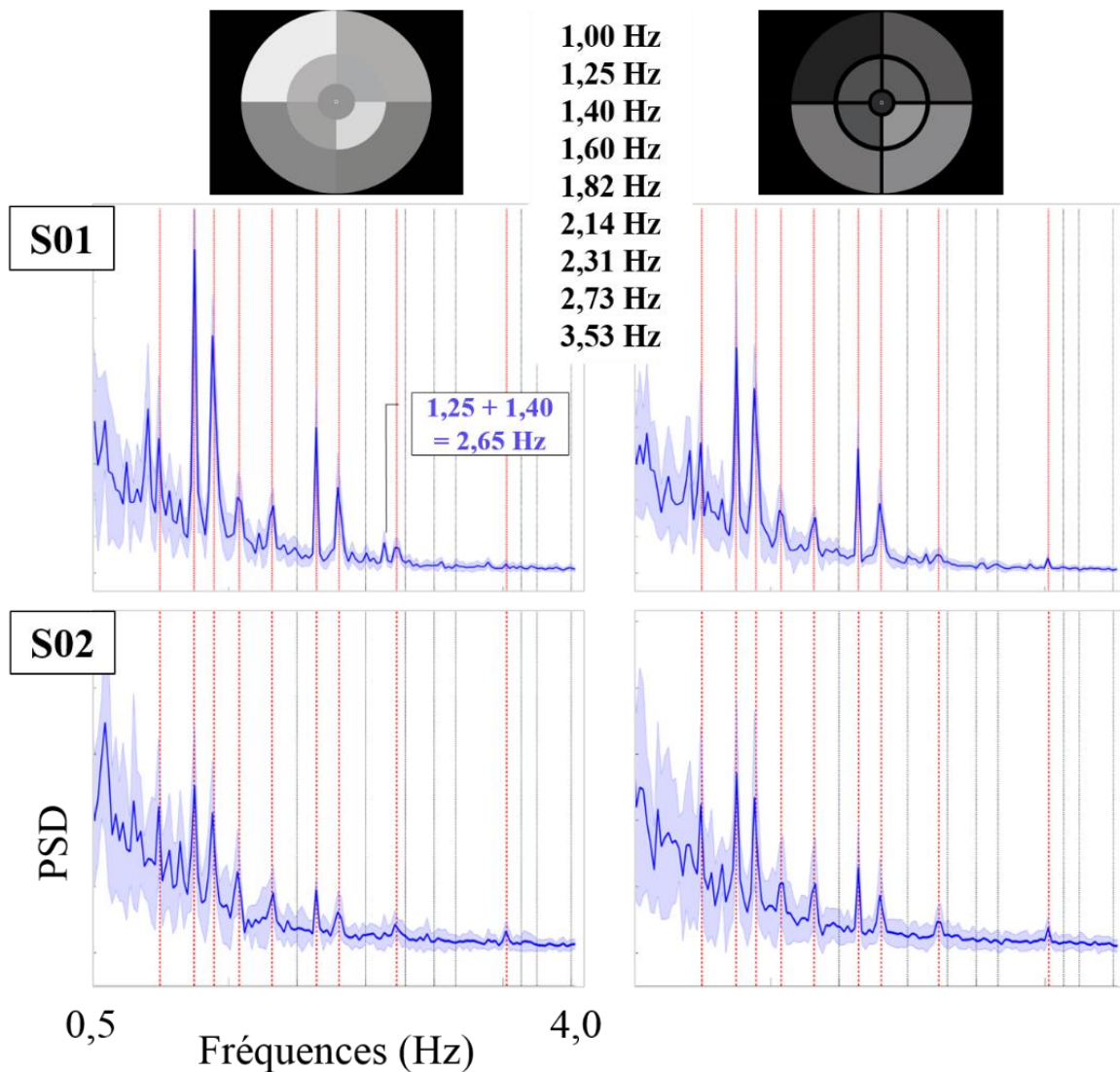


Figure 60 : Effet de la séparation des secteurs sur les spectres des signaux pupillaires de deux des quatre sujets sains stimulés en monoculaire avec 9 fréquences d'oscillation de luminance et autant de secteurs, accolés (à gauche) ou séparés (à droite). Les courbes bleues épaisses représentent la moyenne des spectres de 12 essais (4 conditions de positionnement des fréquences répétées trois fois chacune) et les barres d'erreurs les intervalles de confiance à 95% sur ces 12 spectres.

Les résultats du premier sujet montrent une diminution de la hauteur des pics aux fréquences d'intérêt avec la séparation des secteurs de stimulation. En revanche il est intéressant de noter que la réduction de ces pics s'accompagne d'une diminution générale du bruit et en particulier des produits d'intermodulation comme celui pointé sur la figure. Une amélioration de la définition du pic de la plus haute fréquence est également à noter avec la séparation des secteurs. En ce qui concerne le second sujet présenté, le bruit dans les basses fréquences qui est très présent sur le spectre lors de la stimulation avec les secteurs accolés a tendance à s'atténuer légèrement et ainsi à améliorer la définition des pics aux fréquences d'intérêt par l'amélioration du rapport signal sur bruit.

Nous avons donc choisi de conservé la séparation des secteurs du stimulus pour l'étude clinique PupDyn.

Nous notons également que les puissances spectrales aux fréquences d'intérêt ne semblent pas suivre de façon stricte la distribution classique d'un spectre présentant du bruit en « 1/f », dont l'amplitude est inversement proportionnelle à la fréquence. Certains pics, comme ceux observés à 2.14 et 2.31 Hz semblent plus puissants que ceux observés à 1.60 et à 1.82 Hz. Nous avons cherché à comprendre cette non linéarité des réponses en posant l'hypothèse que la pupille répond de façon plus importante non pas à certaines fréquences, mais à certaines localisations dans le champ visuel comme le suggère la littérature précédemment citée en chapitre « II.2.B.b.ii La spatialisation du stimulus ».

### V.2.C Disparité rétinienne et positionnement des fréquences

Il existe une hétérogénéité de la sensibilité pupillaire et la stimulation de la rétine centrale entraîne une réponse pupillaire plus importante qu'une stimulation de la rétine périphérique. Or une étude a également montré qu'il existe une hétérogénéité de l'amplitude du PLR en fonction de la localisation du stimulus dans le CV : à excentricité égale, les différents quadrants de la rétine n'ont pas la même sensibilité (Wilhelm et al, 2000 ; voir Figure 61).

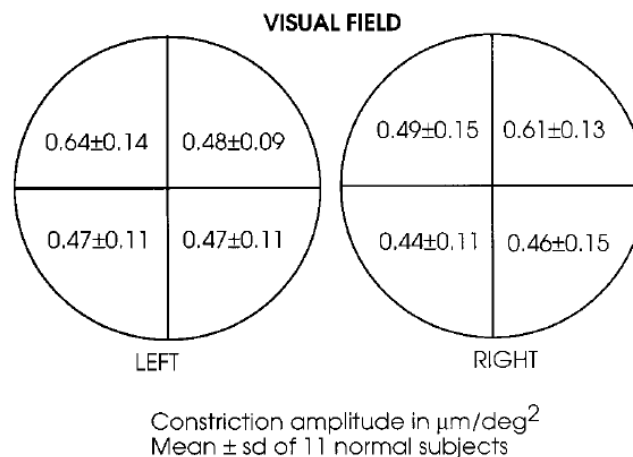


Figure 61 : Hétérogénéité de la sensibilité pupillaire en fonction de la localisation du stimulus lors de la mesure de l'amplitude du PLR. Issue de Wilhelm et al, 2000. Résultats moyen chez 11 sujets sains sur un diamètre total de 50° du CV central.

D'après les résultats de cette étude, le quadrant temporel supérieur du CV présente une sensibilité plus importante que les trois autres quadrants. Selon eux, l'hémichamp temporel est globalement plus sensible que l'hémichamp nasale.

Dans la mesure où notre test pupillométrique a pour but d'évaluer la fonctionnalité du CV en se basant sur les réponses pupillaires, il est important de vérifier que cette hétérogénéité dans

les hémichamps se conserve avec une stimulation sinusoïdale de longue durée. La Figure 62A montre les résultats pour deux sujets des transformées de Fourier réalisées sur le signal pupillaire de l'œil gauche de deux sujets (enregistré à 500Hz avec l'EyeLink II) lors de la stimulation monoculaire en quadrachamps avec deux fréquences temporelles d'oscillation de luminance. L'écran de stimulation (représenté en encarts sur la figure) fait 40° de large sur 25° de haut.

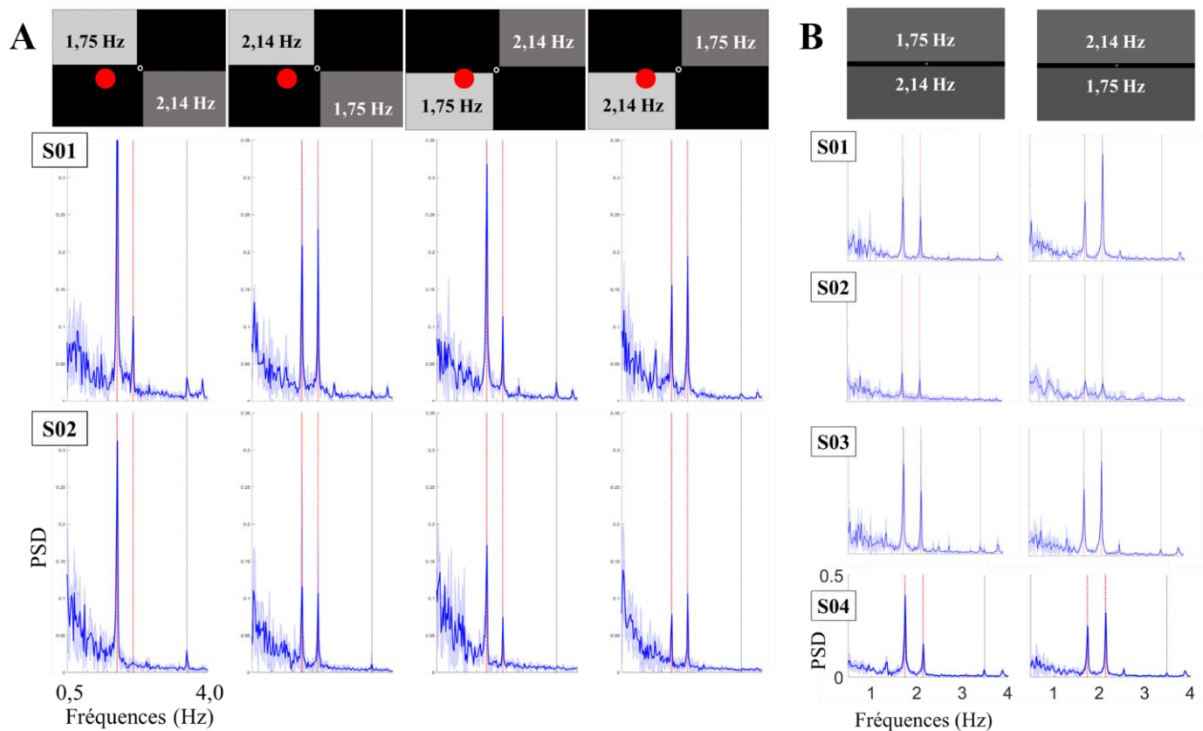


Figure 62 : Les courbes bleues épaisses représentent la moyenne des spectres de 3 répétitions pour chaque condition et les barres d'erreurs les intervalle de confiance à 95% sur ces 3 essais. Les droites verticales rouges indiquent les fréquences d'intérêt présentes dans les stimuli et la droite verticale noire la première harmonique de la fréquence d'intérêt la plus basse. On note que le produit d'intermodulation est présent sur certains spectres (à l'extrême droite :  $2.14 + 1.75 = 3.89$  Hz). (A) Moyennes des spectres des FFT calculées sur les signaux pupillaires de deux sujets sains en réponse à une stimulation monoculaire de l'œil gauche par 2 quadrants à deux fréquences d'oscillation. Sur chaque encart montrant le stimulus, le disque rouge représente la zone où se localise la tâche aveugle dans le CV. (B) Moyennes des spectres des FFT calculées sur les signaux pupillaires de quatre sujets sains en réponse à une stimulation binoculaire par 2 hémichamps à 2 fréquences d'oscillation.

On observe pour ces deux sujets des résultats très similaires avec des disparités de puissances pour chacune des deux fréquences en fonction de leur positionnement dans le CV. Pour les deux sujets et pour les deux fréquences, les puissances maximales sont atteintes lorsque la fréquence d'intérêt correspond à une région située dans l'hémichamp temporal, en accord avec les résultats de Wilhelm et al de 2000. Aucune disparité entre quadrachamp nasal supérieur et quadrachamp nasal inférieur ne semble présente, mais le nombre limité d'observations ne permet pas une analyse statistique. En revanche, la puissance de

quadrachamp temporal supérieur semble nettement plus importante que la puissance dans le quadrachamp temporal inférieur pour la fréquence la plus basse. La fréquence plus élevée ne semble pas ou moins sensible à la position supérieure ou inférieure de l'hémichamp. Ces résultats sont comparables à ceux de la littérature sur le PLR. Il est par ailleurs intéressant de noter que cette disparité entre les quadrachamps temporeux inférieurs et supérieurs est cohérente avec la présence de la tâche aveugle liée au disque optique formé par la tête du nerf optique sur la rétine et dont le scotome se projette dans le quadrachamp temporal inférieur, et se situe à 13-15° de l'axe visuel et mesure environ 6° de haut pour 4.5° de large (Churchland & Ramachandran, 1994).

La Figure 62B illustre les FFT obtenues sur le signal pupillaire de 4 sujets sains lors de la stimulation binoculaire en deux hémichamps (haut/bas) oscillant à deux fréquences d'intérêts distinctes. Les résultats des sujets sont similaires et montrent que l'hémichamp supérieur est plus sensible que l'hémichamp inférieur.

La disparité de sensibilité de la réponse pupillaire lors de la mesure du PLR est donc conservée avec un stimulus multifocal marqué en fréquences sinusoïdales.

Dans la continuité de ces résultats, nous avons étudié la réponse pupillaire à des fréquences sinusoïdales temporelles de modulation de la luminance à différentes excentricités.

## **V.2.D Excentricité et fréquences**

Comme il existe une inégalité de perception des fréquences spatiales en fonction de l'excentricité du stimulus (liée à la mosaïque des photorécepteurs), nous nous sommes demandé s'il existe un lien entre fréquence temporelle et excentricité. La diminution de l'amplitude du PLR avec l'excentricité du stimulus s'accompagne d'une modulation de la latence : plus le stimulus est excentré, plus l'amplitude de la constriction est faible et plus la latence pour atteindre la taille minimale de la pupille est faible (contrairement à la latence de début de constriction qui augmente pour des excentricités importantes ; Wilhelm et al, 2000). Il y a donc un équilibre à trouver entre l'amplitude et la vitesse de la réponse pupillaire puisqu'une fréquence d'oscillation élevée ne laisse pas le temps à la pupille de développer une grande amplitude de réponse (Clarke et al, 2003a).

Afin d'optimiser notre stimulus, nous avons cherché à trouver le meilleur compromis en testant chez quatre sujets sains différentes dispositions de fréquences, en plaçant les fréquences les plus élevées au centre du stimulus et les plus faibles en périphérie et

inversement. La Figure 63A montre les 4 dispositions testées et répétées 8 fois chacune en 2 blocs de 16 essais (2 blocs x 4 conditions x 4 répétitions) chez ces quatre sujets sains.

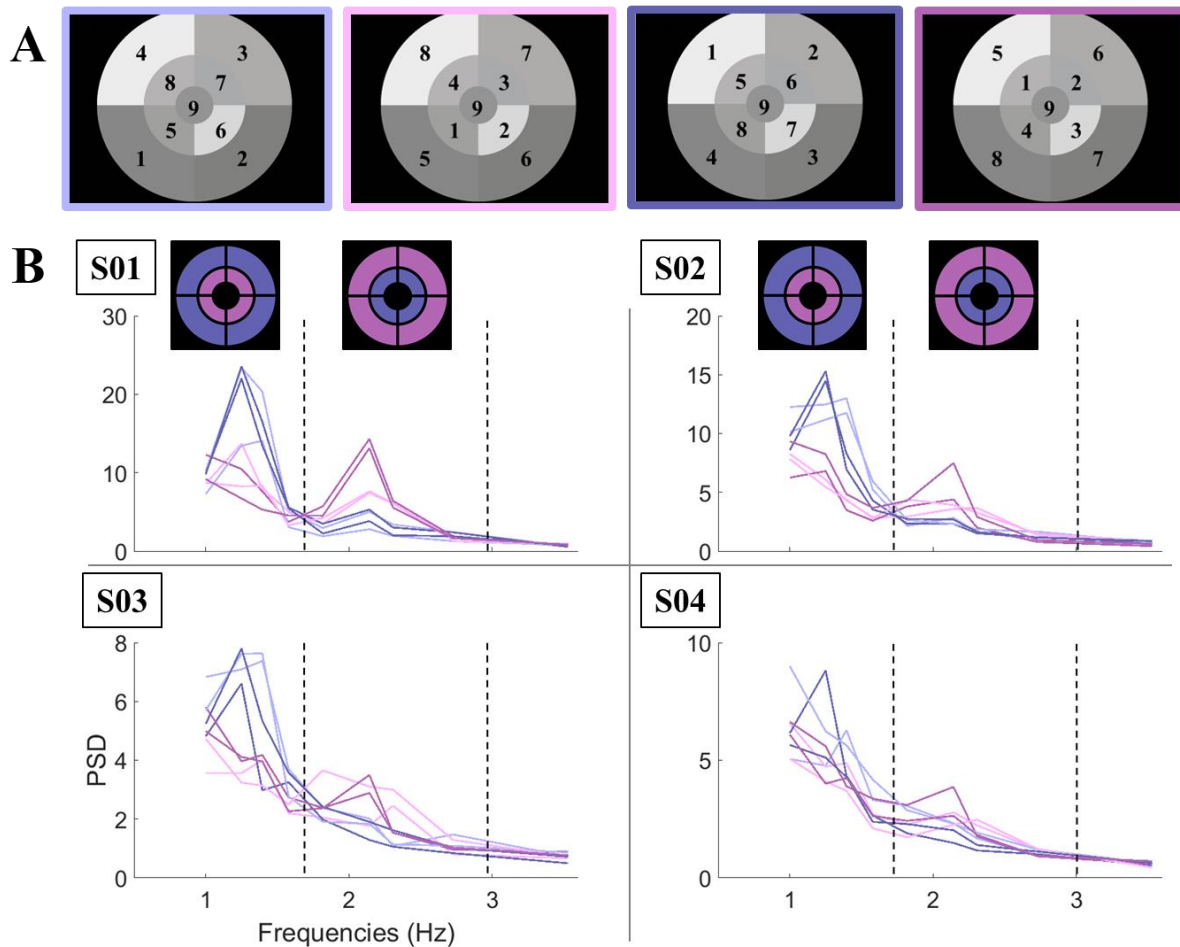


Figure 63 : Effet conjugué de l'excentricité et de la hauteur de la fréquence sur la puissance spectrale de la réponse pupillaire aux fréquences d'intérêt chez 4 sujets sains stimulés en monoculaire œil droit. (A) Dispositions des fréquences d'intérêt ( $F1=1.00$  Hz ;  $F2=1.25$  Hz ;  $F3=1.40$  Hz ;  $F4=1.58$  Hz ;  $F5=1.82$  Hz ;  $F6=2.14$  Hz ;  $F7=2.31$  Hz ;  $F8=2.72$  Hz ;  $F9=3.53$  Hz) ; (B) moyennes des puissances aux fréquences d'intérêt résultantes de quatre répétitions de chacune des stimulations présentées en (A) (voir correspondance de couleurs), les encarts indiquent la position des fréquences d'intérêt en fonction de la famille de couleur des courbes : les courbes violet foncé et mauve sont les résultats des conditions pour lesquelles les fréquences les plus basses sont situées en périphérie et les fréquences élevées en para central ; les courbes rose foncé et rose clair présentent les spectres des stimulations pour lesquelles les fréquences temporelles faibles sont en para central et les fréquences élevées en périphérie.

La Figure 63B présente les puissances aux fréquences d'intérêt moyennées par blocs de 4 répétitions par conditions chez les 4 sujets sains testés. Il est intéressant de noter dans un premier temps que la puissance mesurée chez ces quatre individus présente des différences d'échelle importantes : les réponses des sujets S01 et S02 sont plus amples que celles des sujets S03 et S04. Cependant des similitudes dans le comportement des puissances spectrales en fonction des conditions d'excentricité sont observables, la plus évidente étant que pour une fréquence donnée, qu'elle soit basse ou élevée, la puissance est plus importante quand la

fréquence anime un secteur de la région périphérique. Par ailleurs, on note que le secteur situé en périphérie supérieure droite sur le stimulus entraîne des réponses plus importantes que les autres quadrants. L'œil stimulé des sujets étant l'œil droit, il s'agit d'un secteur situé dans le quadrachamp temporal supérieur. Cette observation est donc à mettre en rapport avec nos précédents travaux sur la disparité de sensibilité pupillaire qui vont dans le même sens.

Le bruit dans les basses fréquences étant élevé, il est important de conserver des puissances conséquentes dans les basses fréquences d'intérêt afin de pouvoir détecter un pic lié à la réponse du stimulus et le discerner de son environnement fréquentiel. Nous avons donc pris le parti de conserver les fréquences basses en périphérie et les fréquences plus élevées en para central, la fréquence la plus élevée restant au centre du stimulus. Ce choix a été fait car cette fréquence élevée mobiliserait mieux l'attention et aiderait ainsi la fixation au centre de l'écran.

### **V.2.E Simulation de vision tubulaire chez le sujet sain**

Le test du PFT repose sur l'hypothèse que la pupille d'un sujet sain va répondre à toutes les fréquences présentes dans le stimulus, et plus précisément au signal lumineux composé d'autant de fréquences sinusoïdales que le stimulus visuel. Lors de la stimulation de l'œil d'un sujet sain (Figure 64A), le signal global pouvant moduler le diamètre pupillaire sera celui représenté en Figure 64B.



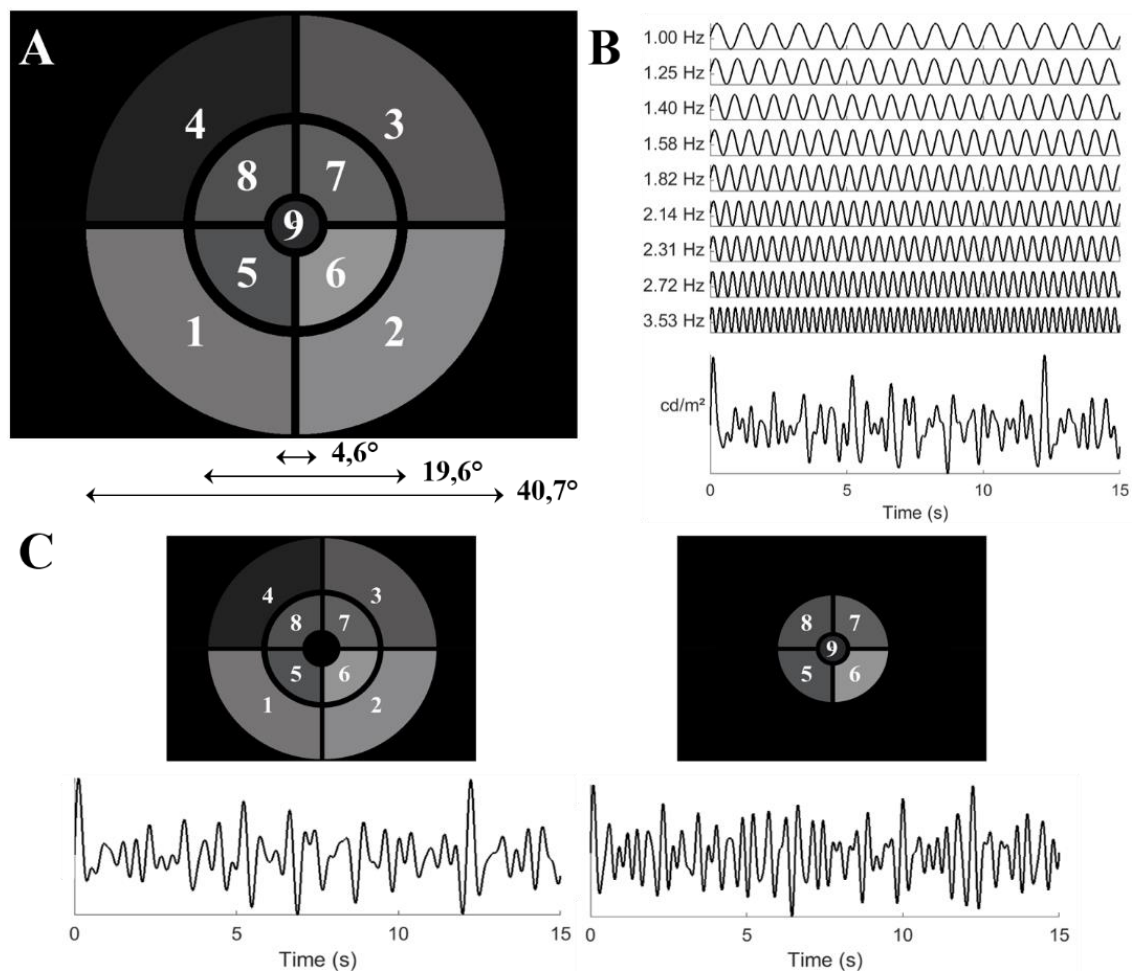


Figure 64 : Hypothèse du signal perçu lors de la stimulation par marquage fréquentiel : (A) Stimuli du PFT en plein champ ; (B) Signal de la luminance du stimulus du PFT, chaque région du stimulus oscille en luminance à sa propre fréquence, la luminance moyenne du stimulus est donc la fonction composée de ces 9 fréquences. (C) Exemples de signaux lumineux perçus un sujet présentant un scotome central (à gauche) et par un sujet présentant une vision tubulaire (à droite).

Dans le cas de la présence de scotomes masquant intégralement un des secteurs, aucune réponse rétinienne n'est possible, la fréquence d'intérêt correspondante sera absente du signal d'entrée dans le système visuel et la puissance spectrale à la fréquence de ce secteur sera nulle ou faible, révélant ainsi une région défectueuse dans le CV. Des exemples de scotomes absolus (perte totale de la sensibilité visuelle) ainsi que le signal résultant du stimulus tel que perçu par les sujets présentant de tels champs visuels sont représentés en Figure 64C.

Avant de tester notre hypothèse chez des patients atteints de déficits visuels, nous avons simulé des scotomes plus ou moins étendus chez 3 sujets sains afin de mesurer leur effet sur la réponse pupillaire. Nous avons simulé la vision de patients présentant une vision tubulaire semblable à la vision des patients souffrant de rétinite pigmentaire (qui est une des populations de patients visée dans notre étude).



Nous sommes partis du principe que la vision de ce type de patient est rarement parfaitement centrée autour de l'axe visuel, nous avons sélectionné un secteur particulier de la stimulation avec le scotome. Nous avons ensuite joué sur l'ampleur de l'atteinte, la taille de l'épargne de CV central, comme illustré Figure 65.

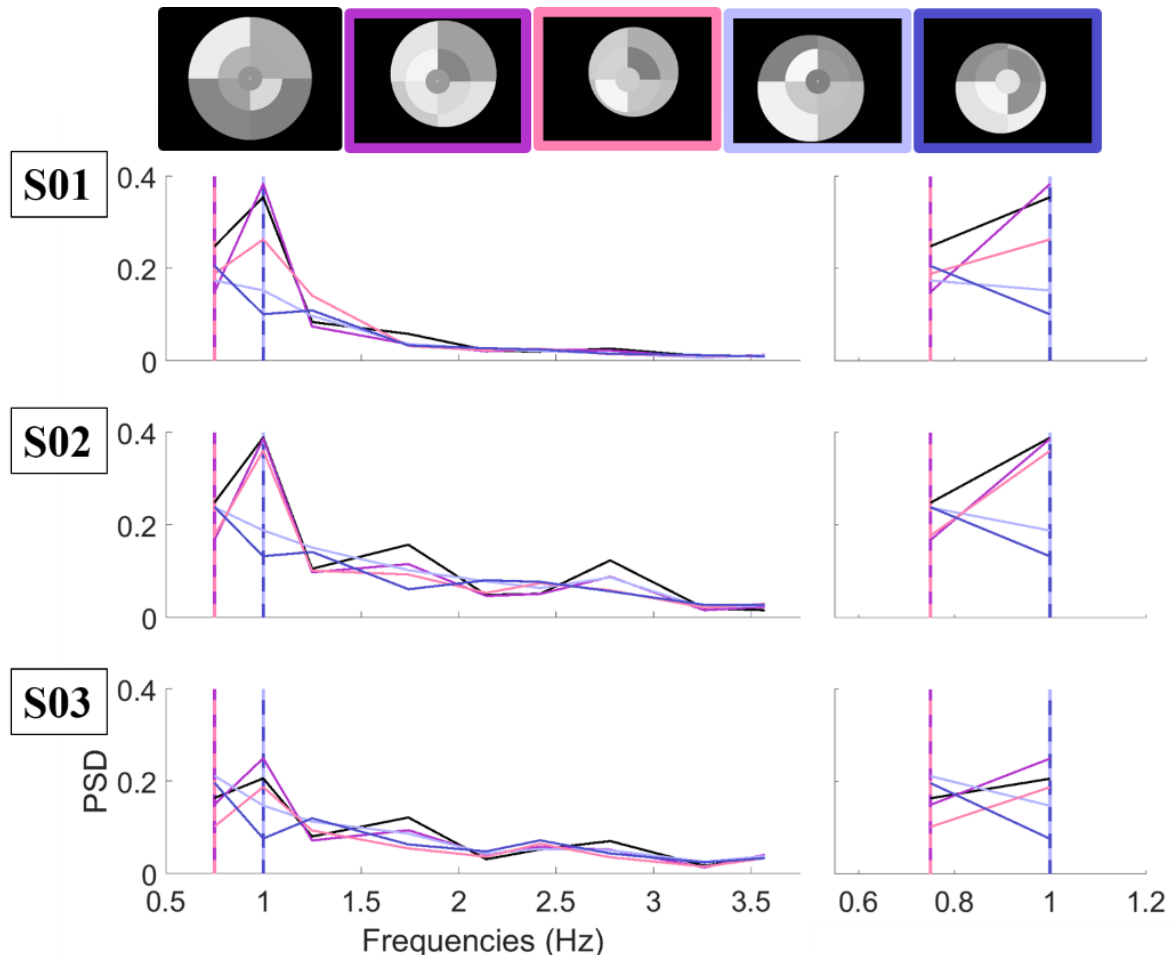


Figure 65 : Effet d'une vision tubulaire décentrée simulée chez 3 sujets sains sur la puissance spectrale des fréquences d'intérêt dans le signal pupillaire lors de la stimulation avec le PFT. Les couleurs des courbes correspondent aux conditions représentées en encart en haut de la figure ; chaque courbe représente la moyenne de 2 répétitions. Les droites verticales indiquent les fréquences des secteurs les plus touchés par le scotome périphérique en fonction de la condition (voir couleurs).

Sur la Figure 65B, les courbes noires représentent les puissances aux fréquences d'intérêt dans des conditions « normales » de vision, lorsqu'aucun scotome n'est simulé ; les courbes roses représentent l'atteinte du secteur oscillant à la fréquence la plus faible et les courbes bleues l'atteinte du secteur oscillant à la seconde fréquence. Chez les trois sujets, les puissances aux fréquences atteintes sont diminuées d'autant plus que le scotome est étendu. Le même type de résultats a été trouvé chez deux sujets sains avec un scotome para-central simulé (non présenté). La puissance aux fréquences d'intérêt est donc sensible à la portion vue du secteur et peut indexer la dimension du scotome : on s'attend à avoir une absence de

réponse à la fréquence du secteur recouvert par un scotome absolu et à une diminution de la puissance à cette fréquence si le scotome ne recouvre que partiellement le secteur ou que le scotome n'est pas absolu mais relatif qui entraînerait une diminution de l'amplitude perçue de l'oscillation lumineuse dans ce quadrant.

### V.3 Protocole de mesure pour PupDyn

Nous avons pris en considération tous les résultats préalablement observés chez le sujet sain afin de concevoir un stimulus qui satisfasse au mieux les contraintes identifiées, et qui a été utilisé dans l'étude « PupDyn ». Les patients ainsi que les sujets contrôles participant à l'étude ont été stimulés sur les  $40,7^\circ$  centraux du CV avec 9 fréquences réparties sur des secteurs de taille et de localisation variable selon les 3 conditions représentées en Figure 66 et dont les luminances oscilleront entre  $65,01 \text{ cd/m}^2$  et  $181,10 \text{ cd/m}^2$ .

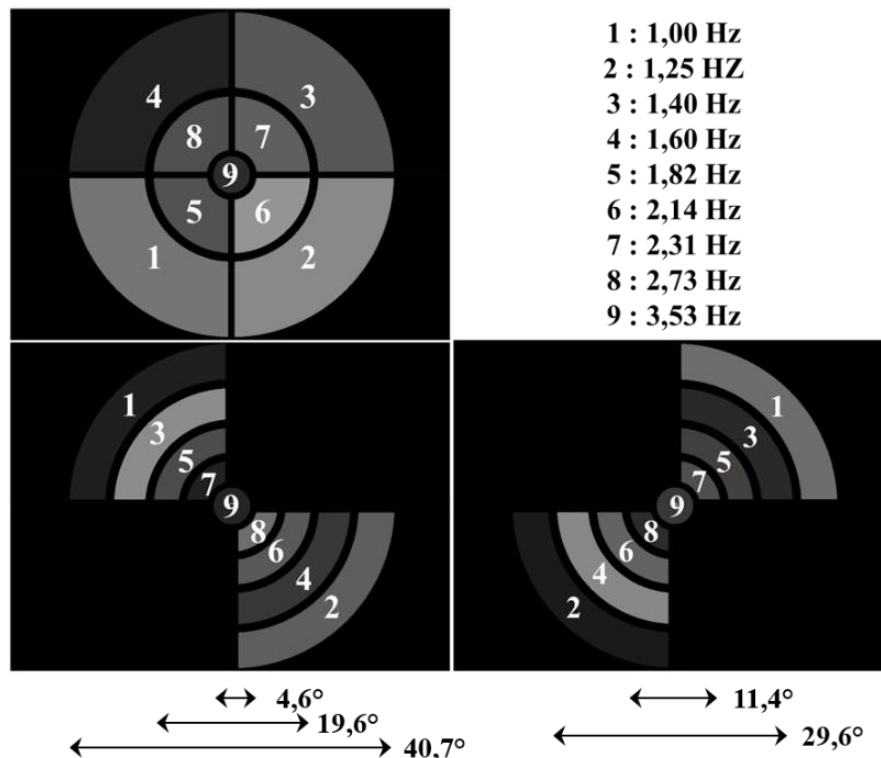


Figure 66 : Stimuli du protocole « Pupil Frequency Tagging » (PFT) utilisés dans l'étude PupDyn. Capture de l'écran de stimulation (les luminances respectives des secteurs sont fixées pour faciliter la présentation).

La condition « plein écran » située en haut à gauche a été répétée deux fois par œil à environ une heure d'intervalle. Les conditions « par quadrants localisés » utilisant des secteurs plus petits permettent de préciser la définition de la position et la taille d'un scotome, et ont été mesurées une fois sur chaque œil.

## V.4 Résultats chez les populations PupDyn

### V.4.A PFT plein écran

#### V.4.A.a PFT plein champ et spatialisation

L'analyse spectrale des signaux pupillaires enregistrés lors de la stimulation monoculaire plein champ (fullfield, à 9 secteurs) a donné les résultats par population (contrôles, MS, RP et NOHL) visibles en Figure 67.

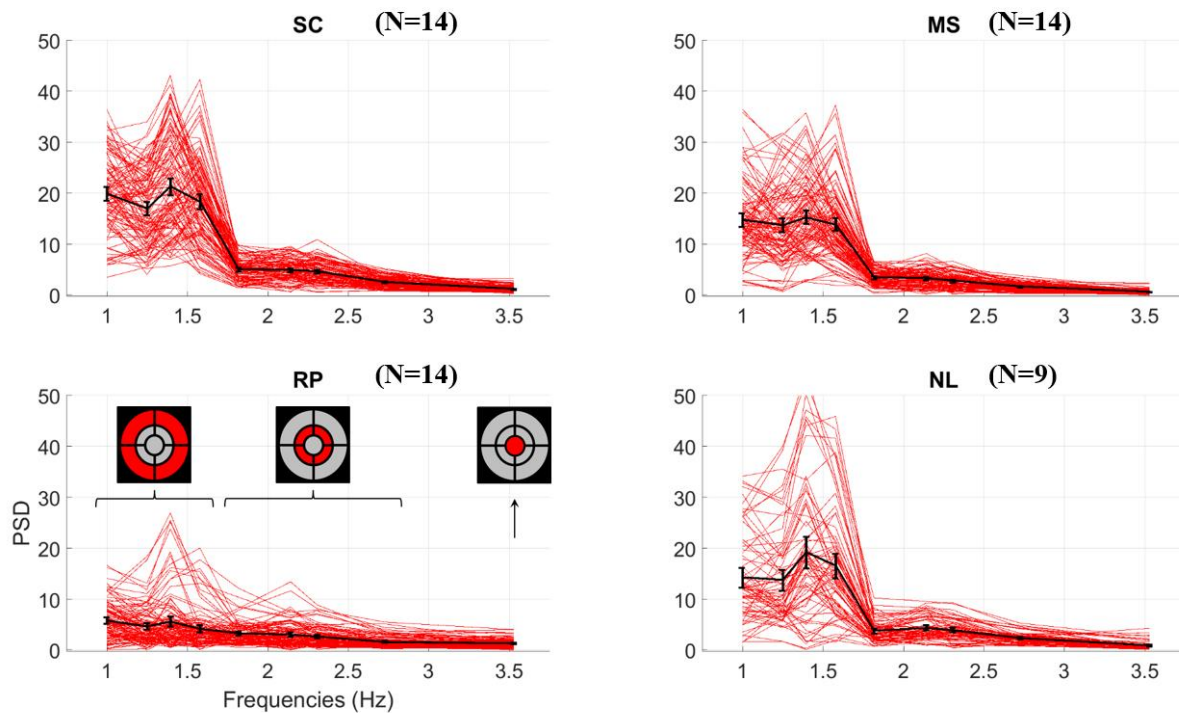


Figure 67 : Puissances aux fréquences d'intérêt du PFT plein écran issues de l'analyse spectrale des signaux pupillaires enregistrés chez les populations PupDyn : les sujets contrôles (SC), les sujets atteints de la maladie de Stargardt (MS), les patients souffrants de rétinite pigmentaire (RP) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (NL). Les courbes rouges représentent les essais individuels, les courbes noires et les barres d'erreurs représentent la moyenne et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (2 répétitions x 2 yeux x N sujets).

Si la variabilité inter-essais de la puissance semble importante en première approche, il est intéressant de noter qu'un comportement récurrent semble émerger, et qu'il est différent pour chaque population testée. Comme lors de nos expériences préliminaires, la puissance spectrale dans les 4 fréquences d'intérêt les plus basses et situées en périphérie est plus importante que pour les 5 autres fréquences, avec des puissances marquées sur les fréquences 3 et 4 qui sont situées dans le quadrant supérieur temporel pour un œil sur deux. Une différence flagrante de comportement est déjà observable chez le groupe de patients RP chez qui cette puissance dans les 4 fréquences périphériques est à peine plus élevée que la puissance dans les 4 fréquences

intermédiaires, tandis qu'on observe un facteur 4 entre les puissances spectrales de ces deux régions chez les sujets contrôles.

Afin de faciliter la comparaison des comportements entre les différentes populations, la Figure 68 présente les puissances spectrales moyennes et les intervalles de confiance à 95% par fréquences d'intérêts et par population.

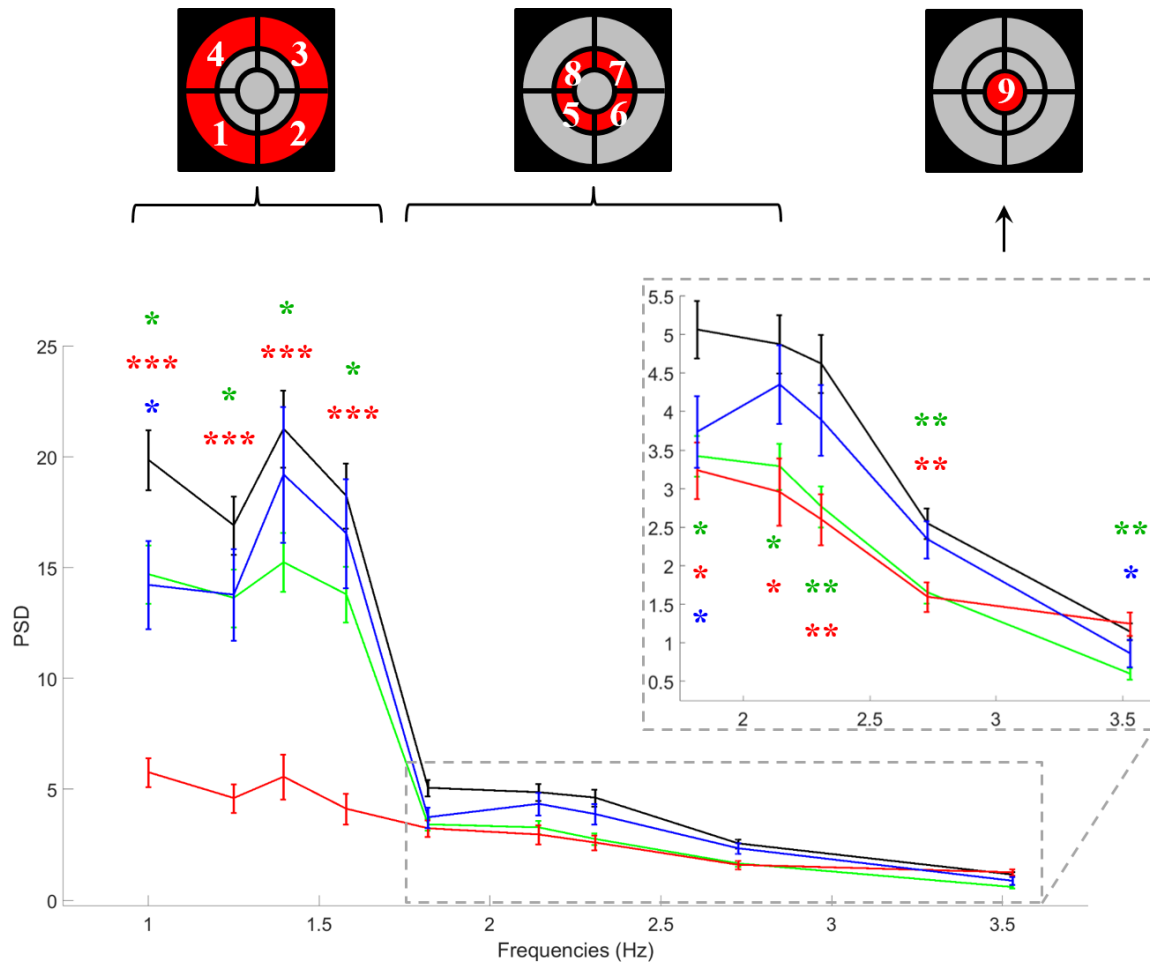


Figure 68 : Puissances aux fréquences d'intérêt du PFT plein écran moyennées par population : les sujets contrôles (en noir), les patients atteints de maladie de Stargardt (en vert), les patients souffrants de rétinite pigmentaire (en rouge) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (en bleu). Les courbes et les barres d'erreurs représentent la moyenne et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (sujets et yeux confondus). Les astérisques colorés indiquent la significativité de la différence entre la population concernée et le groupe contrôle pour chaque fréquence d'intérêt ( $d$  de Cohen : \* :  $d < 1$  ; \*\* :  $1 < d < 1.5$  ; \*\*\* :  $d > 1.5$ ).

Les sujets sains présentent une puissance spectrale plus élevée que les trois populations pour toutes les fréquences d'intérêt sauf la plus élevée située au centre de l'écran et pour laquelle ce sont les patients RP qui présentent la puissance la plus importante. Chez ces derniers, comme nous l'avons mentionné plus haut, la puissance enregistrée est globalement beaucoup plus basse que celle des sujets contrôles, et particulièrement pour les fréquences dont les

secteurs sont situés en périphérie. Pour les patients NOHL, la puissance spectrale est significativement plus basse que la puissance spectrale du groupe contrôle pour seulement 3 des 9 fréquences d'intérêt présentes dans le stimulus, dont une située en secteur périphérique contrairement à notre hypothèse initiale qu'une atteinte centrale dans cette pathologie entraînerait une diminution des réponses aux secteurs centraux. Chez les patients MS, on observe une puissance spectrale significativement plus faible que celle des sujets contrôles pour toutes les fréquences d'intérêt, avec une baisse plus importante pour 2 des fréquences para centrales situées dans l'hémi champ supérieur, et également pour la fréquence centrale du stimulus.

La Figure 69 présente les résultats des GLM calculés par population et par fréquences d'intérêt sur les puissances spectrales, ce qui nous permet de déterminer pour chaque pathologie testée la région et la fréquence apportant l'indice le plus fort pour la détection d'une anomalie de comportement pupillaire.

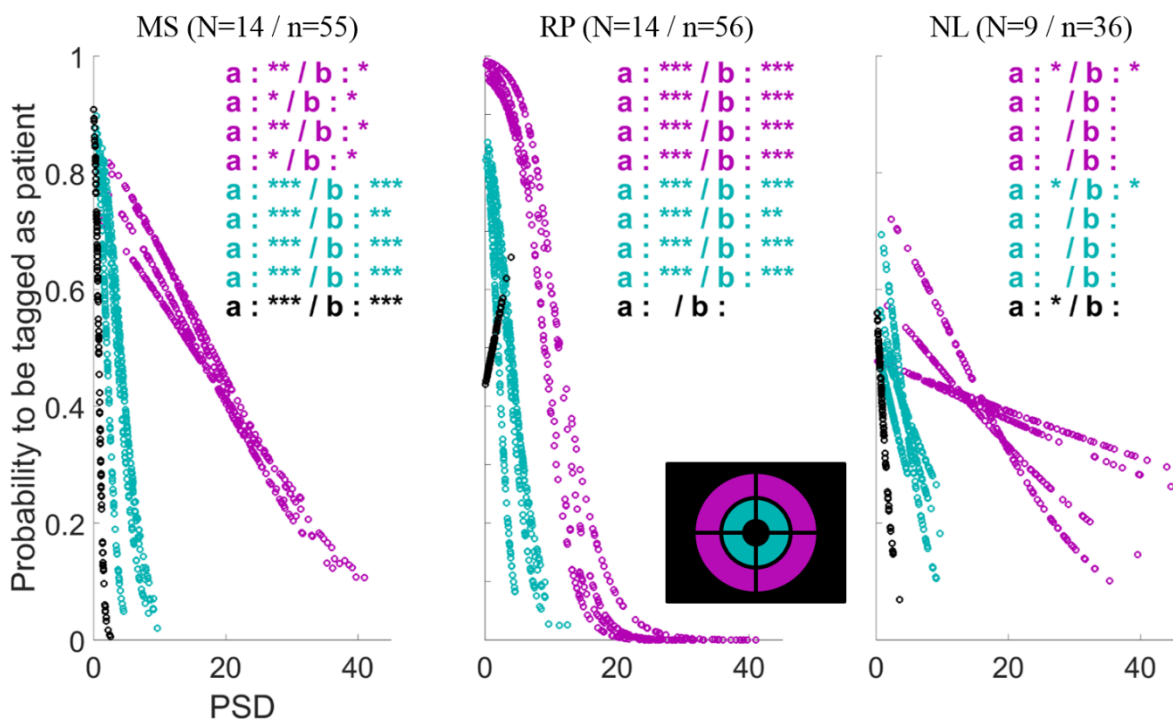


Figure 69 : PFT plein écran : Probabilité de rejeter un participant du groupe contrôle selon les pathologies et la puissance spectrale aux fréquences d'intérêts (les fréquences basses périphériques en bleu, les fréquences élevées centrales en rose et la fréquence la plus élevée et au centre en noir) calculée par une modèle linéaire généralisé de type logit (GLM). Pour chaque modèle, les essais pour toutes les répétitions, des deux yeux et de tous les sujets ont été poolées. Le n indique le nombre d'observations pour la population et la région concernées, à comparer à l'effectif de la population contrôle qui est de 56 observations. Les pValue des coefficients des GLM sont représentées : ' ': pValue > 0.05 ; '\*': pValue < 0.05 ; '\*\*': pValue < 0.001 ; '\*\*\*': pValue < 0.0001.

Nous observons des résultats cohérents avec les  $d$  de Cohen présentés précédemment. Les patients atteints de maladie de Stargardt sont mieux différenciés de la population de contrôles en utilisant les puissances spectrales des fréquences d'intérêt situées en régions centrale et para centrales. Il faut cependant noter que même dans ces fréquences, les probabilités de différencier patients et contrôles sont moyennes, ce qui signifie que la distinction entre ces deux populations n'est pas sûre à 100% pour aucune des valeurs de puissance enregistrées à ces fréquences. Les patients atteints de rétinite pigmentaire sont les mieux différenciés du groupe contrôle avec en particulier des courbes de prédictions dans les fréquences périphériques qui présentent assez peu de points en dehors des paliers de probabilité à 0 et 1. Ceci indique que peu d'observations enregistrées chez ces patients et chez les sujets sains peuvent être confondues et qu'il y a ainsi peu de chance de ne pas détecter un patient ou de détecter à tort un sujet contrôle. Chez les NOHL, les 3 fréquences significativement différentes, au regard des  $d$  de Cohen, présentent des résultats de GLM significatifs, avec néanmoins des probabilités maximales n'atteignant pas 0.8 et ne descendant pas en-dessous de 0.1 indiquant une confusion importante entre les contrôles et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber.

Pour chaque type d'atteinte, atteinte du CV central vs atteinte du CV périphérique, ce sont les fréquences stimulées dans les régions atteintes qui apportent le meilleur indice de la présence d'une anomalie. Afin de tenir compte à la fois de la contribution de la région centrale et celle de la région périphérique, nous avons calculé le rapport de la puissance moyenne périphérique divisée par la puissance moyenne dans les secteurs para-centraux et le disque central. Un ratio élevé nous indique alors une vision centrale plus atteinte que la vision périphérique et un ratio plus bas nous informe de l'inverse, une vision périphérique plus atteinte que la vision centrale. A noter que le seuil d'une vision « normale » n'est pas de 1 puisque la puissance moyenne dans les fréquences basses et périphériques n'est pas normalisée et est à l'origine plus importante que celle des fréquences élevées centrales comme nous l'ont montré les résultats précédents chez les participants sains de l'étude. Le modèle linéaire généralisé calculé sur cette nouvelle variable pour les différentes population de patients est présenté en Figure 70A.

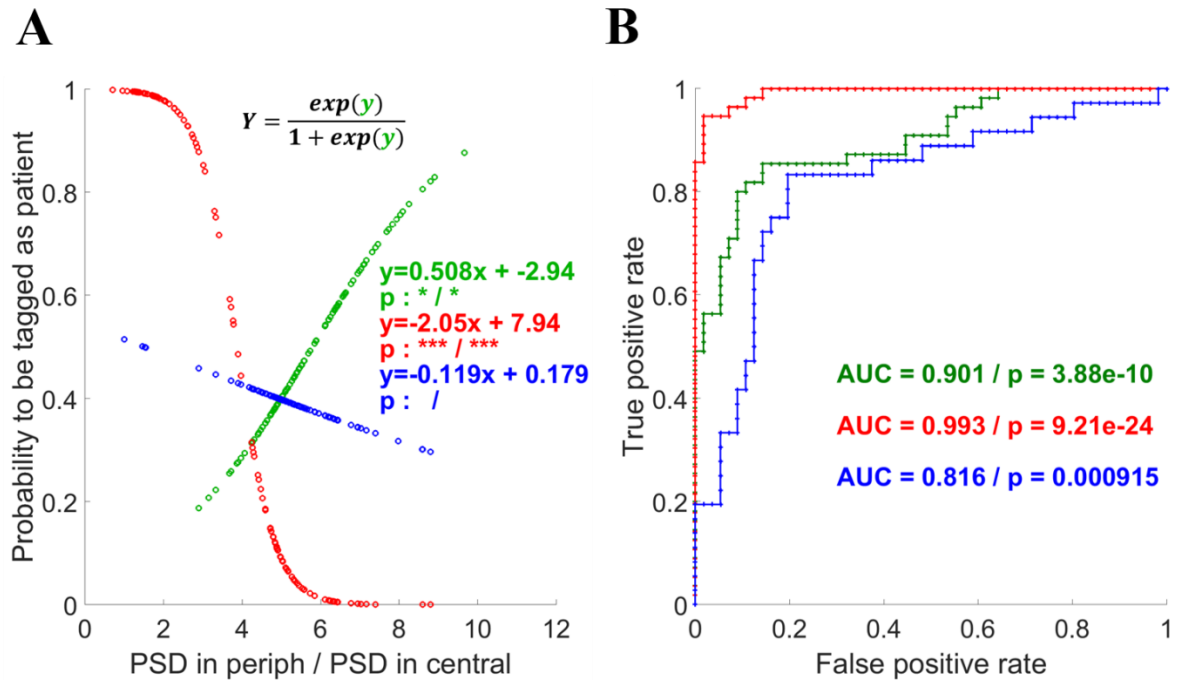


Figure 70 : PFT plein écran : (A) Prédiction de la probabilité de rejeter un participant du groupe contrôle en fonction de son rapport : puissance spectrale moyenne en périphérie sur puissance spectrale moyenne en central. Probabilités calculées à partir d'un GLM de type logit. (B) Courbes ROC réalisées à partir des GLM calculées sur les réponses spectrales à toutes les fréquences d'intérêt ; AUC : aire sous la courbe ; p : pValue du Chi<sup>2</sup> testant la significativité de la différence du modèle linéaire généralisé par rapport à un modèle constant. En vert les MS, en rouge les RP et en bleu les NOHL. Effectifs de calcul : 56 observations pour les contrôles, 55 pour les MS, 56 pour les RP et 36 pour les NOHL.

Chez les patients MS on observe un effet significatif de notre rapport de puissance sur la probabilité de rejeter un participant du groupe contrôle avec néanmoins de nombreuses valeurs de rapport de puissance dont la probabilité de rejet du groupe contrôle est située entre 0.4 et 0.6, ce qui laisse donc une plage de confusion importante. La courbe du GLM calculé en utilisant le rapport de puissance périphérie sur centre des patients RP présente une pente importante négative et des paliers bien définis à 0 et 1 avec très peu de points de confusion situés entre ces deux paliers. En ce qui concerne les patients atteints de NOHL, il est impossible de les discriminer des sujets sains en utilisant le rapport de puissance périphérique/central, la majorité des mesures de ratio étant situé entre 0.4 et 0.5 de probabilité.

La Figure 70B illustre les courbes ROC obtenues en utilisant les réponses spectrales à toutes les fréquences d'intérêt combinées. Cette observation permet d'obtenir de très bon résultats de discrimination des patients des différentes populations du groupe de sujets contrôles sains. Chez les patients atteints de maladie de Stargardt, on obtient une aire sous la courbe de 0.901 avec une spécificité de 82.1% (46 des 56 observations effectuées chez les sujets sains sont

correctement labellisées) et une sensibilité de 85.5% (47/55 observations correctement labellisées chez les patients MS). Ce résultat est encore meilleur chez les patients atteints de RP chez qui l'aire sous la courbe s'élève à 0.993 avec une spécificité de 92.9% (52/56 observations correctement labellisées chez les sujets sains) et une sensibilité de 94.6% (53/56 observations correctement labellisées chez les patients RP). Comme pour le reste de nos observations, la discrimination est moins bonne chez les sujets NOHL avec une aire sous la courbe de 0.816, une spécificité de 87.5% (49/56) mais une sensibilité de 63.9% (23/36).

Il est possible que d'autres variables secondaires dérivées puissent être utilisées pour aider à différencier des populations : contraste de puissance, distinction spatiale plus fine, différences de puissances, ou encore phases relatives aux fréquences d'intérêt, qui pourraient préciser les latences relatives de réponses aux fréquences d'intérêt et signaler un éventuel ralentissement pathologique des traitements locaux.

#### **V.4.A.b Mise en relation du PFT plein écran avec les données ophtalmiques**

Les résultats observés jusqu'à présent sont cohérents avec nos hypothèses initiales proposant que les régions supposées les plus atteintes du CV en fonction du type de pathologie présentent une réponse pupillaire moins importante (sauf chez les NOHL). La comparaison de nos résultats avec les données ophtalmiques de CV et d'OCT devrait nous apporter une meilleure précision sur le lien qui existe entre puissance de la réponse pupillaire et étendue et profondeur de l'atteinte fonctionnelle et/ou structurelle, liée à la pathologie.

La mise en relation de la portion de stimulus visible calculée à partir des isoptères V4 avec les puissances spectrales des signaux pupillaires aux fréquences d'intérêt a montré une mauvaise corrélation de ces deux variables chez les patients MS et NOHL. Chez les patients RP, l'amplitude de la réponse pupillaire augmente avec la portion du stimulus visible avec un lien statistiquement significatif pour 6 des 8 fréquences (la fréquence centrale étant toujours visible à 100%) dont les quatre fréquences présentées dans les secteurs les plus en périphérie du CV (Annexe Figure 87). L'analyse à partir de la portion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère V1 et l'isoptère III1 chez les patients MS et NOHL n'a pas montré de renforcement du lien entre atteinte du CV et amplitude de la réponse pupillaire (voir Annexe Figure 88 pour les données à partir de l'isoptère V1 et Annexe Figure 89 pour l'isoptère III1).

Concernant les données de l'OCT, le design de notre stimulus et le design de mesure de l'OCT nous ont permis de distinguer 2 régions de comparaison : nous avons mis en relation la puissance spectrale pupillaire à la fréquence d'intérêt présentée dans le secteur central du



stimulus d'un diamètre de  $4.6^\circ$  d'angle visuel avec la valeur d'épaisseur rétinienne mesurée dans le secteur central de l'OCT couvrant environ les  $3.33^\circ$  d'angles de vision centrale ; nous avons ensuite cherché une corrélation entre la moyenne des puissances spectrales pupillaires enregistrées pour les fréquences présentées dans les secteurs para-centraux et la moyenne du reste des mesures de l'OCT (Figure 71A).

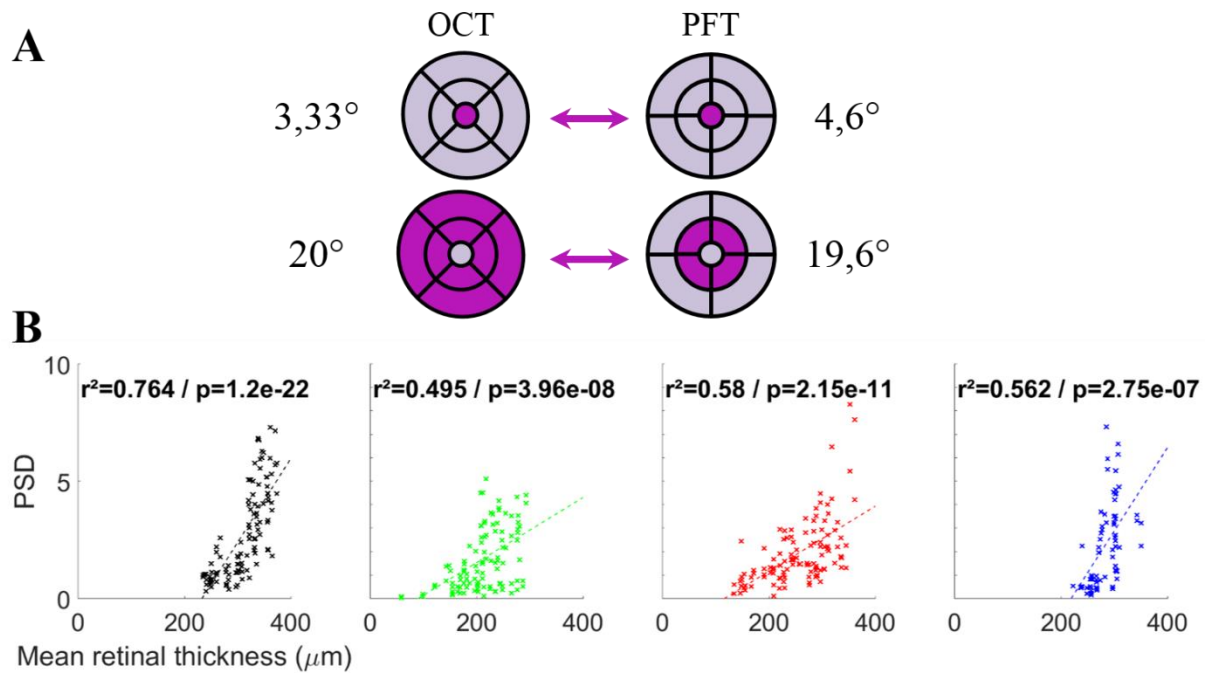


Figure 71 : Résultats du PFT en plein écran : mise en relation de l'aspect fonctionnel et l'aspect structurel. (A) régions de comparaison de l'OCT et du PFT. L'OCT couvrant une région rétinienne correspondant à environ  $20^\circ$  d'angle de vision, ce qui correspond au diamètre des secteurs para centraux du PFT. (B) Puissance spectrale aux fréquences d'intérêt en fonction de l'épaisseur de la rétine en utilisant les correspondances de localisation illustrées en (A), par population : les sujets contrôles en noir, les MS en vert, les RP en rouge et les NOHL en bleu. Chaque point représente la moyenne des puissances spectrales des secteurs d'une des régions présentées en (A) pour un essai (nombre d'observations : 2 répétitions x 2 yeux x 2 régions x N sujets). Les lignes en pointillées représentent les régressions linéaires et sont accompagnées de leur coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).

L'observation de la corrélation entre épaisseur de la rétine et puissance spectrale de la réponse pupillaire nous informe que chez les sujets contrôles, ces deux variables sont fortement liées : plus l'épaisseur de la rétine est importante et plus l'oscillation pupillaire en réponse au stimulus sera ample. Cette relation existe, dans une moindre mesure, chez les trois populations de patients (Figure 71B).

Les résultats du PFT en plein écran sont globalement bons et encourageants. Le test du PFT en régions plus localisées nous permet de tester le niveau de précision qu'il est possible d'obtenir grâce à la réponse pupillaire dans l'exploration et la localisation de l'atteinte fonctionnelle dans le CV.

## V.4.B PFT localisé

### V.4.B.a PFT localisé et spatialisation

De même que pour le PFT en plein écran, des différences de comportements semblent ressortir chez les populations testées avec toujours une variabilité inter-individuelle forte dans les puissances spectrales calculées aux fréquences d'intérêt (Figure 72).

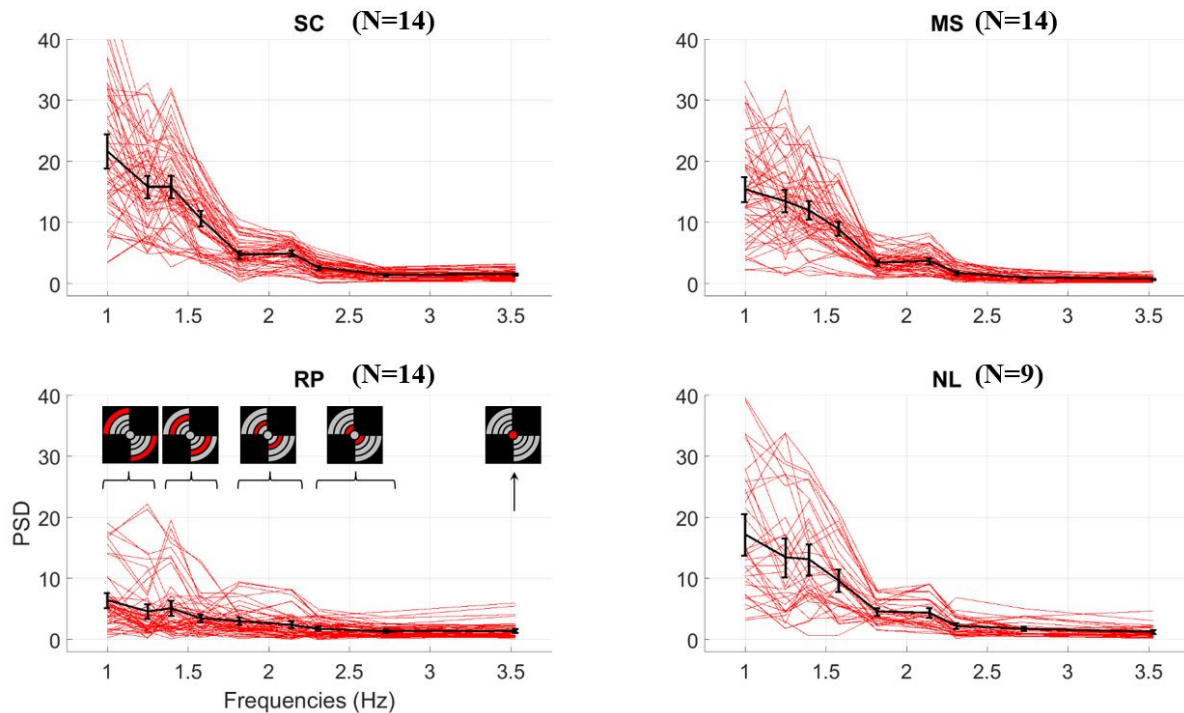


Figure 72 : Puissances aux fréquences d'intérêt du PFT plein écran enregistré chez les populations PupDyn : les sujets contrôles (SC), les sujets atteints de la maladie de Stargardt (MS), les patients souffrants de rétinite pigmentaire (RP) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (NL). Les courbes rouges représentent les essais individuels, les courbes noires et les barres d'erreurs représentent la moyenne et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (2 répétitions x 2 yeux x N sujets).

On note dans un premier temps que l'ordre de grandeur des puissances spectrales observées pour les PFT localisé est sensiblement le même que pour le PFT plein champ, ce qui nous conforte dans le fait de la diminution des surfaces de stimulation n'empêche pas la pupille de répondre aux différentes fréquences du stimulus. La variabilité inter-individuelle est plus importante dans les fréquences basses qui causent des puissances de réponse pupillaire les plus élevées. La comparaison des puissances spectrales aux fréquences d'intérêts entre les 4 populations PupDyn est présentée en Figure 73.

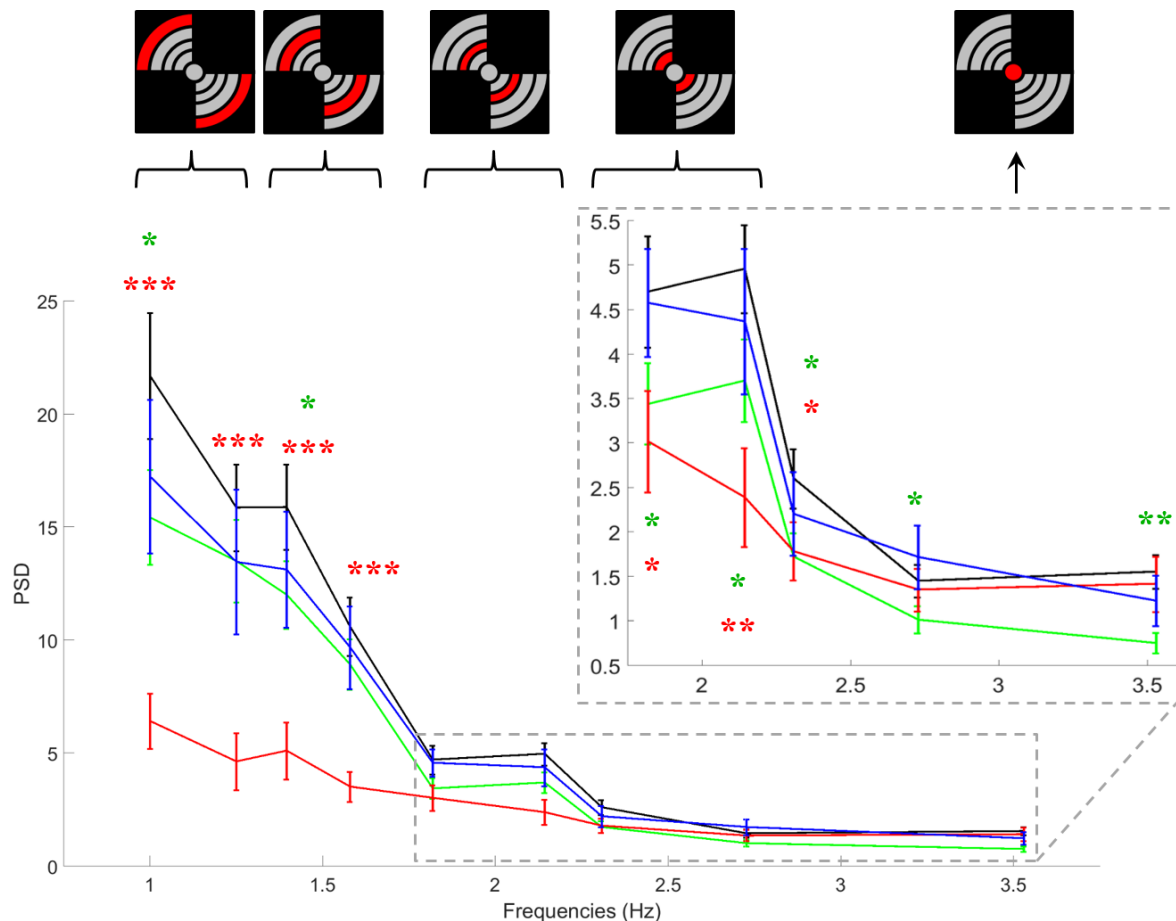


Figure 73 : Puissances aux fréquences d'intérêt du PFT régional moyennées par population : les sujets contrôles (en noir), les patients atteints de maladie de Stargardt (en vert), les patients souffrant de rétinite pigmentaire (en rouge) et les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber (en bleu). Les courbes et les barres d'erreurs représentent la moyenne et les intervalles de confiance à 95% sur les données poolées (sujets et yeux confondus). Les astérisques colorés indiquent la significativité de la différence entre la population concernée et le groupe contrôle pour chaque fréquence d'intérêt ( $d$  de Cohen : \* :  $d < 1$  ; \*\* :  $1 < d < 1.5$  ; \*\*\* :  $d > 1.5$ ).

Les puissances spectrales moyennes aux fréquences d'intérêt des patients MS se distinguent de celles des sujets contrôles dans toutes les fréquences d'intérêt et particulièrement dans la fréquence d'intérêt la plus élevée toujours située au centre du stimulus. Leurs réponses pupillaires sont de plus faibles amplitudes que celles des sujets contrôles. On observe le comportement inverse chez les patients RP pour qui la diminution de la puissance spectrale par rapport aux contrôles est plus forte pour les fréquences situées les plus en périphérie du stimulus, cette différence s'estompe pour les fréquences proches de la région centrale et devient non significative pour la fréquence au centre de l'écran de stimulation. Les patients atteints de NOHL quant à eux se distinguent des sujets contrôles au niveau des puissances spectrales uniquement de la première et la dernière des fréquences d'intérêt.

De la même façon que pour le PFT plein écran, nous nous sommes intéressés à déterminer les fréquences d'intérêt présentant les meilleurs indices de détection d'une anomalie d'activité

pupillaire et de la présence d'une pathologie. Chez les patients MS, on observe que la probabilité de distinguer un patient d'un contrôle est plus importante en utilisant la puissance spectrale du signal pupillaire en réponse à la fréquence la plus élevée située en plein centre du stimulus. Comme nous l'ont montré précédemment les  $d$  de Cohen, les probabilités de détecter un patient deviennent de moins en moins bonnes quand l'excentricité du secteur présentant la fréquence augmente.

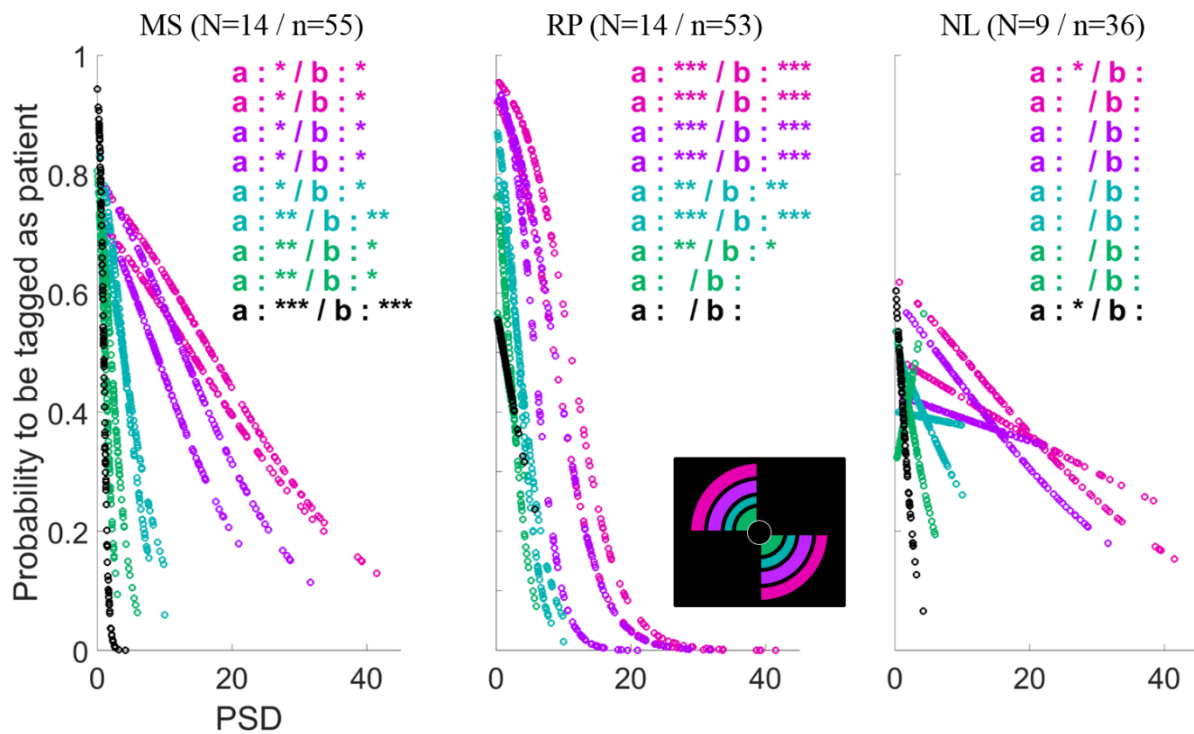


Figure 74 : PFT localisé : Prédiction de la probabilité de rejeter un participant du groupe contrôle selon les pathologies et la puissance spectrale aux fréquences d'intérêts (les fréquences basses périphériques en bleu, les fréquences élevées centrales en rose et la fréquence la plus élevée et au centre en noir) calculée par un modèle linéaire généralisé de type logit (GLM). Pour chaque modèle, les essais pour toutes les répétitions, des deux yeux et de tous les sujets ont été poolées. Le  $n$  indique le nombre d'observations pour la population et la région concernée, à comparer à l'effectif de la population contrôle qui est de 56 observations. Les  $p$ Value des coefficients des GLM sont représentées : ' ' :  $p$ Value > 0.05 ; '\*' :  $p$ Value < 0.05 ; '\*\*' :  $p$ Value < 0.001 ; '\*\*\*' :  $p$ Value < 0.0001.

Les patients RP réagissent à l'exact opposé, avec une probabilité nulle en région centrale et qui s'améliore avec l'excentricité de la fréquence d'intérêt. On observe pour les fréquences les plus en périphérie des plages de confusions peu étendues et un grand nombre de probabilités très proches de 1 ou de 0. Comme pour nos observations précédentes, seules deux fréquences permettent la distinction des NOHL des contrôles, une en extrême périphérie et la fréquence centrale ; avec néanmoins des paliers de probabilité qui ne sont absolument pas définis et des probabilités principalement situées entre 0.4 et 0.6 laissant de fortes chances d'erreurs.

La Figure 75 illustre les courbes ROC obtenues en utilisant les réponses spectrales à toutes les fréquences d'intérêt combinées. Cette observation permet d'obtenir de très bon résultats de discrimination des patients des différentes populations du groupe de sujets contrôles sains. Chez les patients atteints de maladie de Stargardt, on obtient une aire sous la courbe de 0.917 avec une spécificité de 83.9% (47 des 56 observations effectuées chez les sujets sains sont correctement labellisées) et une sensibilité de 87.3% (48/55 observations correctement labellisées chez les patients MS). Ce résultat est encore meilleur chez les patients atteints de RP chez qui l'aire sous la courbe s'élève à 0.979 avec une spécificité de 94.6% (53/56 observations correctement labellisées chez les sujets sains) et une sensibilité de 94.3% (50/53 observations correctement labellisées chez les patients RP). Comme pour le reste de nos observations, on observe une discrimination moins bonne chez les sujets NOHL avec une aire sous la courbe de 0.862, une spécificité de 83.9% (47/56) mais une sensibilité de 69.4% (25/36).

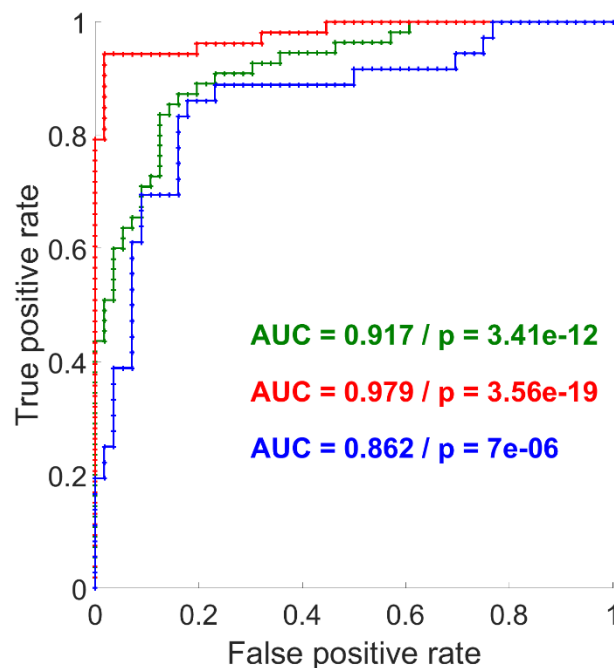


Figure 75 : PFT localisé : Courbes ROC réalisées à partir des GLM calculées sur les réponses spectrales à toutes les fréquences d'intérêt ; AUC : aire sous la courbe ; p : pValue du Chi<sup>2</sup> testant la significativité de la différence du modèle linéaire généralisé par rapport à un modèle constant. En vert les MS, en rouge les RP et en bleu les NOHL. Effectifs de calcul : 56 observations pour les contrôles, 55 pour les MS, 56 pour les RP et 36 pour les NOHL.

#### V.4.B.b Mise en relation du PFT localisé avec les données ophtalmologiques

Là où le PFT plein champ nous donnait un indice du type d'atteinte rencontrée (atteinte centrale vs atteinte périphérique), le PFT localisé devrait nous apporter précision dans l'étendue de l'atteinte. Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons mis en relation les

puissances spectrales calculées sur le signal pupillaire lors de la stimulation en PFT localisé avec les données ophtalmologiques à notre disposition.

De la même façon que pour le PFT plein champ, la puissance spectrale à la fréquence d'intérêt corrèle mal avec la proportion visible du secteur de stimulus correspondant chez les patients dont l'atteinte est centrale. Pour les patients RP cette corrélation est significative pour les 6 fréquences les plus en périphéries (voir Annexe Figure 90). L'utilisation des isoptères V1 (Annexe Figure 91) et III1 (Annexe Figure 92) mesurant de manière plus fine la sensibilité visuelle n'apporte pas une meilleure correspondance entre ces deux observations fonctionnelles visuelle et pupillaire.

En revanche, chez les patients Stargardt, l'examen de l'OCT avec la superposition proposée en Figure 76A montre que la puissance spectrale à la fréquence d'intérêt augmente avec l'épaisseur de la rétine dans la région stimulée (Figure 76B). Les patients RP présentent une diminution de la corrélation par rapport à celle obtenue avec le PFT plein champ, mais elle reste néanmoins significative (coefficients de Pearson : PFT plein champ : 0.5796 / PFT localisée : 0.4038). Chez les patients NOHL, l'amélioration de la précision de la superposition des secteurs de l'OCT et ceux du stimulus du PFT localisé est délétère à la corrélation entre nos deux variables qui est nulle (coefficients de Pearson : PFT plein champ : 0.5623 / PFT localisée : 0.0505).

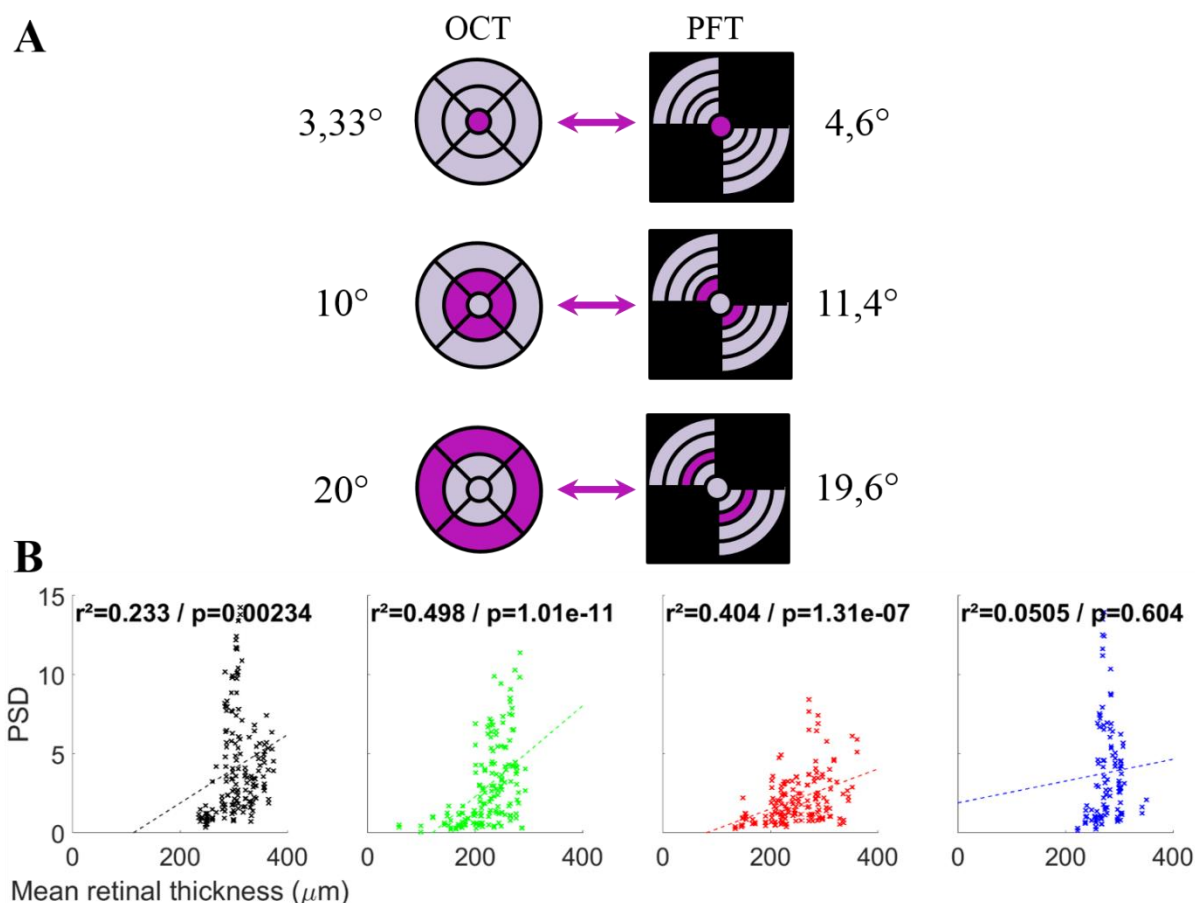


Figure 76 : Résultats du PFT localisé : mise en relation de l'aspect fonctionnel et l'aspect structurel. (A) régions de comparaison de l'OCT et du PFT. (A) Régions de comparaison de l'OCT et du PFT. (B) Puissance spectrale aux fréquences d'intérêt en fonction de l'épaisseur de la rétine en utilisant les correspondances de localisation illustrées en (A), par population : les sujets contrôles en noir, les MS en vert, les RP en rouge et les NOHL en bleu. Chaque point représente la moyenne des puissances spectrales des secteurs d'une des régions présentées en (A) pour un essai (nombre d'observation : 2 répétitions x 2 yeux x 2 régions x N sujets). Les lignes en pointillées représentent les régressions linéaires et sont accompagnées de leur coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).

## V.4.C Discussion

### V.4.C.a Les patients atteints de MS

Chez les patients atteints de la maladie de Stargardt, le PFT plein écran permet de bien distinguer les régions supposées atteintes du CV des régions supposées saines. L'activité pupillaire est plus affectée dans les régions centrales du CV qui sont les zones les plus susceptibles de présenter une perte partielle ou totale de sensibilité rétinienne. Le manque de répétitions et de patients nous empêche de mettre en évidence des corrélations significatives entre atteinte de l'activité pupillaire et atteinte du CV même si des tendances sont tout de même visibles et cohérentes avec notre hypothèse de départ qui est que plus la région stimulée du CV est atteinte et plus la réponse pupillaire dans cette région est affectée. Le PFT localisé



conserve les mêmes résultats et tendances en apportant une précision supplémentaire à la définition de la région rétinienne atteinte par la pathologie.

#### **V.4.C.b Les patients atteints de RP**

Les patients atteints de rétinite pigmentaire sont ceux qui présentent les résultats les plus encourageants pour ce test de pupillométrie. Malgré une diversité de l'ampleur de l'atteinte entre les individus composant notre population de RP, nos patients présentent tous des scotomes absolus en vision périphérique. Chez ces patients, la vision centrale est épargnée, l'acuité visuelle est bonne et les réponses pupillaires élicitées par des stimulations dans le CV central ne sont pas affectées et restent importantes, ce qui contraste avec la diminution voir la disparition des réponses pupillaires élicitées par une stimulation en CV périphérique. La mesure du PFT en régions localisées permet là encore d'apporter un niveau de détail supplémentaire décrivant au mieux l'étendue de la perte de vision. Contrairement aux résultats obtenus avec le test de l'oscillation pupillaire endogène, le PCT, l'activité pupillaire corrèle bien avec l'épaisseur de la rétine dans les régions stimulées. Cela pourrait s'expliquer par l'amélioration de la superposition entre les régions du stimulus avec les zones de mesure de l'OCT apportées par une diminution de la surface des secteurs de stimulation utilisés et la possibilité d'ainsi distinguer les régions centrale, para-centrales et périphériques dont les réponses pupillaires et les atteintes structurelles sont très différentes.

Notons tout de même que cette comparaison entre épaisseur de rétine et puissance spectrale pupillaire comporte un biais puisque l'épaisseur rétinienne est physiologique plus faible en rétine centrale de par la présence de la fovéa où seuls les photorécepteurs sont présents. Plus l'excentricité par rapport à cette structure particulière de rétine augmente et plus la rétine s'épaissit. Or dans notre stimulation, plus l'excentricité augmente et plus les fréquences d'intérêts sont basses, ce qui cause une augmentation de leur puissance spectrale. On s'attend donc à ce que ces deux variables soient liées, compte tenu du design de notre stimulus, ce qui ne serait pas forcément le cas si les fréquences allaient croissantes avec l'excentricité des secteurs les présentant. Si ce biais est bien réel, il n'en reste pas moins que la corrélation entre l'épaisseur de la rétine et la puissance spectrale de la réponse pupillaire n'est pas maintenue dans toutes les conditions et populations, indiquant que cette analyse reste intéressante et peut permettre de distinguer différentes pathologies.



### **V.4.C.c Les patients atteints de NOHL**

Nous avons trouvé que l'activité pupillaire en réponse au PFT ne corrèle pas avec les atteintes visuelles chez les patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber, que ce soit pour le PFT en plein écran ou le PFT localisé. Ces résultats sont cohérents avec la plupart des données de la littérature les concernant dont nous avons parlé plus haut et qui décrivent que ces patients présentent une dissociation de l'atteinte visuelle et de l'atteinte structurelle liée à une résistance des ipRGC à la neurodégénérescence (Wakakura & Yokoe, 1995 ; Bremner et al, 1999 ; Kawasaki, La Morgia et al, 2010 ; Sander & Milea, 2010 ; Mourra et al, 2013).

### **V.4.D Conclusion et perspectives**

L'activité pupillaire lors du marquage fréquentiel de la pupille reflète l'atteinte structurelle de la rétine. Les puissances spectrales aux fréquences d'intérêt sont impactées lorsque les secteurs présentant ces fréquences se projettent sur la rétine sur des régions présentant une perte de l'épaisseur des couches cellulaires de la rétine. Les trois pathologies testées affectent différentes couches cellulaires de la rétine. La maladie de Stargardt impacte les cônes, la rétinite pigmentaire les bâtonnets et la neuropathie optique de Leber les cellules ganglionnaires. Il aurait donc été intéressant de pouvoir mettre en relation nos résultats de l'activité pupillaire avec l'épaisseur des différentes couches cellulaires de la rétine, ce qui nous aurait probablement permis de mieux comprendre les mécanismes en jeu dans les anomalies de l'activité pupillaire. En particulier, cette différence importante de comportement des patients NOHL par rapport aux patients MS et RP chez qui l'activité pupillaire corrèle avec les données ophtalmiques pourrait être liée avec le type de cellules affectées dans ces différentes pathologies, les cellules ganglionnaires chez les NOHL rétinienne contre les photorécepteurs chez les MS et les RP (cônes et bâtonnets).

La comparaison des puissances spectrales aux fréquences d'intérêt entre les populations permet une très bonne discrimination des patients RP en particulier pour les fréquences périphériques, une bonne discrimination pour les patients MS en particulier pour les fréquences en central et para-central, et une discrimination moyenne des patients NOHL en utilisant certaines fréquences dont la fréquence centrale. Une analyse permettant de comparer le comportement global de la pupille aux différentes fréquences d'intérêt du stimulus serait de modéliser la réponse pupillaire en fonction des fréquences d'intérêt et de leur excentricité. Le comportement d'un sujet potentiellement atteint d'une pathologie serait comparé à ce modèle ce qui permettrait rapidement de détecter la présence et la localisation d'une anomalie dans la réponse pupillaire reflétant une anomalie de la structure rétinienne.

Ces travaux montrent des résultats prometteurs et déjà certaines limites de la méthode en particulier dans la détection de certaines pathologies affectant la rétine mais pas les réponses pupillaires comme la neuropathie optique héréditaire de Leber. Cette limite pourrait cependant s'avérer être un atout de la méthode car elle pourrait être utilisée lors d'un diagnostic différentiel entre des pathologies présentant la même atteinte fonctionnelle au niveau du CV mais des atteintes fonctionnelles différentes pour ce qui est de l'activité pupillaire.

Cette étude exploratoire a montré l'intérêt de l'utilisation de la pupille comme moyen clinique objectif de détection d'anomalies visuelles. Il est cependant évident que de nombreux travaux seront nécessaires afin d'aboutir à un protocole de mesure et de calcul permettant de donner des indices de qualité.

Dans l'optique d'utilisation de cette nouvelle méthode de pupillométrie en milieu clinique il serait indispensable d'établir une norme du comportement pupillaire sur une large cohorte de sujets sains, présentant différentes tranches d'âges (puisque l'on sait que l'activité pupillaire est diminuée avec l'âge) différentes taille de pupille moyenne etc.

Mais avant cela, une exploration plus exhaustive du stimulus est nécessaire afin de mieux déterminer le nombre de fréquences, leur hauteur, la surface des secteurs, l'amplitude de l'oscillation à utiliser pour des réponses pupillaires optimales. Nous nous sommes rendu compte de l'apparition d'harmoniques et de produits d'intermodulation dans le spectre pupillaire, parfois situés très proche des fréquences d'intérêt, rendant difficile l'interprétation des puissances du spectre et bruyant de façon considérable le signal dans sa globalité. Une meilleure compréhension de l'origine de ces « artefacts » liés au système visuel ou/et aux méthodes d'analyses utilisées, permettrait l'obtention d'un design de stimulus mieux abouti, de meilleures analyses et peut-être même d'un indice supplémentaire de discrimination des populations. Par ailleurs il serait intéressant de poursuivre nos travaux et de chercher s'il existe des fréquences entrant « en résonance » avec le système pupillaire, comme pourrait l'être une fréquence aux alentours de 1 Hz se rapprochant de la fréquence physiologique d'oscillation pupillaire endogène mesurée au test du PCT. Une mesure qui pourrait être faite assez facilement en utilisant un secteur oscillant en luminance à une fréquence variable au cours du temps, et l'analyse temps fréquence de la réponse pupillaire résultante.

## VI Récapitulatif des résultats de l'étude

Un récapitulatif des résultats de l'étude sous forme de tableau est disponible plus loin (Tableau 2).

Dans cette étude les sujets sains servent de contrôles, de baseline, en comparaison des comportements pupillaires potentiellement anormaux des patients. Néanmoins, leurs résultats nous apprennent déjà beaucoup sur les dynamiques pupillaires rarement étudiées de cette façon même chez le sujet sain. Il est important de noter qu'il existe une variabilité inter-individuelle importante dans les réponses pupillaires des sujets contrôles dans les quatre tests pupillaires analysés ici (PLR, RAPD, PCT et PFT). Dans les méthodes testant différentes chromaticité du stimulus, les sujets sains n'ont pas montré de réponse préférentielle à une chromaticité particulière. Concernant la spatialisation de leur réponse, on peut noter que si le PCT était aisément induit dans les trois conditions d'étendue testées, sa fréquence était ralentie lors de la stimulation en plein écran. Par ailleurs même si les sujets contrôles ne présentent pas de perte de sensibilité rétinienne, de scotome relatif ou absolu, ils n'ont pas tous la même épaisseur de rétine mesurée à l'OCT (qui diminue avec l'âge), et la puissance spectrale des réponses pupillaires enregistrées lors du PFT tout comme la fréquence du PCT augmentent avec l'épaisseur de la rétine dans la région stimulée.

Les patients MS ont montré de multiples points de discrimination en comparaison du comportement pupillaire des sujets sains. Si la mesure du réflexe pupillaire ne semble pas indiquée pour cette discrimination, on note en revanche que la conjugaison des réponses pupillaires des deux yeux est impactée (test du RAPD) et plus importante que chez les sujets sains. Les variables dérivant le PCT, temps d'oscillation et moyenne et variabilité de la fréquence d'oscillation ne sont pas significativement différentes de celles des sujets contrôles, néanmoins il est à noter qu'ils présentent des différences significatives entre les conditions de spatialisation, différences qui ne sont pas observables chez les sujets contrôles et qui semblent faire ressortir la région centrale comme régions de détérioration du PCT qui est plus difficile à enclencher, plus lent et plus variable en fréquence. Si cette observation semble cohérente avec la localisation attendue des pertes de sensibilités rétiniennes situées en région centrale, la mesure classique du champ visuel est inversement corrélée avec la fréquence du PCT qui ralentit avec l'augmentation de l'épargne visuelle. Il est tentant de mettre en relation cette observation chez les patients MS avec celle faite chez les sujets contrôles d'un ralentissement du PCT avec l'augmentation de l'étendue du stimulus. Cette observation est cependant d'autant

plus étrange quand on observe la corrélation entre les variables du PCT et l'atteinte structurelle mesurée à l'OCT montrant une accélération et une amélioration de la stabilité de fréquence du PCT avec l'augmentation de l'épaisseur rétinienne mesurée dans la région de stimulation. Observation que l'on retrouve dans le test du marquage fréquentiel de la pupille (PFT) avec une diminution de la réponse pupillaire liée à la diminution de l'épaisseur rétinienne dans la région stimulée.

Les patients RP présentent un lien robuste entre l'atteinte du champ visuel et les réponses pupillaires. On observe chez eux une diminution importante de l'amplitude et de la latence du réflexe pupillaire à la lumière et une disconjugaison importante des deux pupilles au RAPD. Lors des tests spatialisés, leur comportement pupillaire était lié à la morphologie de leur champ visuel, avec au PCT une détérioration généralisée, un temps d'oscillation plus court, une fréquence plus lente et une variabilité de fréquence plus importante, dans toutes les conditions d'étendue de la stimulation mais particulièrement lors de la stimulation en région périphérique. De la même manière au cours du PFT, la puissance spectrale était globalement très diminuée dans toutes les fréquences sauf celle dont le secteur était situé au centre de l'écran de stimulation. Ces observations font écho à l'atteinte du CV et l'épaisseur rétinienne mesurée à l'OCT reflétant l'atteinte structurelle de la rétine puisque pour ces deux tests il a été trouvé que la réponse pupillaire diminue avec l'augmentation des régions scotomateuses du CV et avec la diminution de l'épaisseur rétinienne.

Comme attendu vis-à-vis de la littérature, les patients NOHL sont ceux qui présentent la moins bonne association des atteintes visuelles et pupillaires. Par ailleurs leurs réponses pupillaires corrélaient également mal avec l'atteinte structurelle au niveau de l'épaisseur de la rétine. Le réflexe pupillaire à la lumière ne permet pas non plus de les différencier des sujets contrôles. En revanche, en accord avec la littérature, on retrouve une disconjugaison importante entre les deux pupilles chez ces patients qui témoigne de la présence d'un dysfonctionnement (Jacobson, 1998). On observe par ailleurs que même si les dynamiques pupillaires ne sont pas corrélées avec les atteintes visuelles et structurelles de la rétine, elles ne sont pour autant pas similaires à celles des sujets sains. En effet, les patients NOHL restent différenciables des sujets sains par de nombreux aspects : le PCT montre une diminution du temps d'oscillation lors de la stimulation centrale et périphérique et une augmentation de la variabilité de sa fréquence en périphérie ; certaines fréquences du PFT et en particulier la fréquence du secteur central présentent des puissances spectrales diminuées.

Tableau 2 : Récapitulatif des résultats des tests pupillaires de l'étude PupDyn pour les 4 populations testées (SC : sujets contrôles). « > » et « < » indiquent la présence et « = » indique l'absence de différence significative entre conditions au sein d'une même population. « ↑ » : une augmentation ; « ↓ » : une diminution significative de la variable en comparaison des résultats pour la même condition chez les sujets sains (« ↑ » : différence significative, « ↑↑ » : différence significative de grande taille). « gris », « vert », « bleu » et « rouge » indique les conditions de chromaticité testées. Pour le PCT : « F » : condition de stimulation plein écran (fullfield) ; « P » : périphérique ; « C » : centrale.

Tests	Variables	Conditions	Pathologies			
			SC (N=14)	MS (N=14)	RP (N=14)	NOHL (N=9)
PLR	Amplitude de constriction (%)		gris = vert	gris > vert = / =	gris = vert ↓ / ↓↓	gris = vert = / =
	Latence du pic de constriction (ms)		gris = vert	gris = vert = / ↓	gris = vert ↓ / ↓↓	gris = vert ↓ / ↓
RAPD	Δ amplitude direct-consensuel (%)		gris = vert	gris = vert ↑↑ / ↑↑	gris = vert ↑↑ / ↑↑	gris = vert ↑↑ / ↑↑
PCT	Temps d'oscillation (%)	localisation	F = P = C	F > P > C F : ↓ / P : ↓ / C : ↓	F > P < C F : ↓ / P : ↓↓ / C : ↓	F > P > C F : = / P : ↓ / C : ↓↓
		localisation	F < P = C	F = P > C F : = / P : = / C : =	F = P = C F : ↓ / P : ↓↓ / C : ↓	F = P = C F : = / P : = / C : =
	Fréquence (Hz)	couleurs	vert = gris = bleu = rouge	vert = / gris = / bleu = / rouge ↓↓	vert ↓↓ / gris ↓↓ / bleu ↓↓ / rouge ↓	vert = / gris = / bleu = / rouge =
		Corrélation avec OCT	oui	oui	oui	non
		Corrélation avec CV		oui	oui	oui
	Stabilité de la fréquence (Hz)	localisation	F = P = C	F = P = C F : = / P : = / C : =	F = P = C F : ↑ / P : = / C : =	F < P = C F : = / P : ↑ / C : =
PFT	Plein écran PSD aux fréquences d'intérêt	Périphérique Ø19.6° → Ø40.7°	F1	↓	↓↓↓	↓
			F2	↓	↓↓↓	=
			F3	↓	↓↓↓	=
			F4	↓	↓↓↓	=
		Para central Ø4.6° → Ø19.6°	F5	↓	↓	↓
			F6	↓	↓	=
			F7	↓↓	↓↓	=
			F8	↓↓	↓	=
		Central Ø 4.6°	F9	↓↓	=	↓
	Corrélation avec OCT	oui	oui	oui	oui	
	Corrélation avec CV		non	oui	non	
	Localisé PSD aux fréquences d'intérêt	Ø 29.6° → Ø40.7°	F1	↓	↓↓↓	=
			F2	=	↓↓↓	=
			F3	↓	↓↓↓	=
			F4	=	↓↓↓	=
		Ø 11.4° → Ø19.6°	F5	↓	↓	=
			F6	↓	↓↓	=
			Ø 4.6° → Ø11.4°	F7	↓	↓
F8				↓	=	=
Ø 4.6°		F9	↓↓	=	=	
Corrélation avec OCT	oui	oui	oui	non		
Corrélation avec CV		non	oui	non		

## VII Conclusion et perspectives

Cette étude clinique se place dans le contexte particulier du domaine de la pupille, séparé en 3 axes principaux de recherches : la mélanopsine et ses mécanismes, l'effet de la cognition sur la pupille via le circuit d'innervation sympathique et l'utilisation en milieu clinique du réflexe pupillaire à la lumière comme moyen de détection de perte de sensibilité visuelle.

Notre étude suit principalement ce dernier axe de recherche qui propose des tests de « périmétrie pupillographique » mesurant l'amplitude du réflexe pupillaire à la stimulation lumineuse dans différentes localisations du champ visuel comme indice de l'intégrité de la rétine et des voies visuelles. Une limite importante de ces tests qui gagnent en objectivité par rapport à la périmétrie clinique classiquement utilisée est la durée du test qui est rendue importante par le nombre de répétitions de mesures nécessaires à la diminution de la variabilité de la réponse pupillaire, certainement en partie liée aux modulations de l'état cognitif agissant sur la pupille par innervation sympathique et pouvant témoigner par exemple d'un désengagement attentionnel si le test dure trop longtemps. Afin de démocratiser l'utilisation de la pupillométrie en milieu clinique comme outil objectif, efficace et robuste de détection de dysfonctionnement dans la voie visuelle, il est primordial d'élaborer des tests simples et rapides.

L'objectif de cette étude était de répondre à cette problématique en utilisant l'analyse fréquentielle des dynamiques pupillaires au cours du temps. Pour ce faire, nous avons comparés les résultats de tests de pupillométrie « classiques » reposant sur le réflexe pupillaire à la lumière et la conjugaison des deux pupilles, à des tests innovants : le PCT et le PFT, mesurés chez quatre populations dont trois populations de patients. Nous avons également comparé les résultats de ces nouveaux tests aux tests de routine clinique de mesure de l'atteinte fonctionnelle (le champ visuel) et structurelle (l'OCT). Les populations choisies étaient : un groupe contrôle servant à établir une ligne de base des comportements pupillomoteurs en comparaison de ceux enregistrés chez des sujets présentant des atteintes visuelles périphériques (les patients atteints de rétinite pigmentaire) et des sujets présentant des atteintes visuelles centrales (les patients atteints de maladie de Stargardt). Une quatrième population était composée de patients atteints de la neuropathie optique héréditaire de Leber, neuropathie héréditaire mitochondriale connue dans la littérature pour présenter une dissociation des atteintes visuelles (cæco-centrales) et pupillaires grâce à l'épargne relative des cellules ganglionnaires rétiniennes à mélanopsine.

L'exploration de ces méthodes innovantes a abouti à des résultats nouveaux, riches et encourageants. A temps de présentation égal, ces nouveaux tests présentent un gros intérêt par rapport au PLR et au RAPD puisqu'ils donnent un indice robuste sur la présence d'anomalies dans le circuit de la perception visuelle mais également sur la localisation dans le champ visuel de cette anomalie et donc sur le type d'atteinte en présence. Dans le cas de la rétinite pigmentaire où l'atteinte est souvent très structurée et stéréotypée, la superposition des données du comportement pupillaire dans les différentes localisations et du champ visuel clinique donne une bonne correspondance qui se reflète également dans la comparaison des réponses pupillaires et de l'OCT. Chez les patients atteints de maladie de Stargardt les conclusions sont moins simples puisqu'il semblerait que l'activité pupillaire reflète mieux les atteintes structurelles que les atteintes visuelles. Il est important de noter que le champ visuel tel que mesuré actuellement en routine clinique n'est pas forcément une mesure fiable à 100% puisqu'elle fait appel à l'attention, la compréhension et la réactivité du patient ce qui aboutit par moment à des différences significatives dans la mesure du champ visuel d'un jour à l'autre sans raison physiologique au niveau des voies visuelles. Si ce test est actuellement très utilisé dans la détection et le suivi de nombreuses pathologies, il ne reflète pas forcément une réalité absolue au niveau de l'atteinte rétinienne, contrairement à l'OCT (en prenant tout de même des précautions dans son interprétation, par exemple le cas d'un œdème rétinien qui augmente l'épaisseur rétinienne mesurée à l'OCT qui ne reflète alors pas une augmentation du nombre de cellules rétiniennes). Les résultats des patients atteints de neuropathie optique héréditaire de Leber sont plus en demi-teinte mais cependant beaucoup plus prometteur que les attentes vis-à-vis de la littérature. En effet il n'existe pas de lien évident entre comportement pupillaire et atteinte visuelle ou structurelle de la rétine, toutefois des anomalies ressortent, aux niveaux des tests de pupillométrie standards, et au niveau des tests de pupillométrie dynamique.

L'intérêt de ces tests de pupillométrie réside en partie dans le fait qu'ils sont courts et ne reposent sur aucune tâche ou consigne autre que la fixation d'un point. D'autre part, ils se démarquent par la facilité de leur instrumentation et de l'implémentation de leurs analyses.

Cette étude constitue une preuve de concept encourageante dans l'objectif de poursuivre nos investigations. Etant donné les faibles effectifs de nos populations, il est indispensable de passer par l'exploration massive sur des cohortes afin d'établir des mesures normatives chez des sujets sains mais également d'étendre nos observations chez les populations de patients à d'autres pathologies comme la DMLA ou le glaucome qui sont des maladies avec des

prévalences importantes qui en font l'une et l'autre les causes principales de handicap visuel dans leur tranches d'âges respectives. Une étude est actuellement en cours afin de mieux caractériser la variabilité des comportements pupillaires enregistrés lors du PFT chez les volontaires sains, qui utilise les mêmes stimuli que ceux développés pour PupDyn. 75 volontaires doivent être testés dont 25 vont répéter 4 fois la session d'enregistrement sur 4 jours distincts afin d'évaluer la répétabilité du test et des puissances spectrales obtenues. Cette étude nous permettra également d'observer si l'âge qui a un effet sur la mobilité de la pupille (diminution du diamètre moyen et du tonus musculaire des muscles iriens), influe sur les puissances spectrales de la pupille aux différentes fréquences d'intérêt.

Une étude paramétriques sur les différents stimuli est également nécessaire afin d'optimiser la balance entre précision et temps de mesure (exemple de test paramétrique pour le PFT en Annexe Figure 93).

Il est également à noter que bien des analyses sont encore possibles compte tenu de la masse importante de données ophtalmologiques et pupillaires recueillies au cours de cette étude. Il est possible par exemple d'imaginer des facteurs mixtes tenant compte de plusieurs variables au sein d'un même test, mais également des cofacteurs inter-tests, des comparaisons interoculaires, inter-tests, inter-pathologies etc.

Une autre piste afin d'améliorer l'analyse du test du PFT serait de trouver une normalisation des spectres permettant une catégorisation des réponses pupillaires aux fréquences pupillaires décrivant si le sujet a répondu ou non ou de façon partielle à chaque fréquence d'intérêt. Nous avons mené des analyses en ce sens afin de créer une normalisation décrivant la significativité des pics aux fréquences d'intérêt en comparaison du bruit avoisinant chaque fréquence (présenté en Annexe Figure 94).

Nous avons également fait l'impasse sur l'analyse des mouvements oculaires en raison d'une calibration souvent instable et de mauvaise qualité avec l'oculomètre utilisé, mais il serait intéressant de se pencher sur le lien éventuel qui existe entre les mouvements oculaires et les mouvements pupillaires, des études ayant montré que la pupille reflète la préparation motrice à la saccade (Fukuda, Stern, Brown, & Russo, 2005; Jainta, Vernet, Yang, & Kapoula, 2011; Wang, Boehnke, Itti, & Munoz, 2014). D'autre part chez les patients présentant un déficit de la perception visuelle centrale comme les patients atteints de maladie de Stargardt, la fixation stable d'un point au centre de l'écran peut s'avérer être un véritable défi, car ils doivent fixer un point qu'ils ne peuvent pas voir. Il est actuellement difficile de faire la part des choses entre une réponse pupillaire faible dans une partie du champ visuel à cause d'une baisse de la



sensibilité ou liée à une fixation instable causant des mouvements involontaires et indésirables de l'œil et donc de la position de regard modifiant constamment la localisation de la stimulation sur la rétine. L'instabilité de la fixation implique dans le PFT une perte de la spécificité spatiale. Différentes solutions sont envisageables dans le but de répondre à cette problématique. Une partie de mon travail effectué au cours de ces années de thèse, et qui n'est pas présenté dans ce document, a porté sur la sonification des mouvements oculaires qui est l'apport d'un biofeedback auditif aux mouvements oculaires ayant pour but d'optimiser la prise de conscience des mouvements oculaires, faisant l'objet d'une proprioception très pauvre, afin d'en améliorer le contrôle volontaire. Une étude publiée en 2017 montre qu'il est possible de modifier le contrôle oculomoteur chez des sujets sains lors de la poursuite visuelle lisse en utilisant cette méthode (Boyer et al, 2017). L'évaluation de l'apport de la sonification des mouvements de fixation chez des patients rencontrant des difficultés n'a pas encore été établie mais cette méthode semble envisageable afin d'optimiser la stabilité de la fixation lors de la mesure de l'activité pupillaire afin de limiter l'effet des mouvements oculaires involontaires sur la position de l'image rétinienne et potentiellement sur la pupille. Une autre solution qui apporterait une amélioration de la spécificité spatiale serait d'asservir la position du stimulus à la position de regard de telle sorte qu'un secteur du PFT serait toujours projeté au même endroit sur la rétine (mais pas au même endroit sur l'écran).

Des études sont en cours montrant que les réponses pupillaires enregistrées lors du PCT et du PFT sont peu voire ne sont pas sensibles à des modulations globales (facteurs cognitifs, éveil, humeur, heure de la journée, etc.). Il est donc envisageable que ces tests constituent les futures routines de dépistage simples et rapides de pathologies oculaires évoluant vers un handicap visuel.

Si il paraît difficile que ces nouvelles méthodes remplacent les examens de routine clinique car il sera certainement délicat d'obtenir les mêmes degrés de précision tout en conservant un gain de temps lors de la mesure, il est toutefois intéressant d'imaginer une utilisation plus « grand public » grâce à l'élaboration de routines et de dispositifs simples d'utilisation pour du personnel non médical et chez des individus chez qui il est difficile d'obtenir des réponses lors des mesures subjectives (comme la mesure du champ visuel par exemple). Ces tests de pupillométrie pourraient par exemple être utiles dans les écoles auprès de jeunes enfants où ils serviraient dans le diagnostic et le dépistage d'anomalies visuelles permettant leur aiguillage vers des professionnels de santé compétents.

# DISCUSSION GENERALE, PERSPECTIVES

---

Ces travaux de thèse avaient pour but de lier les connaissances fondamentales sur le comportement pupillaire avec des applications cliniques innovantes de contrôle des voies visuelles dans le cadre de dépistage, de diagnostic et de suivi de pathologies.

Dans un premier chapitre, nous avons mis en évidence que les modulations du diamètre pupillaire lors d'une exploration visuelle, liées d'une part à des luminances locales hétérogènes et d'autre part à un aspect cognitif attentionnel mettant en jeu le circuit d'innervation sympathique de la pupille menant à une dilatation pupillaire, n'a pas d'effet significatif sur les performances de discrimination de fréquence spatiale (Ajasse, Benosman & Lorenceau, 2018). D'après notre étude, lors de l'exploration visuelle, la discrimination de détails fins n'est pas sensible aux variations de diamètre pupillaire de relativement faibles amplitudes causées par l'hétérogénéité de luminance des objets fixés et par l'attention. Grâce à cette nouvelle connaissance sur le lien entre la taille de la pupille et les performances visuelles, nous comprenons mieux les effets des aspects cognitifs mis en jeu lors d'exams ophtalmologiques. Par exemple, lors de la mesure de l'acuité visuelle, l'attention, l'aspect émotionnel ou même parfois le stress engendrés par le milieu clinique, ne devraient pas avoir d'effet sur la capacité à discriminer des optotypes.

Dans un second temps, l'étude clinique décrite avait pour but de développer des nouvelles méthodes de pupillométrie utilisant les dynamiques pupillaires afin de détecter chez des patients atteints de pathologies oculaires connues des localisations dans le champ visuel présentant une perte de sensibilité visuelle. Nous avons comparé les comportements pupillaires chez des patients atteints de maladie de Stargardt, de rétinite pigmentaire et de neuropathie optique héréditaire de Leber avec le comportement pupillaire de volontaires sains. Nous avons également évalué dans quelle mesure les résultats de nos tests pupillaires étaient corrélés aux tests de périmétrie subjective classique et nous les avons mis en relation avec des observations structurales de la rétine à l'OCT. Nous avons trouvé des résultats plus fins et plus riches qu'avec des tests de pupillométrie « statique » tels que le PLR et le RAPD que nous avons également enregistrés chez ces populations. Nous avons trouvé des résultats très encourageants pour le PCT et le PFT, utilisant l'analyse spectral du comportement pupillaire, avec globalement de bons niveaux de discrimination des populations atteintes de la population contrôle. Ces tests permettraient donc de détecter la présence d'une anomalie de la

réponse pupillaire résultant d'une perte de la sensibilité visuelle liée à la présence d'une pathologie oculaire.

De nombreux travaux sont à mener afin de concrétiser l'utilisation de la pupille et des nouveaux tests développés ici, comme moyen de dépistage de routine en milieu clinique. Entre la recherche fondamentale et l'utilisation en routine clinique, la route est longue, que ce soit pour obtenir des données massives établissant des résultats d'une large population contrôlée pour concevoir et commercialiser un dispositif intégré, ou pour obtenir des autorisations administratives. Un frein important sera probablement l'acceptabilité par les professionnels de santé de ces nouveaux outils d'aide au diagnostic potentiellement mal formés et renseignés sur l'intérêt de la pupille pour le dépistage, le diagnostic et le suivi de pathologies.

A l'heure actuelle, le PLR et le RAPD, tous deux utilisant des stimuli plein champ, sont parfois utilisés en milieu clinique avec une observation souvent plus qualitative que quantitative. Le manque de finesse, spatiale et temporelle, de ces tests explique probablement leur faible puissance discriminante, et du coup une utilisation limitée. Les travaux décrits ici montrent qu'il est possible de raffiner les stimulations et les analyses permettant d'améliorer la capacité des tests pupillométriques à fournir des diagnostics plus précis et spécifiques avec un haut degré de confiance.

De façon très positive, ces dernières années ont vu émerger de nouveaux dispositifs médicaux utilisant le comportement pupillomoteur comme ceux d>IDMed (<https://www.idmed.fr/>), une société française basée à Marseille, développant et commercialisant des dispositifs médicaux innovants utilisés en anesthésie et en réanimation, comme le NeuroLight® mesurant le PLR des patients pour affiner leur bilan neurologique ou l'Algiscan® qui grâce au suivi pupillaire des patients, mesure le niveau d'analgésie et fournit des interprétations cliniques. On peut également souligner la présence de la société Metrovision (<https://metrovision.fr/index.html>) dans le domaine de la pupillométrie, une société qui développe et commercialise des dispositifs médicaux pour mesurer les fonctions visuelles dans le cadre de dépistage, de diagnostic et de suivi de pathologie affectant le système visuel tels que des appareils de mesure du champ visuel, et qui propose également des oculomètres mesurant la position et la taille des deux pupilles durant les examens cliniques.

La pupillométrie est en train de se démocratiser dans le domaine clinique, c'est pourquoi il est primordial de bien comprendre les mécanismes de régulation de sa taille et de ses dynamiques, et qu'il est temps de se pencher sur ce que la pupille peut apporter à l'ophtalmologie.

# BIBLIOGRAPHIE

---

- Aissani, C., Cottureau, B., Dumas, G., Paradis, A. L., & Lorenceau, J. (2011). Magnetoencephalographic signatures of visual form and motion binding. *Brain research*, 1408, 27-40.
- Ajasse, S., Benosman, R. B., & Lorenceau, J. (2018). Effects of pupillary responses to luminance and attention on visual spatial discrimination. *Journal of vision*, 18(11), 6-6.
- Ajtony, C., Balla, Z., Somoskeoy, S., & Kovacs, B. (2007). Relationship between visual field sensitivity and retinal nerve fiber layer thickness as measured by optical coherence tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*, 48(1), 258-263.
- Allen, A. E., Storchi, R., Martial, F. P., Bedford, R. A., & Lucas, R. J. (2017). Melanopsin contributions to the representation of images in the early visual system. *Current Biology*, 27(11), 1623-1632.
- Aston-Jones, G., & Cohen, J. D. (2005). An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu. Rev. Neurosci.*, 28, 403-450.
- Baker, K. E. (1949). Some Variables Influencing Vernier Acuity I. Illumination and Exposure Time II. Wave-Length of Illumination. *JOSA*, 39(7), 567-576.
- Barbur, J. L., Moro, S., Harlow, J. A., Lam, B. L., & Liu, M. (2004). Comparison of pupil responses to luminance and colour in severe optic neuritis. *Clinical neurophysiology*, 115(11), 2650-2658.
- Barbur, J. L., Wolf, J., & Lennie, P. (1998). Visual processing levels revealed by response latencies to changes in different visual attributes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1412), 2321-2325.
- Bauermeister, M., Künkel, H., & Selbach, H. (1967). Die Periodik der spontanen Pupillenunruhe. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 209(5), 415-425.
- Beatty, J. (1982). Task-evoked pupillary responses, processing load, and the structure of processing resources. *Psychological bulletin*, 91(2), 276.
- Beatty, J., & Lucero-Wagoner, B. (2000). The pupillary system. *Handbook of psychophysiology*, 2(142-162).
- Beatty, J., & Wagoner, B. L. (1978). Pupillometric signs of brain activation vary with level of cognitive processing. *Science*, 199(4334), 1216-1218.
- Berkley, M. A., Kitterle, F., & Watkins, D. W. (1975). Grating visibility as a function of orientation and retinal eccentricity. *Vision research*, 15(2), 239-244.

- Berryhill, M. E., Chiu, T., & Hughes, H. C. (2006). Smooth pursuit of nonvisual motion. *Journal of neurophysiology*, 96(1), 461-465.
- Binda, P., & Gamlin, P. D. (2017). Renewed attention on the pupil light reflex. *Trends in neurosciences*, 40(8), 455-457.
- Binda, P., & Murray, S. O. (2015a). Keeping a large-pupilled eye on high-level visual processing. *Trends in cognitive sciences*, 19(1), 1-3.
- Binda, P., & Murray, S. O. (2015b). Spatial attention increases the pupillary response to light changes. *Journal of vision*, 15(2), 1
- Binda, P., Pereverzeva, M., & Murray, S. O. (2013). Attention to bright surfaces enhances the pupillary light reflex. *Journal of Neuroscience*, 33(5), 2199-2204.-1..
- Binda, P., Pereverzeva, M., & Murray, S. O. (2014). Pupil size reflects the focus of feature-based attention. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*.
- Birch, E. E., & Birch, D. G. (1987). Pupillometric measures of retinal sensitivity in infants and adults with retinitis pigmentosa. *Vision research*, 27(4), 499-505.
- Bitsios, P., Szabadi, E., & Bradshaw, C. M. (1996). The inhibition of the pupillary light reflex by the threat of an electric shock: a potential laboratory model of human anxiety. *Journal of psychopharmacology*, 10(4), 279-287.
- Blohm, G., Missal, M., & Lefevre, P. (2005). Direct evidence for a position input to the smooth pursuit system. *Journal of Neurophysiology*, 94(1), 712-721.
- Bombeke, K., Duthoo, W., Mueller, S. C., Hopf, J. M., & Boehler, C. N. (2016). Pupil size directly modulates the feedforward response in human primary visual cortex independently of attention. *NeuroImage*, 127, 67-73.
- Bouma, H., & Baghuis, L. C. J. (1971). Hippus of the pupil: Periods of slow oscillations of unknown origin. *Vision Research*, 11(11), 1345-1351.
- Boyer, E. O., Portron, A., Bevilacqua, F., & Lorenceau, J. (2017). Continuous Auditory Feedback of Eye Movements: An Exploratory Study toward Improving Oculomotor Control. *Frontiers in neuroscience*, 11, 197.
- Bradley, A., & Skottun, B. C. (1987). Effects of contrast and spatial frequency on vernier acuity. *Vision Research*, 27(10), 1817-1824.
- Brainard, G. C., Sliney, D., Hanifin, J. P., Glickman, G., Byrne, B., Greeson, J. M., ... & Rollag, M. D. (2008). Sensitivity of the human circadian system to short-wavelength (420-nm) light. *Journal of biological rhythms*, 23(5), 379-386.
- Bremner, F. D., Shallo-Hoffmann, J., Riordan-Eva, P., & Smith, S. E. (1999). Comparing pupil function with visual function in patients with Leber's hereditary optic neuropathy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 40(11), 2528-2534.
- Bridgeman, B., & Stark, L. (Eds.). (1977). *The Theory of Binocular Vision: Ewald Hering (1868)*. Springer US.

- Brown, T. M., Gias, C., Hatori, M., Keding, S. R., Coffey, P. J., Gigg, J., ... & Lucas, R. J. (2010). Melanopsin contributions to irradiance coding in the thalamo-cortical visual system. *PLoS biology*, 8(12), e1000558.
- Burr, D. C., Morrone, M. C., & Ross, J. (1994). Selective suppression of the magnocellular visual pathway during saccadic eye movements. *Nature*, 371(6497), 511.
- Campbell, F. W., & Gregory, A. H. (1960). Effect of size of pupil on visual acuity. *Nature*, 187(4743), 1121.
- Campbell, F. W., & Gubisch, R. W. (1966). Optical quality of the human eye. *The Journal of physiology*, 186(3), 558-578.
- Campbell, F. W., & Whiteside, T. C. D. (1950). Induced pupillary oscillations. *The British journal of ophthalmology*, 34(3), 180.
- Campbell, F. W., Nachmias, J., & Jukes, J. (1970). Spatial-frequency discrimination in human vision. *JOSA*, 60(4), 555-559.
- Carkeet, A., Leo, S. W., Khoo, B. K., & Eong, K. G. A. (2003a). Modulation transfer functions in children: pupil size dependence and meridional anisotropy. *Investigative ophthalmology & visual science*, 44(7), 3248-3256.
- Carkeet, A., Velaedan, S., Tan, Y. K., Lee, D. Y. J., & Tan, D. T. (2003b). Higher order ocular aberrations after cycloplegic and non-cycloplegic pupil dilation. *Journal of refractive surgery*, 19(3), 316-322.
- Carle, C. F., James, A. C., Kolic, M., Loh, Y. W., & Maddess, T. (2011). High-resolution multifocal pupillographic objective perimetry in glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(1), 604-610.
- Carrasco, M. (2011). Visual attention: The past 25 years. *Vision research*, 51(13), 1484-1525.
- Chapman, C. R., Oka, S., Bradshaw, D. H., Jacobson, R. C., & Donaldson, G. W. (1999). Phasic pupil dilation response to noxious stimulation in normal volunteers: relationship to brain evoked potentials and pain report. *Psychophysiology*, 36(1), 44-52.
- Cherici, C., Kuang, X., Poletti, M., & Rucci, M. (2012). Precision of sustained fixation in trained and untrained observers. *Journal of vision*, 12(6), 31-31.
- Cho, J. W., Sung, K. R., Lee, S., Yun, S. C., Kang, S. Y., Choi, J., ... & Kook, M. S. (2010). Relationship between visual field sensitivity and macular ganglion cell complex thickness as measured by spectral-domain optical coherence tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(12), 6401-6407.
- Chung, S. T., & Pease, P. L. (1999). Effect of yellow filters on pupil size. *Optometry and vision science: official publication of the American Academy of Optometry*, 76(1), 59-62.
- Churchland, P. S., & Ramachandran, V. S. (1994). Filling in: Why Dennett is wrong. *Consciousness in philosophy and cognitive neuroscience*, 65-91.

- Clark, C. V., & Mapstone, R. (1986). Pupil cycle time in primary closed-angle glaucoma. *Canadian journal of ophthalmology. Journal canadien d'ophtalmologie*, 21(3), 88-91.
- Clarke, R. J., Zhang, H., & Gamlin, P. D. (2003a). Characteristics of the pupillary light reflex in the alert rhesus monkey. *Journal of Neurophysiology*, 89(6), 3179-3189.
- Clarke, R. J., Zhang, H., & Gamlin, P. D. (2003b). Primate pupillary light reflex: receptive field characteristics of pretectal luminance neurons. *Journal of neurophysiology*, 89(6), 3168-3178.
- Cox, T. A. (1989). Pupillographic characteristics of simulated relative afferent pupillary defects. *Investigative ophthalmology & visual science*, 30(6), 1127-1131.
- Dacey, D. M., Liao, H. W., Peterson, B. B., Robinson, F. R., Smith, V. C., Pokorny, J., ... & Gamlin, P. D. (2005). Melanopsin-expressing ganglion cells in primate retina signal colour and irradiance and project to the LGN. *Nature*, 433(7027), 749.
- Danesh-Meyer, H. V., Carroll, S. C., Foroozan, R., Savino, P. J., Fan, J., Jiang, Y., & Vander Hoorn, S. (2006). Relationship between retinal nerve fiber layer and visual field sensitivity as measured by optical coherence tomography in chiasmal compression. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(11), 4827-4835.
- Day, M., Seidel, D., Gray, L. S., & Strang, N. C. (2009). The effect of modulating ocular depth of focus upon accommodation microfluctuations in myopic and emmetropic subjects. *Vision research*, 49(2), 211-218.
- de Gee, J. W., Knapen, T., & Donner, T. H. (2014). Decision-related pupil dilation reflects upcoming choice and individual bias. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(5), E618-E625.
- Ditchburn, R. W. (1973). Eye-movements and visual perception.
- Dodge, R. (1903). Five types of eye movement in the horizontal meridian plane of the field of regard. *American journal of physiology-legacy content*, 8(4), 307-329.
- Dougherty, R. F., Koch, V. M., Brewer, A. A., Fischer, B., Modersitzki, J., & Wandell, B. A. (2003). Visual field representations and locations of visual areas V1/2/3 in human visual cortex. *Journal of vision*, 3(10), 1-1.
- Ecker, J. L., Dumitrescu, O. N., Wong, K. Y., Alam, N. M., Chen, S. K., LeGates, T., ... & Hattar, S. (2010). Melanopsin-expressing retinal ganglion-cell photoreceptors: cellular diversity and role in pattern vision. *Neuron*, 67(1), 49-60.
- Einhauser, W., Koch, C., & Carter, O. (2010). Pupil dilation betrays the timing of decisions. *Frontiers in human neuroscience*, 4, 18.
- Ellermeier, W., & Westphal, W. (1995). Gender differences in pain ratings and pupil reactions to painful pressure stimuli. *Pain*, 61(3), 435-439.
- Ezenman, M., Hallett, P. E., & Frecker, R. C. (1985). Power spectra for ocular drift and tremor. *Vision research*, 25(11), 1635-1640.

- Fan, X., Miles, J. H., Takahashi, N., & Yao, G. (2009). Abnormal transient pupillary light reflex in individuals with autism spectrum disorders. *Journal of autism and developmental disorders*, 39(11), 1499-1508.
- Fercher, A. F., Drexler, W., Hitzenberger, C. K., & Lasser, T. (2003). Optical coherence tomography-principles and applications. *Reports on progress in physics*, 66(2), 239.
- Ferrari, S., Di Iorio, E., Barbaro, V., Ponzin, D., S Sorrentino, F., & Parmeggiani, F. (2011). Retinitis pigmentosa: genes and disease mechanisms. *Current genomics*, 12(4), 238-249.
- Fishman, G. A., Farbman, J. S., & Alexander, K. R. (1991). Delayed rod dark adaptation in patients with Stargardt's disease. *Ophthalmology*, 98(6), 957-962.
- Franklin, M. S., Broadway, J. M., Mrazek, M. D., Smallwood, J., & Schooler, J. W. (2013). Window to the wandering mind: Pupillometry of spontaneous thought while reading. *The Quarterly Journal of Experimental Psychology*, 66(12), 2289-2294.
- Fukuda, K., Stern, J. A., Brown, T. B., & Russo, M. B. (2005). Cognition, blinks, eye-movements, and pupillary movements during performance of a running memory task. *Aviation, space, and environmental medicine*, 76(7), C75-C85.
- Gamlin, P. D., McDougal, D. H., Pokorny, J., Smith, V. C., Yau, K. W., & Dacey, D. M. (2007). Human and macaque pupil responses driven by melanopsin-containing retinal ganglion cells. *Vision research*, 47(7), 946-954.
- Georgiev, D. (2002). Photons do collapse in the retina not in the brain cortex: evidence from visual illusions. *arXiv preprint quant-ph/0208053*.
- Gomes, N. L., Greenstein, V. C., Carlson, J. N., Tsang, S. H., Smith, R. T., Carr, R. E., ... & Chang, S. (2009). A comparison of fundus autofluorescence and retinal structure in patients with Stargardt disease. *Investigative ophthalmology & visual science*, 50(8), 3953-3959.
- Gray, H. (1878). *Anatomy of the human body* (Vol. 8). Lea & Febiger.
- Gray, Henry Gray's Anatomy: Descriptive and Applied (Philadelphia: Lea & Febiger, 1913) 1101
- Green, D. G., Powers, M. K., & Banks, M. S. (1980). Depth of focus, eye size and visual acuity. *Vision research*, 20(10), 827-835.
- Hakerem, G. A. D., & Sutton, S. (1966). Pupillary response at visual threshold. *Nature*.
- Hamilton, W., & Drewry, J. R. (1983). Edge-light pupil cycle time and optic nerve disease. *Annals of ophthalmology*, 15(8), 714-721.
- Hannibal, J., Hindersson, P., Knudsen, S. M., Georg, B., & Fahrenkrug, J. (2002). The photopigment melanopsin is exclusively present in pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide-containing retinal ganglion cells of the retinohypothalamic tract. *J Neurosci*, 22(1), RC191.



- Hartong, D. T., Berson, E. L., & Dryja, T. P. (2006). Retinitis pigmentosa. *The Lancet*, 368(9549), 1795-1809.
- Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M., & Yau, K. W. (2002). Melanopsin-containing retinal ganglion cells: architecture, projections, and intrinsic photosensitivity. *Science*, 295(5557), 1065-1070.
- Heaver, B., & Hutton, S. B. (2011). Keeping an eye on the truth? Pupil size changes associated with recognition memory. *Memory*, 19(4), 398-405.
- Hering, E. (1868). *Die lehre vom binocularen sehen*. Engelmann.
- Hess, E. H., & Polt, J. M. (1964). Pupil size in relation to mental activity during simple problem-solving. *Science*, 143(3611), 1190-1192.
- Holmqvist, K., Nyström, M., Andersson, R., Dewhurst, R., Jarodzka, H., & Van de Weijer, J. (2011). *Eye tracking: A comprehensive guide to methods and measures*. OUP Oxford.
- Hong, S., Narkiewicz, J., & Kardon, R. H. (2001). Comparison of pupil perimetry and visual perimetry in normal eyes: decibel sensitivity and variability. *Investigative ophthalmology & visual science*, 42(5), 957-965.
- Hopstaken, J. F., van der Linden, D., Bakker, A. B., & Kompier, M. A. (2015). The window of my eyes: Task disengagement and mental fatigue covary with pupil dynamics. *Biological psychology*, 110, 100-106.
- Hua, L. V., Kawasaki, P., Pokala, V. N., & Hayes Jr, J. (2012). An Interprofessional Study of the Effects of Topical Pilocarpine on Oral and Visual Function. *Health and Interprofessional Practice*, 1(3), 4.
- Huey, E. B. (1908). *The psychology and pedagogy of reading*. The Macmillan Company.
- Hupé, J. M., Lamirel, C., & Lorenceau, J. (2009). Pupil dynamics during bistable motion perception. *Journal of vision*, 9(7), 10-10.
- Husta, C., Dalmaijer, E., Belopolsky, A., & Mathot, S. (2018). The Pupillary Light Response Reflects Visual Working Memory Content. *BioRxiv*, 477562.
- Jacobson, D. M., Stone, E. M., Miller, N. R., Pollock, S. C., Fletcher, W. A., McNussen, P. J., & Martin, T. J. (1998). Relative afferent pupillary defects in patients with Leber hereditary optic neuropathy and unilateral visual loss. *American journal of ophthalmology*, 126(2), 291-295.
- Jainta, S., Vernet, M., Yang, Q., & Kapoula, Z. (2011). The pupil reflects motor preparation for saccades-even before the eye starts to move. *Frontiers in human neuroscience*, 5, 97.
- Javal, E. (1879). Conditions de la lecture facile. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 8.
- Johnson, E. L., Miller Singley, A. T., Peckham, A. D., Johnson, S. L., & Bunge, S. A. (2014). Task-evoked pupillometry provides a window into the development of short-term memory capacity. *Frontiers in psychology*, 5, 218.

- Joos, K. M., & Melson, M. R. (2012). Control of the Pupil. In *Primer on the Autonomic Nervous System (Third Edition)* (pp. 239-242).
- Kahneman, D., Beatty, J., & Pollack, I. (1967). Perceptual deficit during a mental task. *Science*, *157*(3785), 218-219.
- Kardon, R., Anderson, S. C., Damarjian, T. G., Grace, E. M., Stone, E., & Kawasaki, A. (2009). Chromatic pupil responses: preferential activation of the melanopsin-mediated versus outer photoreceptor-mediated pupil light reflex. *Ophthalmology*, *116*(8), 1564-1573.
- Kardon, R., Anderson, S. C., Damarjian, T. G., Grace, E. M., Stone, E., & Kawasaki, A. (2011). Chromatic pupillometry in patients with retinitis pigmentosa. *Ophthalmology*, *118*(2), 376-381.
- Kastner, S., O'Connor, D. H., Fukui, M. M., Fehd, H. M., Herwig, U., & Pinsk, M. A. (2004). Functional imaging of the human lateral geniculate nucleus and pulvinar. *Journal of neurophysiology*, *91*(1), 438-448.
- Kawasaki, A., Herbst, K., Sander, B., & Milea, D. (2010). Selective wavelength pupillometry in Leber hereditary optic neuropathy. *Clinical & experimental ophthalmology*, *38*(3), 322-324.
- Kimura, E., & Young, R. S. (1995). Nature of the pupillary responses evoked by chromatic flashes on a white background. *Vision Research*, *35*(7), 897-906.
- Ko, H. K., Snodderly, D. M., & Poletti, M. (2016). Eye movements between saccades: Measuring ocular drift and tremor. *Vision research*, *122*, 93-104.
- Kohn, M., & Clynes, M. (1969). Color dynamics of the pupil. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *156*(2), 931-950.
- Krauzlis, R. J. (2004). Recasting the smooth pursuit eye movement system. *Journal of neurophysiology*, *91*(2), 591-603.
- Kucewicz, M. T., Dolezal, J., Kremen, V., Berry, B. M., Miller, L. R., Magee, A. L., ... & Worrell, G. A. (2018). Pupil size reflects successful encoding and recall of memory in humans. *Scientific reports*, *8*(1), 4949.
- La Morgia, C., Ross-Cisneros, F. N., Sadun, A. A., Hannibal, J., Munarini, A., Mantovani, V., ... & Salomao, S. R. (2010). Melanopsin retinal ganglion cells are resistant to neurodegeneration in mitochondrial optic neuropathies. *Brain*, *133*(8), 2426-2438.
- Laeng, B., & Endestad, T. (2012). Bright illusions reduce the eye's pupil. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *109*(6), 2162-2167.
- Laeng, B., Sirois, S., & Gredebäck, G. (2012). Pupillometry: A window to the preconscious?. *Perspectives on psychological science*, *7*(1), 18-27.
- Lamirel, C., Ajasse, S., Moulignier, A., Salomon, L., Deschamps, R., Gueguen, A., ... & Lorceau, J. (2018). A novel method of inducing endogenous pupil oscillations to detect patients with unilateral optic neuritis. *PloS one*, *13*(8), e0201730.

- Lanthony, P. (1978). The desaturated panel D-15. *Documenta Ophthalmologica*, 46(1), 185-189.
- Larson, M. D., & Sessler, D. I. (2012). Pupillometry to guide postoperative analgesia. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 116(5), 980-982.
- Lazzerini Ospri, L., Prusky, G., & Hattar, S. (2017). Mood, the circadian system, and melanopsin retinal ganglion cells. *Annual review of neuroscience*, 40, 539-556.
- Lin, Y. H., Fang, L. H., & Du, G. H. (2018). Pilocarpine. In *Natural Small Molecule Drugs from Plants* (pp. 309-312). Springer, Singapore.
- Lisberger, S. G. (2015). Visual guidance of smooth pursuit eye movements. *Annual review of vision science*, 1, 447-468.
- Lisberger, S. G., & Westbrook, L. E. (1985). Properties of visual inputs that initiate horizontal smooth pursuit eye movements in monkeys. *Journal of Neuroscience*, 5(6), 1662-1673.
- Lisberger, S. G., Evinger, C., Johanson, G. W., & Fuchs, A. F. (1981). Relationship between eye acceleration and retinal image velocity during foveal smooth pursuit in man and monkey. *Journal of Neurophysiology*, 46(2), 229-249.
- Lisberger, S. G., Morris, E. J., & Tychsen, L. (1987). Visual motion processing and sensory-motor integration for smooth pursuit eye movements. *Annual review of neuroscience*, 10(1), 97-129.
- Loewenfeld, I. E. (1966). Pupillary movements associated with light and near vision. *Recent Developments in Vision Research*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 17-105.
- Lutty, G. A. (2013). Effects of diabetes on the eye. *Investigative ophthalmology & visual science*, 54(14), ORSF81-ORSF87.
- Maddess, T., Bedford, S. M., Goh, X. L., & James, A. C. (2009). Multifocal pupillographic visual field testing in glaucoma. *Clinical & experimental ophthalmology*, 37(7), 678-686.
- Man, P. Y. W., Turnbull, D. M., & Chinnery, P. F. (2002). Leber hereditary optic neuropathy. *Journal of medical genetics*, 39(3), 162-169.
- Manor, R. S., Yassur, Y., Siegal, R., & Ben-Sira, I. (1981). The pupil cycle time test: age variations in normal subjects. *The British journal of ophthalmology*, 65(11), 750.
- Margolis, D. J., Newkirk, G., Euler, T., & Detwiler, P. B. (2008). Functional stability of retinal ganglion cells after degeneration-induced changes in synaptic input. *Journal of Neuroscience*, 28(25), 6526-6536.
- Martinez-Conde, S., Macknik, S. L., & Hubel, D. H. (2004). The role of fixational eye movements in visual perception. *Nature reviews neuroscience*, 5(3), 229.

- Martyn, C. N., & Ewing, D. J. (1986). Pupil cycle time: a simple way of measuring an autonomic reflex. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 49(7), 771-774.
- Massin, P., Vicaut, E., Haouchine, B., Erginay, A., Paques, M., & Gaudric, A. (2001). Reproducibility of retinal mapping using optical coherence tomography. *Archives of Ophthalmology*, 119(8), 1135-1142.
- Mathôt, S., Grainger, J., & Strijkers, K. (2017). Pupillary responses to words that convey a sense of brightness or darkness. *Psychological science*, 28(8), 1116-1124.
- Mathôt, S., Van Der Linden, L., Grainger, J., & Vitu, F. (2013). The pupillary light response reveals the focus of covert visual attention. *PLoS One*, 8(10), e78168.
- Merritt, S. L., Schnyders, H. C., Patel, M., Basner, R. C., & O'Neill, W. (2004). Pupil staging and EEG measurement of sleepiness. *International Journal of psychophysiology*, 52(1), 97-112.
- Miki, A., Iijima, A., Takagi, M., Usui, T., Hasegawa, S., Abe, H., & Bando, T. (2006). Pupillography of relative afferent pupillary defect contralateral to monocular mature cataract. *Canadian journal of ophthalmology*, 41(4), 469-471.
- Miller, S. D., & Thompson, H. S. (1978a). Edge-light pupil cycle time. *British Journal of Ophthalmology*, 62(7), 495-500.
- Miller, S. D., & Thompson, H. S. (1978b). Pupil cycle time in optic neuritis. *American journal of ophthalmology*, 85(5 Pt 1), 635-642.
- Moura, A. L. A., Nagy, B. V., La Morgia, C., Barboni, P., Oliveira, A. G. F., Salomao, S. R., ... & Carelli, V. (2013). The pupil light reflex in Leber's hereditary optic neuropathy: evidence for preservation of melanopsin-expressing retinal ganglion cells. *Investigative ophthalmology & visual science*, 54(7), 4471-4477.
- Myers, G. A., & Stark, L. (1990). Topology of the near response triad. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 10(2), 175-181.
- Naber, M., & Nakayama, K. (2013). Pupil responses to high-level image content. *Journal of vision*, 13(6), 7-7.
- Naber, M., Frässle, S., Rutishauser, U., & Einhäuser, W. (2013). Pupil size signals novelty and predicts later retrieval success for declarative memories of natural scenes. *Journal of vision*, 13(2), 11-11.
- Newman, L. A., Walker, M. T., Brown, R. L., Cronin, T. W., & Robinson, P. R. (2003). Melanopsin forms a functional short-wavelength photopigment. *Biochemistry*, 42(44), 12734-12738.
- Niedermeyer, E., & da Silva, F. L. (Eds.). (2005). *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Ohtsuka, K., Asakura, K., Kawasaki, H., & Sawa, M. (1988). Respiratory fluctuations of the human pupil. *Experimental brain research*, 71(1), 215-217.

- Oka, S., Chapman, C. R., Kim, B., Shimizu, O., Noma, N., Takeichi, O., ... & Oi, Y. (2010). Predictability of painful stimulation modulates subjective and physiological responses. *The Journal of Pain*, *11*(3), 239-246.
- Osborne, L. C., Lisberger, S. G., & Bialek, W. (2005). A sensory source for motor variation. *Nature*, *437*(7057), 412.
- Pagon, R. A. (1988). Retinitis pigmentosa. *Survey of ophthalmology*, *33*(3), 137-177.
- Palumaa, T., Gilhooley, M. J., Jagannath, A., Hankins, M. W., Hughes, S., & Peirson, S. N. (2018). Melanopsin: photoreceptors, physiology and potential. *Current Opinion in Physiology*, *5*, 68-74.
- Partala, T., & Surakka, V. (2003). Pupil size variation as an indication of affective processing. *International journal of human-computer studies*, *59*(1-2), 185-198.
- Partala, T., Jokiniemi, M., & Surakka, V. (2000). Pupillary responses to emotionally provocative stimuli. In *Proceedings of the 2000 symposium on Eye tracking research & applications* (pp. 123-129). ACM.
- Phelan, J. K., & Bok, D. (2000). A brief review of retinitis pigmentosa and the identified retinitis pigmentosa genes. *Mol Vis*, *6*(116), 24.
- Poletti, M., & Rucci, M. (2016). A compact field guide to the study of microsaccades: Challenges and functions. *Vision research*, *118*, 83-97.
- Preuschoff, K., t Hart, B. M., & Einhauser, W. (2011). Pupil dilation signals surprise: Evidence for noradrenaline's role in decision making. *Frontiers in neuroscience*, *5*, 115.
- Price, M. J., Thompson, H. S., Judisch, G. F., & Corbett, J. J. (1985). Pupillary constriction to darkness. *British journal of ophthalmology*, *69*(3), 205-211.
- Privitera, C. M., Renninger, L. W., Carney, T., Klein, S., & Aguilar, M. (2008, February). The pupil dilation response to visual detection. In *Human Vision and Electronic Imaging XIII* (Vol. 6806, p. 68060T). International Society for Optics and Photonics.
- Rashbass, C. (1961). The relationship between saccadic and smooth tracking eye movements. *The Journal of Physiology*, *159*(2), 326-338.
- Ratliff, F., & Riggs, L. A. (1950). Involuntary motions of the eye during monocular fixation. *Journal of experimental psychology*, *40*(6), 687.
- Raz, N., Dotan, S., Chokron, S., Ben-Hur, T., & Levin, N. (2012). Demyelination affects temporal aspects of perception: an optic neuritis study. *Annals of neurology*, *71*(4), 531-538.
- Reinhard, J., Messias, A., Dietz, K., MacKeben, M., Lakmann, R., Scholl, H. P., ... & Trauzettel-Klosinski, S. (2007). Quantifying fixation in patients with Stargardt disease. *Vision research*, *47*(15), 2076-2085.

- Richter, P., Wilhelm, H., Peters, T., Luedtke, H., Kurtenbach, A., Jaegle, H., & Wilhelm, B. (2017). The diagnostic accuracy of chromatic pupillary light responses in diseases of the outer and inner retina. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 255(3), 519-527.
- Robson, J. G. (1966). Spatial and temporal contrast-sensitivity functions of the visual system. *Josa*, 56(8), 1141-1142.
- Rolfs, M. (2009). Microsaccades: small steps on a long way. *Vision research*, 49(20), 2415-2441.
- Rosli, Y., Carle, C. F., Ho, Y., James, A. C., Kolic, M., Rohan, E. M. F., & Maddess, T. (2018). Retinotopic effects of visual attention revealed by dichoptic multifocal pupillography. *Scientific reports*, 8(1), 2991.
- Ross, J., Morrone, M. C., Goldberg, M. E., & Burr, D. C. (2001). Changes in visual perception at the time of saccades. *Trends in neurosciences*, 24(2), 113-121.
- Rotenstreich, Y., Fishman, G. A., & Anderson, R. J. (2003). Visual acuity loss and clinical observations in a large series of patients with Stargardt disease. *Ophthalmology*, 110(6), 1151-1158.
- Sabeti, F., James, A. C., & Maddess, T. (2011). Spatial and temporal stimulus variants for multifocal pupillography of the central visual field. *Vision research*, 51(2), 303-310.
- Sabeti, F., James, A. C., Essex, R. W., & Maddess, T. (2013). Multifocal pupillography identifies retinal dysfunction in early age-related macular degeneration. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 251(7), 1707-1716.
- Sabeti, F., Maddess, T., & James, A. (2010). Dichoptic multifocal pupillography identifies retinal dysfunction in early age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 51(13), 2794-2794.
- Sabeti, F., Maddess, T., Essex, R. W., & James, A. C. (2011). Multifocal pupillographic assessment of age-related macular degeneration. *Optometry and Vision Science*, 88(12), 1477-1485.
- Sabeti, F., Maddess, T., Essex, R. W., Saikal, A., James, A. C., & Carle, C. F. (2014). Multifocal pupillography in early age-related macular degeneration. *Optometry and Vision Science*, 91(8), 904-915.
- Schiller, P. H. (1998). The neural control of visually guided eye movements. In *Cognitive neuroscience of attention* (pp. 13-60). Psychology Press.
- Schmid, R., Luedtke, H., Wilhelm, B. J., & Wilhelm, H. (2005). Pupil campimetry in patients with visual field loss. *European journal of neurology*, 12(8), 602-608.
- Shams, P. N., & Plant, G. T. (2009). Optic neuritis: a review. *Int MS J*, 16(3), 82-89.
- Sherrington, C. S. (1909). Reciprocal innervation of antagonistic muscles. Fourteenth note.- On double reciprocal innervation. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 81(548), 249-268.

- Shlaer, S. (1937). The relation between visual acuity and illumination. *The Journal of general physiology*, 21(2), 165-188.
- Skorkovská, K., Lüdtke, H., Wilhelm, H., & Wilhelm, B. (2009). Pupil campimetry in patients with retinitis pigmentosa and functional visual field loss. *Graefes Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 247(6), 847-853.
- Spering, M., & Gegenfurtner, K. R. (2008). Contextual effects on motion perception and smooth pursuit eye movements. *Brain research*, 1225, 76-85.
- Starc, M., Anticevic, A., & Repovš, G. (2017). Fine-grained versus categorical: Pupil size differentiates between strategies for spatial working memory performance. *Psychophysiology*, 54(5), 724-735.
- Stark, L., Campbell, F. W., & Atwood, J. (1958). Pupil unrest: an example of noise in a biological servomechanism. *Nature*, 182(4639), 857.
- Stern, H. J. (1944). A simple method for the early diagnosis of abnormalities of the pupillary reaction. *The British journal of ophthalmology*, 28(6), 275.
- Stone, J. L., Barlow, W. E., Humayun, M. S., de Juan, E., & Milam, A. H. (1992). Morphometric analysis of macular photoreceptors and ganglion cells in retinas with retinitis pigmentosa. *Archives of Ophthalmology*, 110(11), 1634-1639.
- Szabadi, E., & Bradshaw, C. (1996). Autonomic pharmacology of alpha-2 adrenoceptors. *Journal of Pharmacology*, 10(3), 6-18.
- Tarr, J. M., Kaul, K., Chopra, M., Kohner, E. M., & Chibber, R. (2013). Pathophysiology of diabetic retinopathy. *ISRN ophthalmology*, 2013.
- Thigpen, N. N., Bradley, M. M., & Keil, A. (2018). Assessing the relationship between pupil diameter and visuocortical activity. *Journal of vision*, 18(6), 7-7.
- Tsujimura, S. I., & Tokuda, Y. (2011). Delayed response of human melanopsin retinal ganglion cells on the pupillary light reflex. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 31(5), 469-479.
- Tucker, J., & Charman, W. N. (1975). The depth-of-focus of the human eye for Snellen letters. *American Journal of Optometry and Physiological Optics*, 52(1), 3-21.
- Vandenbroucke, T., Buyl, R., De Zaeytijd, J., Bauwens, M., Uvijls, A., De Baere, E., & Leroy, B. P. (2015). Colour vision in Stargardt disease. *Ophthalmic research*, 54(4), 181-194.
- Viret, A. C., Cavézian, C., Coubard, O., Vasseur, V., Raz, N., Levin, N., ... & Chokron, S. (2013). Optic neuritis: from magnocellular to cognitive residual dysfunction. *Behavioural neurology*, 27(3), 277-283.
- von Holst, E., & Mittelstaedt, H. (1950). Das reafferenzprinzip. *Naturwissenschaften*, 37(20), 464-476.

- Wakakura, M., & Yokoe, J. (1995). Evidence for preserved direct pupillary light response in Leber's hereditary optic neuropathy. *British journal of ophthalmology*, 79(5), 442-446.
- Wallace, D. C., Singh, G., Lott, M. T., Hodge, J. A., Schurr, T. G., Lezza, A. M., ... & Nikoskelainen, E. K. (1988). Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science*, 242(4884), 1427-1430.
- Wang, C. A., Boehnke, S. E., Itti, L., & Munoz, D. P. (2014). Transient pupil response is modulated by contrast-based saliency. *Journal of Neuroscience*, 34(2), 408-417.
- Wang, C. A., Boehnke, S. E., White, B. J., & Munoz, D. P. (2012). Microstimulation of the monkey superior colliculus induces pupil dilation without evoking saccades. *Journal of Neuroscience*, 32(11), 3629-3636.
- Weinstein, J. M., Van Gilder, J. C., & Thompson, H. S. (1980). Pupil cycle time in optic nerve compression. *American journal of ophthalmology*, 89(2), 263-267.
- Wilhelm, H., Neitzel, J., Wilhelm, B., Beuel, S., Lüdtke, H., Kretschmann, U., & Zrenner, E. (2000). Pupil perimetry using M-sequence stimulation technique. *Investigative ophthalmology & visual science*, 41(5), 1229-1238.
- Wollstein, G., Schuman, J. S., Price, L. L., Aydin, A., Beaton, S. A., Stark, P. C., ... & Ishikawa, H. (2004). Optical coherence tomography (OCT) macular and peripapillary retinal nerve fiber layer measurements and automated visual fields. *American journal of ophthalmology*, 138(2), 218-225.
- Wong, T., & Mitchell, P. (2007). The eye in hypertension. *The Lancet*, 369(9559), 425-435.
- Wyatt, H. J., & Pola, J. (1978). Position and velocity: the stimuli for smooth pursuit eye movements. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 17, 139.
- Xue, T., Do, M. T. H., Riccio, A., Jiang, Z., Hsieh, J., Wang, H. C., ... & Stolz, S. (2011). Melanopsin signalling in mammalian iris and retina. *Nature*, 479(7371), 67.
- Yarbus, A. L. (1965). Role of eye movements in the visual process. Oxford, England: Nauka.
- Yarbus, A. L. (1967). Eye movements during fixation on stationary objects. In *Eye movements and vision* (pp. 103-127). Springer, Boston, MA.
- Young, R. S., & Fishman, G. A. (1980). Color matches of patients with retinitis pigmentosa. *Investigative ophthalmology & visual science*, 19(8), 967-972.
- Yu, Q., Zhang, P., Qiu, J., & Fang, F. (2016). Perceptual learning of contrast detection in the human lateral geniculate nucleus. *Current Biology*, 26(23), 3176-3182.
- Zekveld, A. A., Heslenfeld, D. J., Johnsrude, I. S., Versfeld, N. J., & Kramer, S. E. (2014). The eye as a window to the listening brain: Neural correlates of pupil size as a measure of cognitive listening load. *Neuroimage*, 101, 76-86.
- Zhang, P., Jamison, K., Engel, S., He, B., & He, S. (2011). Binocular rivalry requires visual attention. *Neuron*, 71(2), 362-369.





# ANNEXES

---

# Effects of pupillary responses to luminance and attention on visual spatial discrimination.



Suzon Ajasse, Ryad B. Benosman & Jean Lorenceau  
Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Institut de la Vision, Paris, France.



## INTRODUCTION

The optic quality of the eyes is in part determined by pupil size<sup>1</sup>. In natural viewing conditions, pupil size mainly depends on the luminance at the gazed location<sup>2,3</sup>, but is also modulated by attention and cognitive factors<sup>4,5</sup>. Whether modulation of pupil size by luminance and attention, which change the eyes' optics, impacts visual processing is assessed in 2 Experiments. Experiment 1 sets the baseline pupil size as a function of the luminance of the gazed stimulus, in the absence of attention; Experiment 2 measures pupil dynamics with the same display, but with an added covert attention visual spatial discrimination task. The results show that pupil dynamics is impacted by the attention demanding task, but not behavioral performance.

## METHOD

### Experiment 1: Pupil dynamics during passive fixations

- Recording pupil dynamics (Eyelink 2, 250 Hz, SR Research).
- Participants = 14 healthy subjects (20-27 years old)
- Stimulus = 4 target Disks with different luminance: 1, 48, 143, 191 cd/m<sup>2</sup> (4.4° diameter; 3.7° from center); grey background (95.5 cd/m<sup>2</sup>).
- Trials = 72/Luminance level
- Task: Fixate (2 s) each target in succession (trigger: auditory beep: 400 Hz)

### Experiment 2: Pupil dynamics during a covert attention task

Differences with Experiment 1:

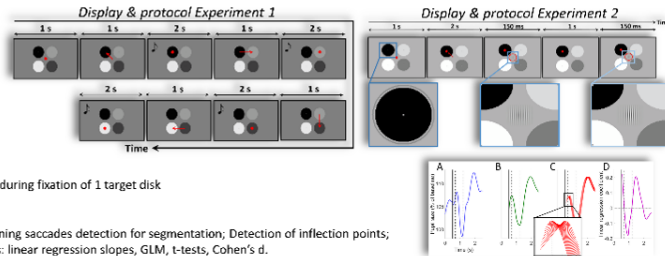
- Trials = 60/Luminance level
- Task: Temporal forced choice spatial frequency discrimination of eccentric Gabor during fixation of 1 target disk

Gabors: vertical, 9 & 9.7 cycles per degree, sigma: 1.7°, Michelson contrast: 0.99; Flash: 150 ms

### Pupil Data Analysis:

1. Remove blinks, saccades & trials with artifacts; 2. Pupil size normalization; positioning saccades detection for segmentation; Detection of inflection points;

3. Measures: Pupil size, maximum pupil constriction, latencies, velocity; 4. Stats: linear regression slopes, GLM, t-tests, Cohen's d.



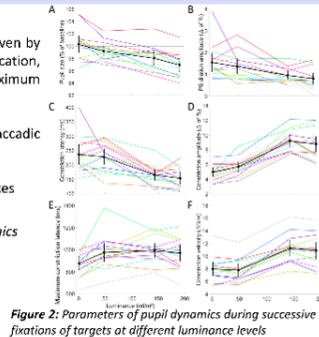
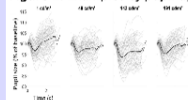
## RESULTS

### Experiment 1

Parameters of Pupil dynamics driven by the luminance at the gazed location, except the latency of maximum constriction

- ✓ Small –but reliable– post-saccadic dilation
- ✓ Large inter-individual differences

Figure 1: Examples of pupil dynamics

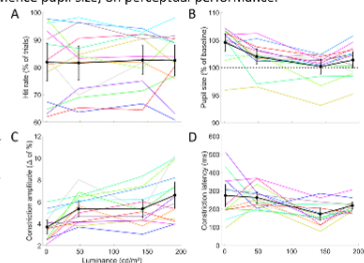


### Experiment 2

Parameters of Pupil dynamics similar to Exp. 1, but greater intra & inter variability

- ✓ No effect of gazed luminance, and hence pupil size, on perceptual performance.

Figure 3: A. Spatial frequency discrimination performance as a function of target luminance. B. Normalized Pupil size as function of disk luminance; dashed black line: baseline pupil size. C: PSPC amplitude in percent of baseline pupil size. D: Average latency of the beginning of Post saccadic pupil constriction (PSPC)



## DISCUSSION

### Comparisons of Pupil dynamics in Experiments 1 & 2:

- ✓ Mean Pupil size larger in Experiment 2 than in Experiment 1.
- ✓ Pupil dilates more and faster during the discrimination task.
- ✓ Dilation Velocity during information encoding correlated to performance (light blue plots).
- ✓ Large intra and inter-individual variability in pupil dynamics.
- ✓ Pupil dilates faster during decision making (orange plots).
- ✓ Pupil constriction following Positioning Saccades.

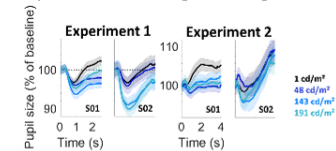


Figure 4: Average and confidence intervals of pupil size during fixation of different luminance levels for 2 participants during Experiment 1 and Experiment 2.

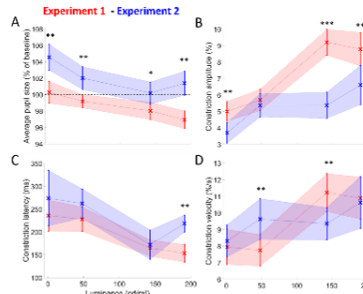


Figure 5: Comparisons of averaged pupil dynamics parameters in Experiment 1 and 2. A. Pupil Size; B. Post-Saccadic Pupil Constriction (PSPC) amplitude. C. Latency of the beginning of the PSPC. D. PSPC velocity.

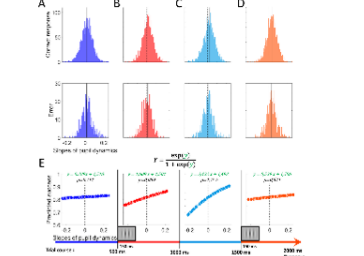


Figure 6: Relationships between pupil dilation and perceptual performance.

A-D. Distributions of the slopes of pupillary dynamics hits and errors during different 500 ms time windows. Dashed line: Null slope; Thick lines: medians of the distributions. E. Performance as function the pupil dynamics slopes as predicted by GLM.

## CONCLUSION

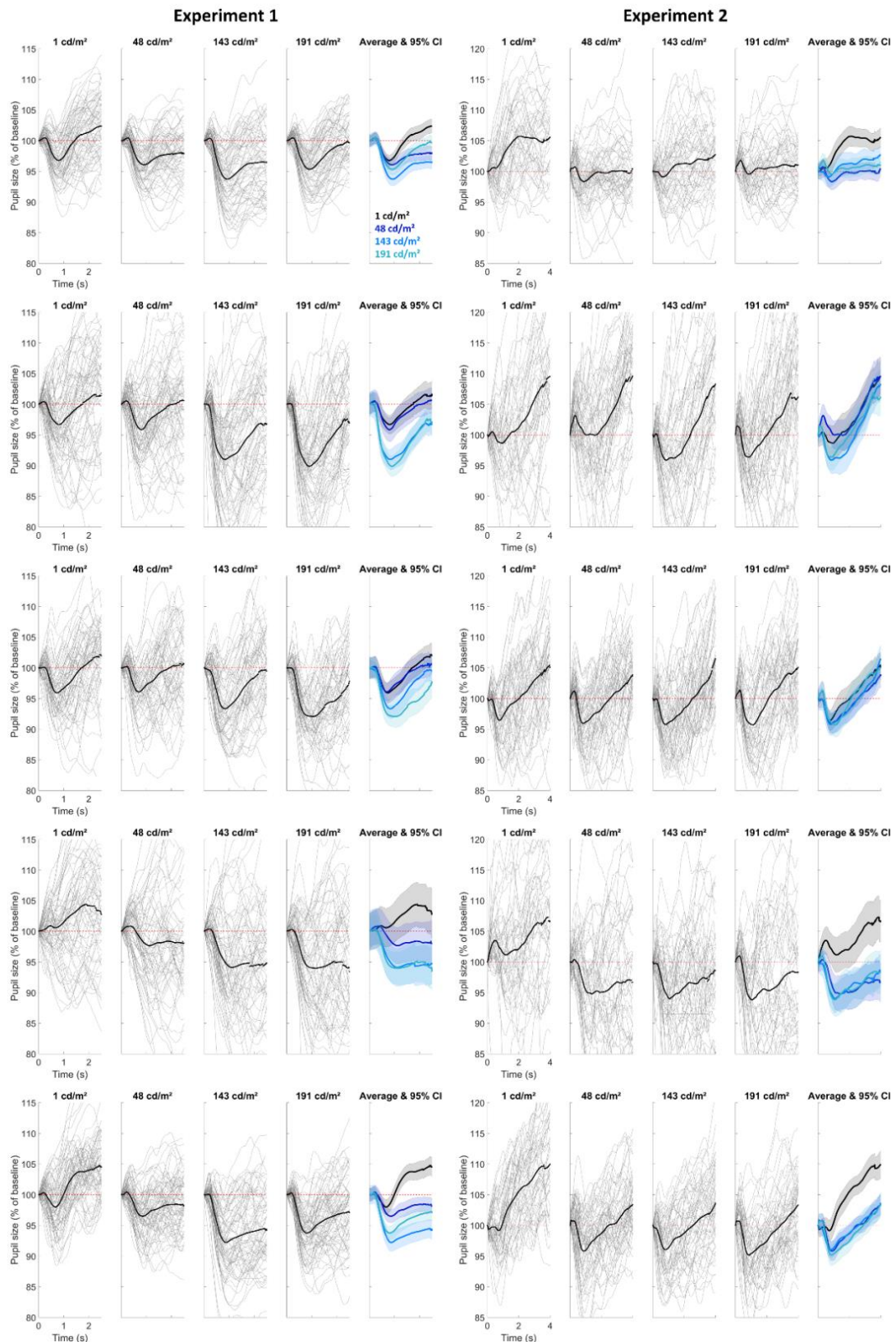
We found that pupil size is mostly governed by the luminance of gazed regions. Gaze dependent modulations of pupil size, and hence of the eyes' optics, are not correlated to visual performance in a spatial discrimination task requiring covert attention. Pupil dynamics appear too variable –in time, within and across individuals– to significantly influence visual processing, at least as assessed in this study.

Despite this lack of correlation, the slopes of pupil dilation during stimulus encoding are correlated to performance. We show that pupil dilation during the encoding of the (2<sup>nd</sup>) Gabor stimuli, reflecting increased attention to the targets, is a better predictor of performance than pupil dilation occurring after stimulus presentation, presumably related to decisional processes (comparing memory traces, making a decision, preparing & executing a motor response).

References: 1. (Campbell & Gregory, 1960); 2. Hong, S., Narkiewicz, J., & Kardon, R. (2001); 3. Clarke, R., Zhang, H., & Gamlin, P. (2003). 4. Binda, P., Pereverzeva, M., & Murray, S. (2014); 5. Mathôt, S., Van der Linden, L., Grainger, J., & Vitu, F. (2013)

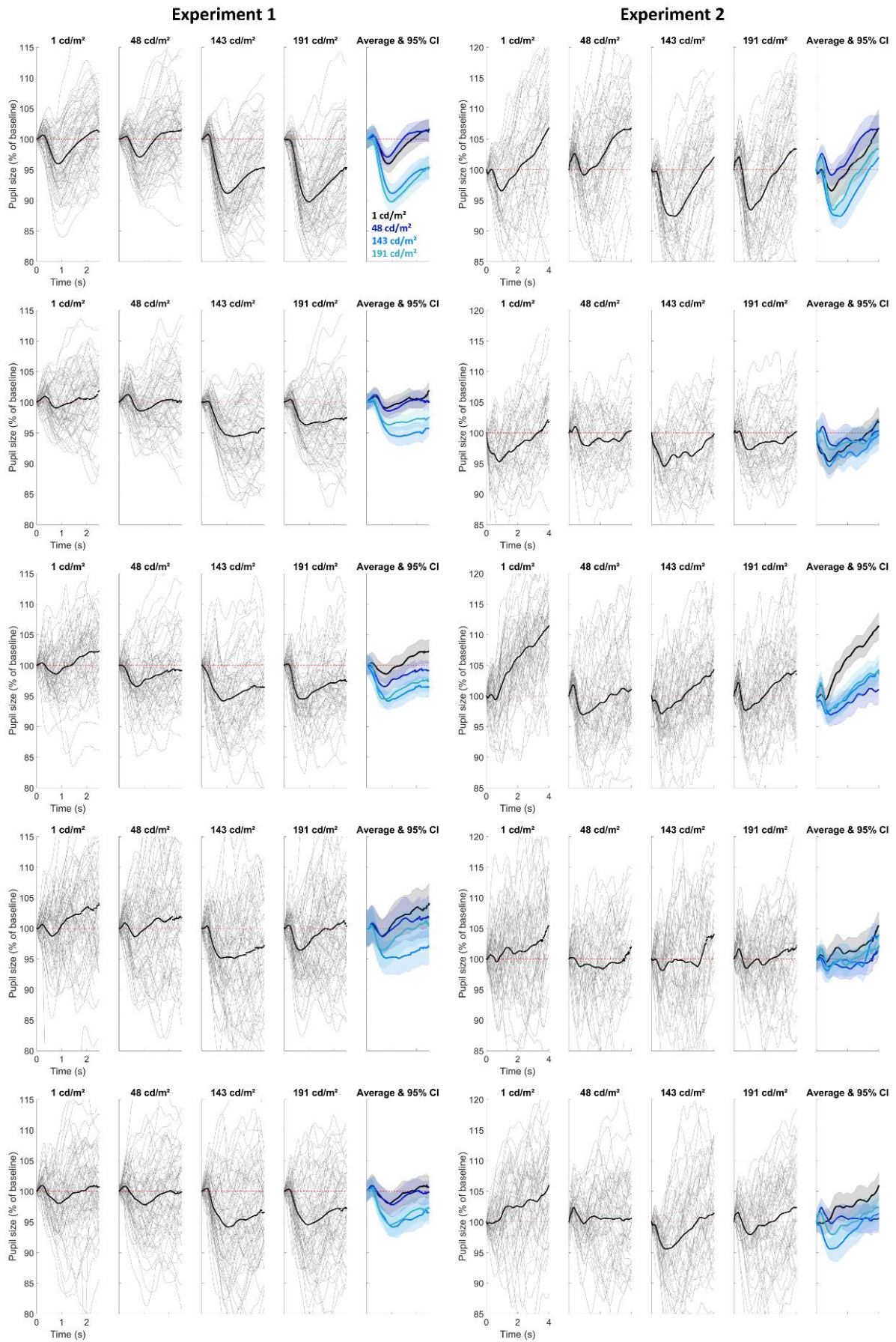
Corresponding authors:  
Suzon.Ajasse@inserm.fr Jean.Lorenceau@upmc.fr  
Supported by BPI fundings to Suzon Ajasse

Annexe Figure 77 : Poster présenté à l'European Conference on Visual Perception à Trieste en 2018 et au GDR Vision de 2018 à Paris. Etude de pupillométrie fondamentale : Effet des réponses pupillaires à la luminance et à l'attention sur la discrimination de fréquences spatiales.

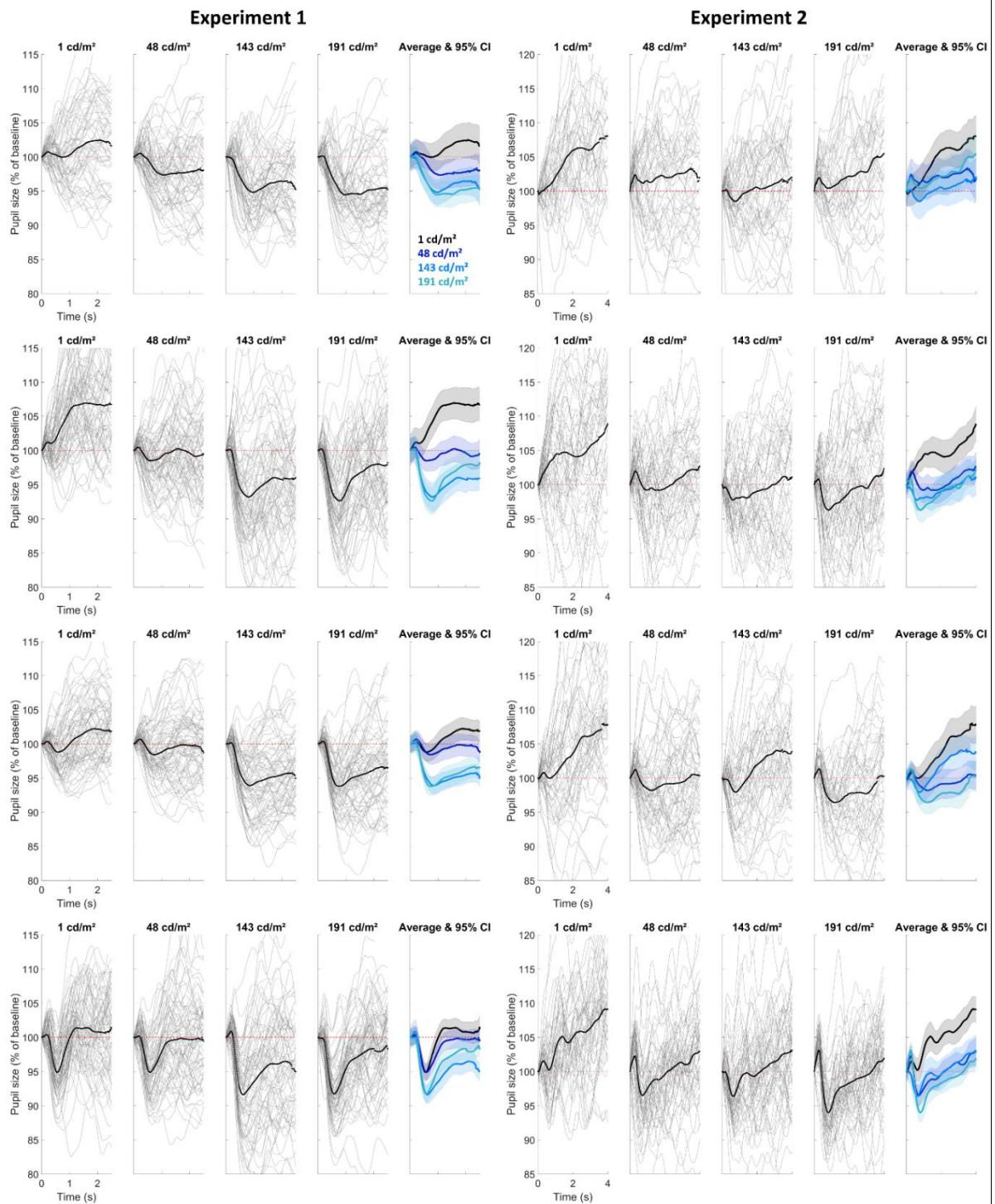


Annexe Figure 78 : Etude de pupillométrie fondamentale, Effet des réponses pupillaires à la luminance et à l'attention sur la discrimination de fréquences spatiales. Résultats individuels des participants 1 à 5 pour l'Expérience 1 (à gauche) et l'Expérience 2 (à droite). Les courbes fines grises représentent la taille de la pupille au cours du temps, la courbe noire épaisse superposée représente la moyenne de ces essais. Les courbes bleues représentent les moyennes et intervalles de confiance à 95% en fonction des conditions de luminances des essais figurés sur les 4 premiers graphes.

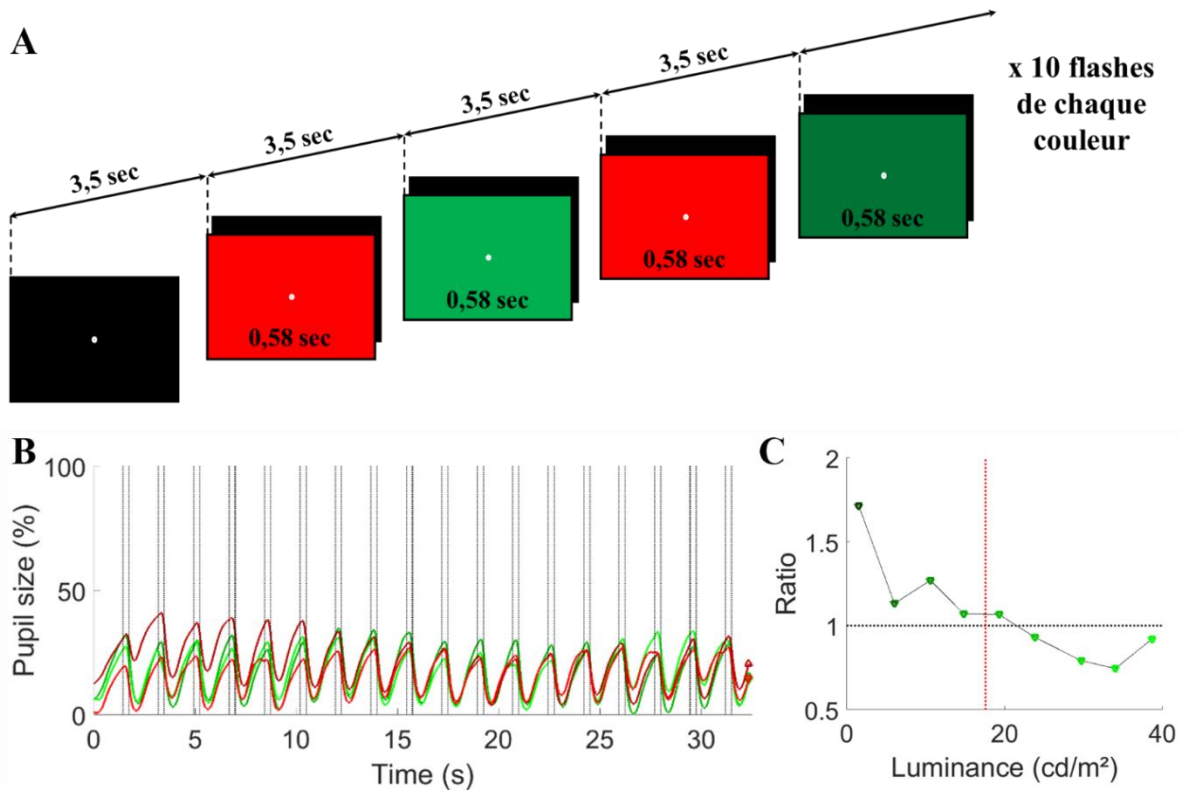




Annexe Figure 79 : Idem Figure précédente pour les participants 6 à 10.

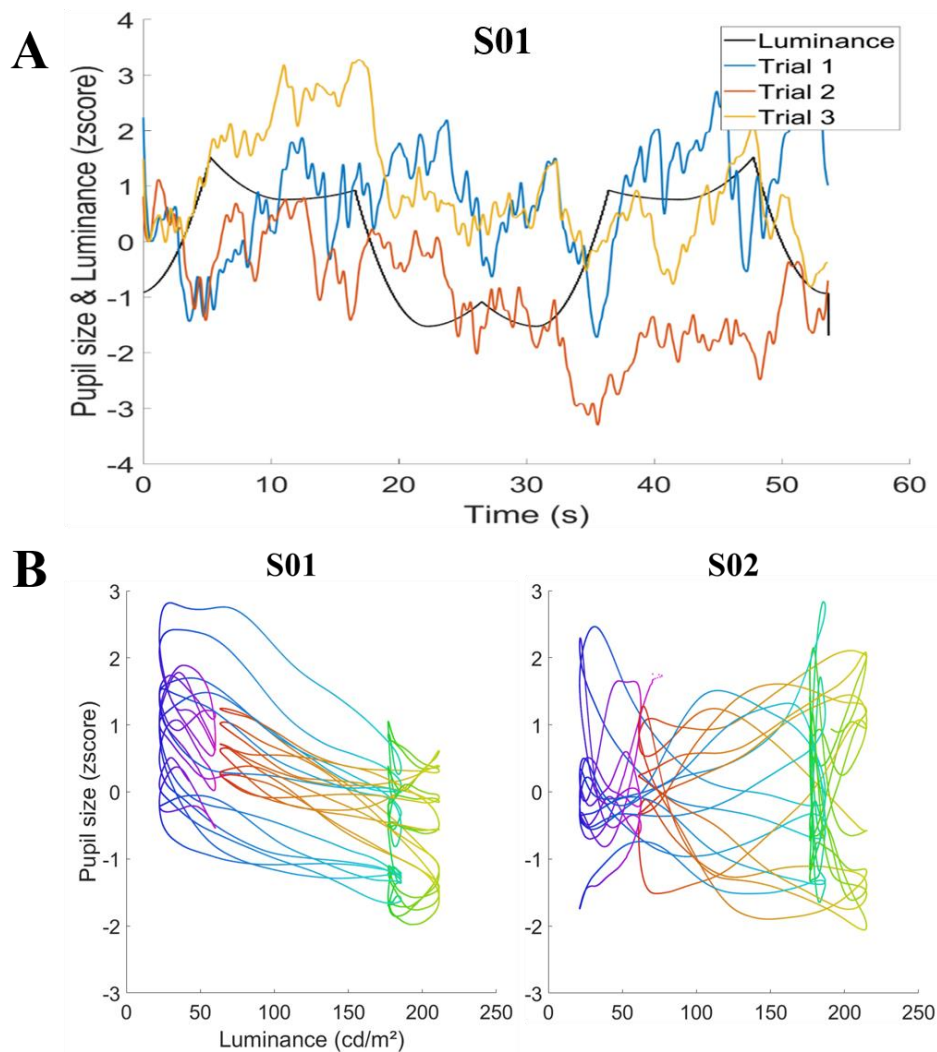


Annexe Figure 80 : Idem Figure précédente pour les participants 11 à 14.



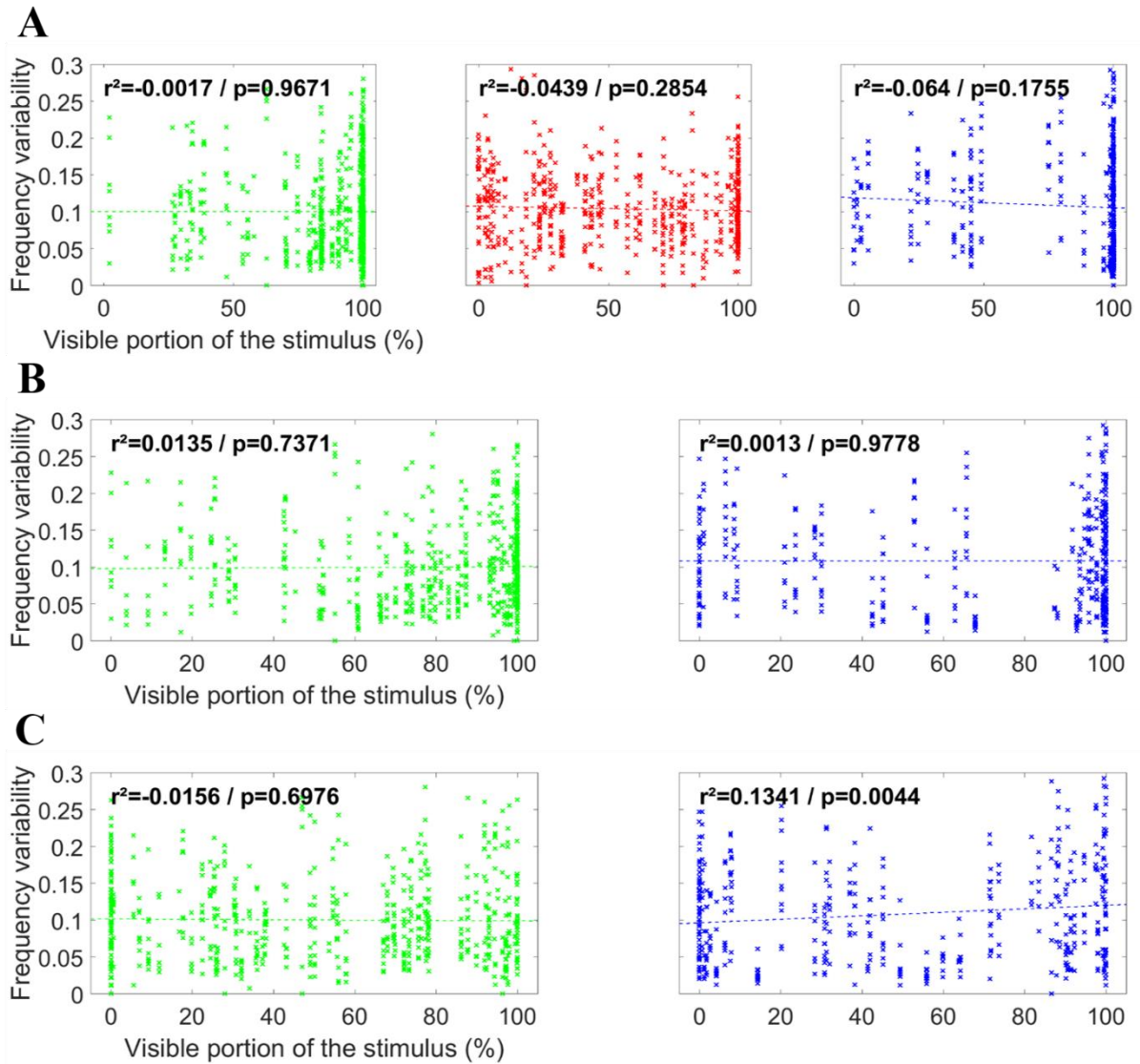
*Annexe Figure 81 : Evaluation objective de la vision des couleurs : Le test d'isoluminance : (A) exemple de design et décours temporel, 4 conditions sont testés : vert fixe rouge croissant, vert fixe rouge décroissant, rouge fixe vert croissant et rouge fixe vert décroissant ; (B) Diamètres pupillaires (en % de la taille max de la pupille) au cours du temps lors de la stimulation présentée en (A), les lignes noires verticales indiquent le début et la fin des flashes colorés, la couleur des courbes correspond à la couleur d'intensité variable du stimulus ; (C) calcul du rapport d'amplitude de constriction en réponse au flash de la couleur d'intensité fixe divisée par l'amplitude de la constriction du flash de couleur d'intensité variable ; exemple pour la condition rouge fixe et vert décroissant. La ligne rouge vertical indique la luminance du rouge fixe et les points verts le rapport de l'amplitude de constriction en fonction de la luminance des flashes vert. Le point d'isoluminance objective est atteint quand les constriction dans le vert et dans le rouge ont la même amplitude, et donc que le ratio est égal à 1, et croise la ligne noire horizontale. Ce test est réalisé en rouge/vert et en bleu/jaune.*





*Annexe Figure 82 : Test de l'arc-en-ciel. Au cours de ce test, l'écran de stimulation balaye les couleurs de la palette tandis que le sujet fixe un point de fixation en son centre. Au cours d'un essai, le balayage s'effectue à une vitesse fixe qui permet un bouclage et plusieurs présentations de la même couleur. Pour l'étude PupDyn 4 conditions ont été présentées et répétées 1 fois, 2 vitesses de balayages dans une condition de chromaticité et une condition grise mimant les modulations de luminances de la condition colorée. Le but de ce test est de déterminer si le comportement pupillaire en réponse aux modulations de luminance et de chromaticité est identique ou non à celui en réponse à une modulation uniquement de luminance. Cela pourrait permettre de repérer une réponse pupillaire particulière ou hors norme à une couleur donnée témoignant d'une anomalie de la vision des couleurs. (A) Exemples de réponses pupillaires chez un sujet sains pour la condition de chromaticité à balayage lent, avec un seul cycle de balayage des couleurs. (B) Exemple de comportement pupillaire chez deux sujets sains : taille de la pupille en fonction de la luminance du stimulus et de sa chromaticité au cours d'un essai à balayage rapide et chromatique. Le dégradé de couleur de la courbe indique la couleur du stimulus à chaque point de luminance et de taille pupillaire. On observe que pour une luminance et une couleur donnée, la pupille peut prendre différente valeur de taille, et que la taille de la pupille n'est pas strictement liée à la luminance du stimulus. Le comportement pupillaire est très différent chez ces deux sujets sains ne présentant pas d'anomalie de la vision des couleurs. Un brevet a été déposé portant sur l'utilisation de ce test comme mesure biométrique permettant de reconnaître un individu.*



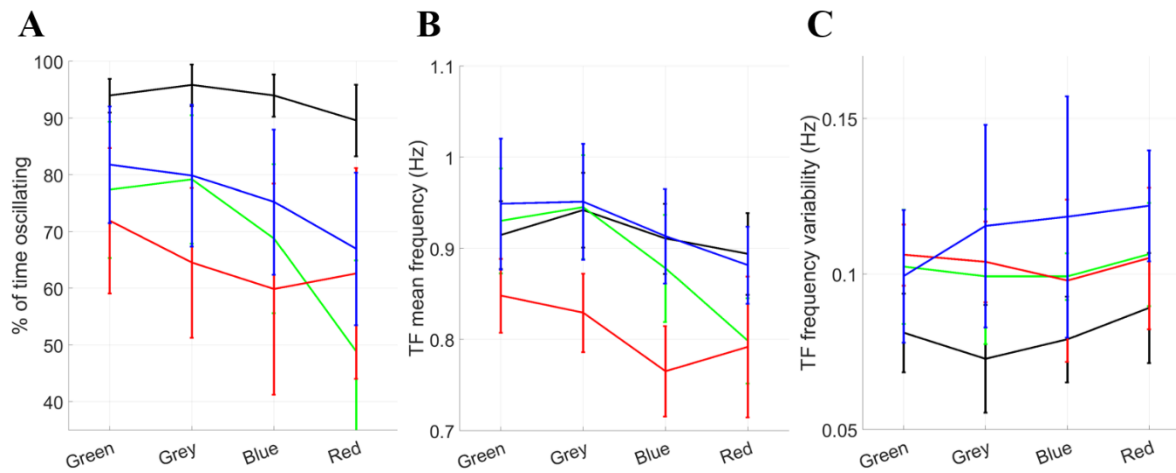


Annexe Figure 83 : Variabilité de la fréquence moyenne d'oscillation de la pupille en fonction du pourcentage du stimulus visible par les patients compte tenu de leur CV. Les points représentent les essais, en vert pour les MS, en rouge pour les RP et en bleu pour les NOHL. (A) v d'oscillation de la pupille lors de la stimulation en plein écran, en anneau périphérique et en région centrale, en fonction du pourcentage de la région visible compte tenu de la présence de scotomes absolus mesurés à l'isoptère V4. (B) Idem qu'en (A) avec uniquement les MS et les NOHL et en prenant en compte les scotomes relatifs mesurés à l'isoptère VI comme des portions non vues. (C) Idem qu'en (B) avec isoptère IIII. Le  $r^2$  indiqué sur chaque graphe représente le coefficient de corrélation de Pearson et est accompagné de sa pValue.

n° d'inclusion	Pathologie	Map retine (µm)																	
		OD									OG								
		1mm	3mm				6mm				1mm	3mm				6mm			
1	NOHL	305	349	362	348	342	294	294	dm	289	297	342	349	342	336	298	282	290	300
2	RP	168	242	240	228	228	206	218	199	198	156	240	235	225	214	213	215	192	195
3	Stargardt	121	235	198	215	208		237	224	222	143	240	236	238	224	231	233	234	234
4	Stargardt	148	229	215	233	196	280	277	264	256	151	220	211	222	194	274	275	261	254
6	RP	172	236	225	234	227	245	277	269	237	150	204	202	241	238	276	291	276	245
7	RP	136	221	213	204	203	219	266	337	188	147	215	218	207	196	223	285	281	175
8	RP	297	266	293	303	274	207	224	230	208	290	284	282	301	289	217	218	229	218
9	RP	276	288	287	294	280	222	231	224	209	279	298	308	294	286	230	247	222	211
10	RP	272	243	253	235	250	203	249	208	199	230	234	227	218	210	218	242	228	200
11	RP	154	208	203	210	192	209	235	245	190	149	191	192	200	183	194	228	207	181
12	Stargardt	201	278	312	314	204	272	259	278	253	276	235	315	301	252	283	284	287	278
13	RP	336	339	351	305	321	253	273	244	224	345	302	322	311	314	252	265	254	225
14	RP	305	359	371	344	333	283	305	285	270	310	370	377	361	337	310	305	281	257
15	stargardt	213	230	160	238	243	250	227	242	DM	154	217	234	214	172	267	268	255	239
16	RP	335	309	328	332	325	227	246	233	225	304	299	326	316	298	219	249	217	215
17	RP	210	246	256	253	231	218	230	209	191	192	251	249	239	232	228	224	250	206
18	RP	253	286	320	301	280	270	289	301	226	243	335	311	310	317	267	276	271	272
19	RP	275	356	259	260	324	416	296	349	312	258	290	264	290	291	250		356	238
20	Leber	256	304	305	303	295	275	271	269	277	256	302	300	294	291	270	271	270	267
22	SC	299	365	373	364	352	316	344	301	301	301	365	370	361	349	314	339	299	296
23	Leber	239	288	291	286	276	272	281	274	250	238	294	291	287	278	277	280	270	250
24	RP	229	268	246	294	269	263	272	291	248	221	271	308	315	259	277	311	289	260
25	SC	250	337	339	332	331	295	298	273	279	249	333	335	333	327	297	302	276	280
26	NOHL	248	312	300	299	298	280	290	275	268	257	318	311	311	295	292	282	281	277
27	Stargardt	99	236	196	207	205	257	274	256	234	59	211	166	220	196	262	258	252	226
28	Stargardt	181	246	257	234	232		206	205	191	170	255	243	249	242	200	207	202	193
29	SC	235	328	321	321	316	294	293	287	273	238	332	324	325	317	300	293	280	273
30	SC	322	348	353	351	343	299	313	290	289	317	347	355	343	340	307	312	282	289
31	Stargardt	203	223	189	205	214	237	240	220	226	225	250	217	184	209	249	246	213	209
32	Stargardt	248	250	237	222	249		245	224	249	181	229	225	245	221	292	267	250	249
35	SC	240	346	340	336	323	312	323	301	297	241	355	340	338	334	318	322	303	306
36	SC	306	371	378	372	364	301	323	291	299	308	377	377	373	366	309	324	294	297
37	SC	267	327	335	335	320	280	297	286	273	260	332	338	338	322	295	303	275	276
38	SC	307	358	365	357	349	313	328	306	287	301	354	362	355	349	313	323	301	287
39	SC	250	338	335	334	316	297	310	292	292	247	334	334	339	318	297	314	292	288
40	SC	278	342	341	344	328	305	327	300	288	279	347	344	346	331	305	327	305	291
41	Stargardt	176	241	272	266	217	267	297		223	164	235	235	264	220		303	264	243
42	Stargardt	176	263	296	300	263	265	290	276	256	177	276	276	313	248	273	285	283	256
43	Stargardt	169	218	220	243	239	227	231	211	226	265	319	320	284	249	285	260	200	263
44	SC	297	358	368	354	346	301	332	288	292	299	357	371	358	371	303	329	289	295
45	NOHL	273	307	311	301	298	268	280	270	268	282	306	309	299	290	271	270	266	279
46	SC	260	347	341	342	322	307	324	298	289	260	347	343	344	324	308	332	304	292
47	NOHL	266	304	297	299	296	268	269	256	265	267	305	301	301	300	264	271	260	260
48	NOHL	271	309	309	310	301	272	271	264	280	266	306	305	305	297	276	271	260	269
49	NOHL	237	265	280	284	271	275	274	244	246	222	284	276	281	268	272	276	249	246
50	Stargardt	287	257	278	269	259	236	268	259	234	235	233	233	214	226	241	229	231	224
51	Stargardt	154	217	157	188	184	247	224	230	214	202	244	215	185	199		229	198	205
52	NOHL	258	304	303	304	298	285	292	277	284	255	305	304	297	291	291	282	283	283
53	Stargardt	244	271	269	270	210	236	252	258	246	196	239	247	259	225	255	246	230	213

Annexe Figure 84 : Données OCT utilisées dans les analyses PupDyn. Epaisseurs de la rétine (en µm) en 9 zones autour de la fovéa. SC : sujet contrôle ; RP : patient atteint de rétinite pigmentaire ; NOHL : patient atteint de neuropathie optique héréditaire de Leber ; Stargardt : patient atteint de maladie de Stargardt. Les

cases noires représentent les participants exclus secondairement et les données manquantes des participants inclus.

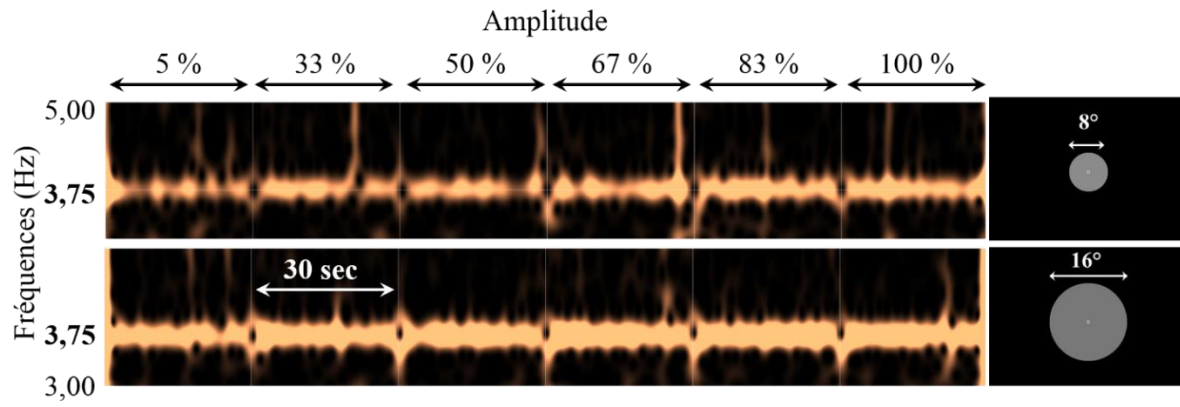


Annexe Figure 85 : Effet de la couleur sur les variables du PCT chez les populations PupDyn : les contrôles en noir, les MS en vert, les RP en rouge et les NOHL en bleu. (A) Temps d'oscillation pupillaire. (B) Fréquence moyenne d'oscillation pupillaire. (C) Variabilité de la fréquence d'oscillation pupillaire.

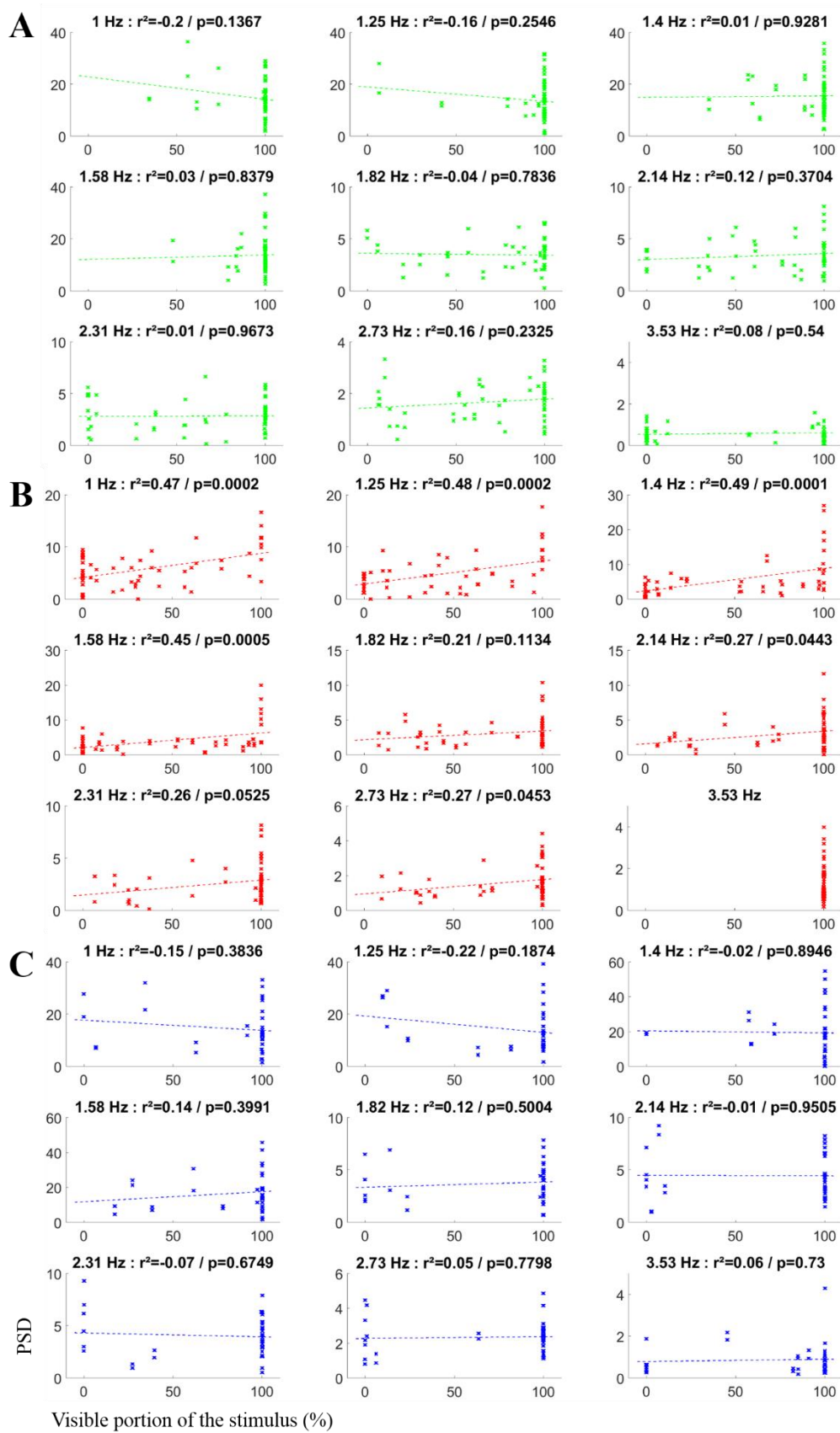


Annexe Tableau 3 : Ordre de passation des tests lors de la séance de pupillométrie PupDyn.

n° BLOC	ŒIL BLOC	ORDRE	TESTS	NOM	DUREE	
1	BINO	1	PCT vert bino fullfield	xxPCTBF1	00:01:00	00:01:00
2	OD/OG sép	2	RAPD	xxRAPD	00:01:00	00:01:00
3	OD	3	PLR OD fullfield gris et vert	xxPLRDF1	00:02:00	00:08:00
		4	PFT fullfield OD	xxPFTDF1	00:01:00	
		5	PFT régions OD	xxPFTDR1	00:02:00	
		6	PCT fullfield vert OD	xxPCDFv1	00:01:00	
		7	PCT périphérique vert OD	xxPCDPv1	00:01:00	
		8	PCT central vert OD	xxPCDCv1	00:01:00	
4	OG	9	PLR OG fullfield gris et vert	xxPLRGF1	00:02:00	00:08:00
		10	PFT fullfield OG	xxPFTGF1	00:01:00	
		11	PFT régions OG	xxPFTGR1	00:02:00	
		12	PCT fullfield vert OG	xxPCGFv1	00:01:00	
		13	PCT périphérique vert OG	xxPCGPv1	00:01:00	
		14	PCT central vert OG	xxPCGCv1	00:01:00	
5	OD	15	ISO fullfield R/V OD	xxISODFR	00:04:00	00:08:00
16	ISO fullfield B/J OD	xxISODFB	00:04:00			
6	OG	17	ISO fullfield R/V OG	xxISOGFR	00:04:00	00:08:00
		18	ISO fullfield B/J OG	xxISOGFB	00:04:00	
7	OD	19	Rainbow OD	xxRAIND1	00:03:00	00:08:00
		20	PFT fullfield OD	xxPFTDF2	00:01:00	
		21	PCT fullfield vert OD	xxPCDFv2	00:01:00	
		22	PCT fullfield gris OD	xxPCDFg1	00:01:00	
		23	PCT périphérique gris OD	xxPCDPg1	00:01:00	
		24	PCT central gris OD	xxPCDCg1	00:01:00	
8	OG	25	Rainbow OG	xxRAING1	00:03:00	00:08:00
		26	PFT fullfield OG	xxPFTGF2	00:01:00	
		27	PCT fullfield vert OG	xxPCGFv2	00:01:00	
		28	PCT fullfield gris OG	xxPCGFg1	00:01:00	
		29	PCT périphérique gris OG	xxPCGPg1	00:01:00	
		30	PCT central gris OG	xxPCGCg1	00:01:00	
9	OD	31	PCT fullfield bleu OD	xxPCDFb1	00:01:00	00:06:00
		32	PCT périphérique bleu OD	xxPCDPb1	00:01:00	
		33	PCT central bleu OD	xxPCDCb1	00:01:00	
		34	PCT fullfield rouge OD	xxPCDFr1	00:01:00	
		35	PCT périphérique rouge OD	xxPCDPPr1	00:01:00	
		36	PCT central rouge OD	xxPCDCr1	00:01:00	
10	OG	37	PCT fullfield bleu OG	xxPCGFb1	00:01:00	00:06:00
		38	PCT périphérique bleu OG	xxPCGPb1	00:01:00	
		39	PCT central bleu OG	xxPCGCb1	00:01:00	
		40	PCT fullfield rouge OG	xxPCGFr1	00:01:00	
		41	PCT périphérique rouge OG	xxPCGPPr1	00:01:00	
		42	PCT central rouge OG	xxPCGCr1	00:01:00	
						01:02:00

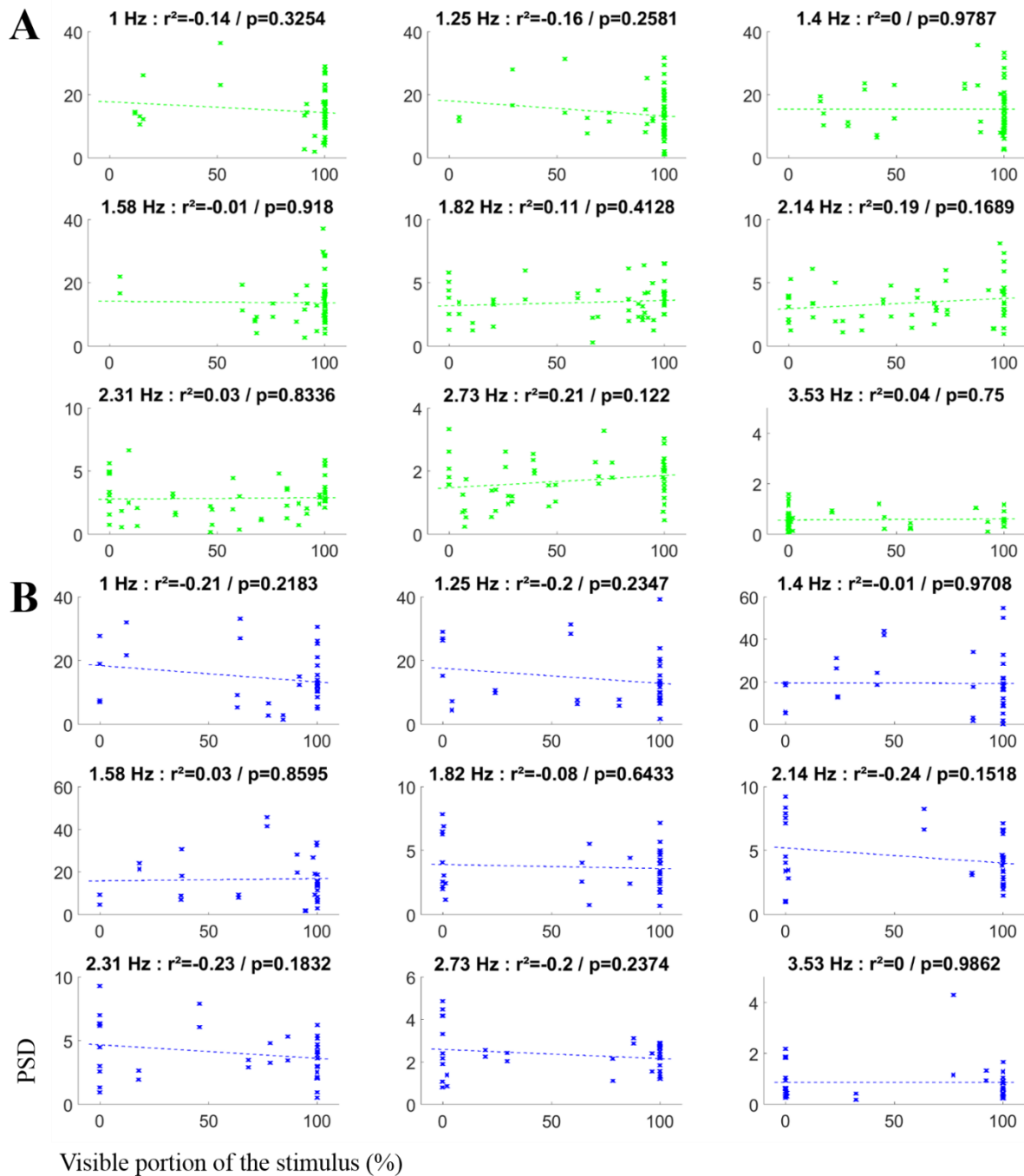


Annexe Figure 86 : Etude paramétrique préliminaire au PFT : effet de l'amplitude de l'oscillation lumineuse et de la taille du stimulus sur la puissance dans le spectre de l'oscillation de la pupille à une fréquence haute chez un sujet sain.

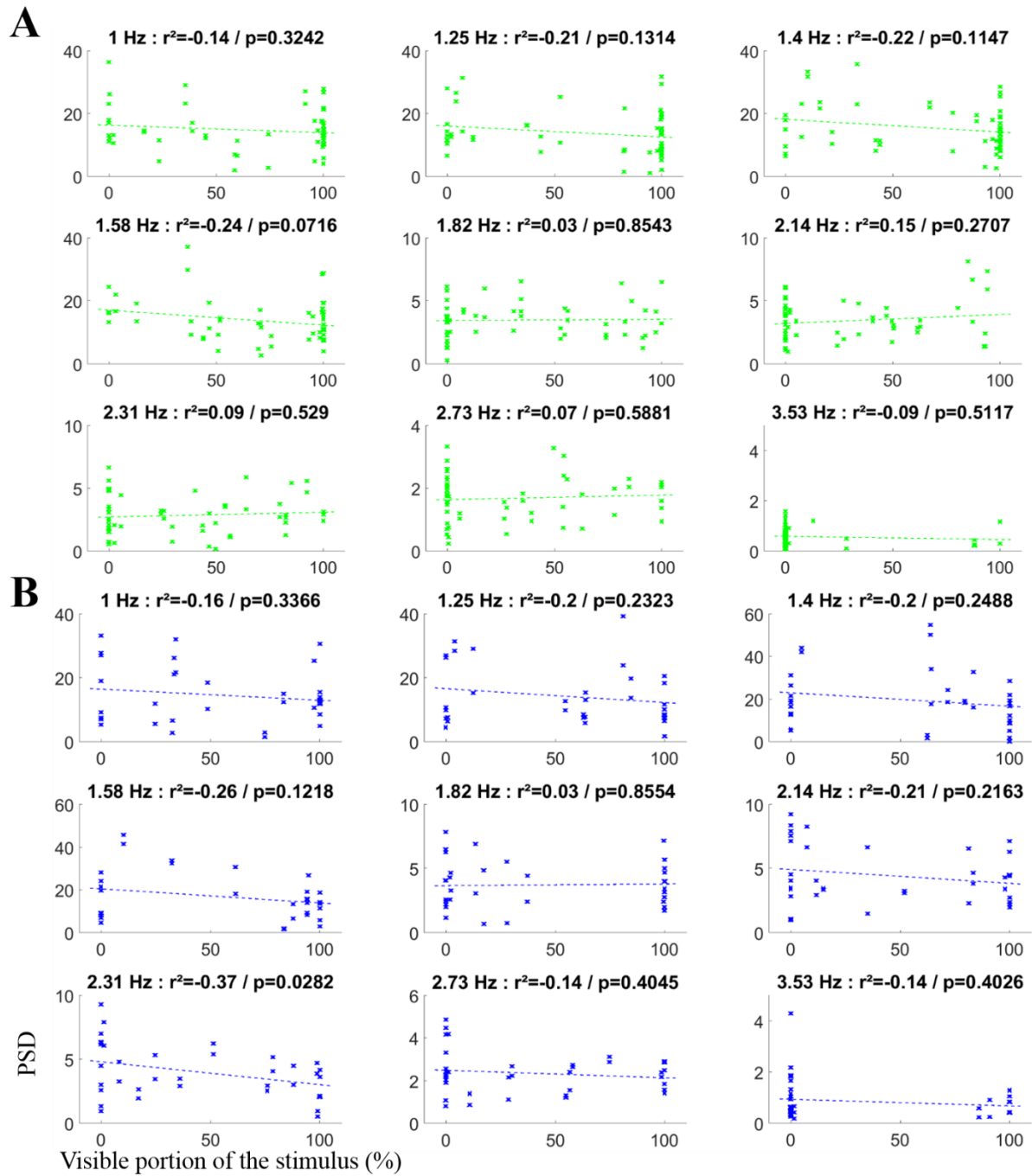


Annexe Figure 87 : Puissance spectrale du signal pupillaire aux fréquences d'intérêt en fonction de la proportion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère V4 lors du PFT plein champ. (A) pour les patients MS ; (B) pour les patients RP et (C) pour les patients NOHL. Les lignes en pointillés représentent les

régressions linéaires et sont accompagnées d'un coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).

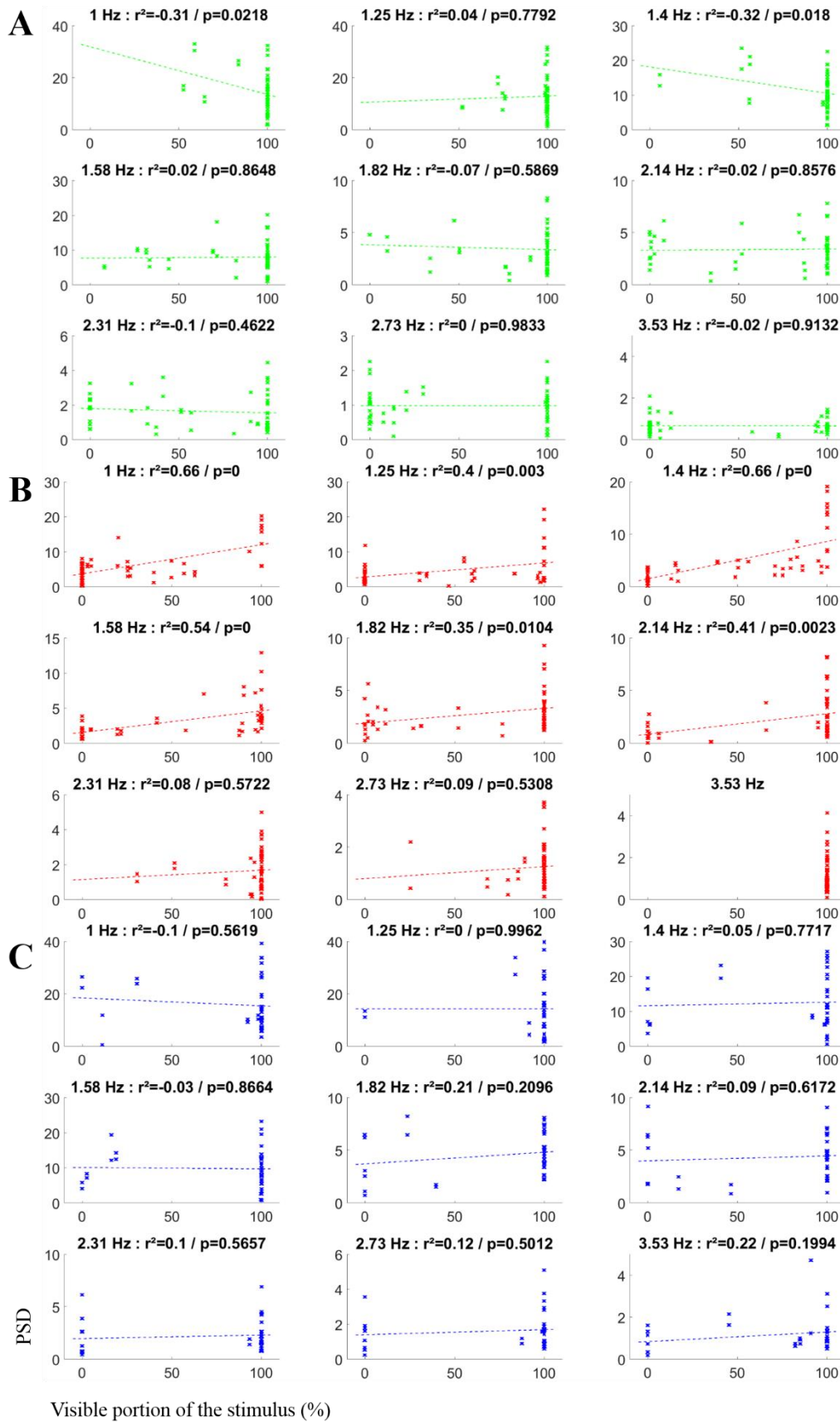


Annexe Figure 88 : Puissance spectrale du signal pupillaire aux fréquences d'intérêt en fonction de la proportion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère V1 lors du PFT plein champ. (A) pour les patients MS ; et (B) pour les patients NOHL. Les lignes en pointillés représentent les régressions linéaires et sont accompagnées d'un coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).

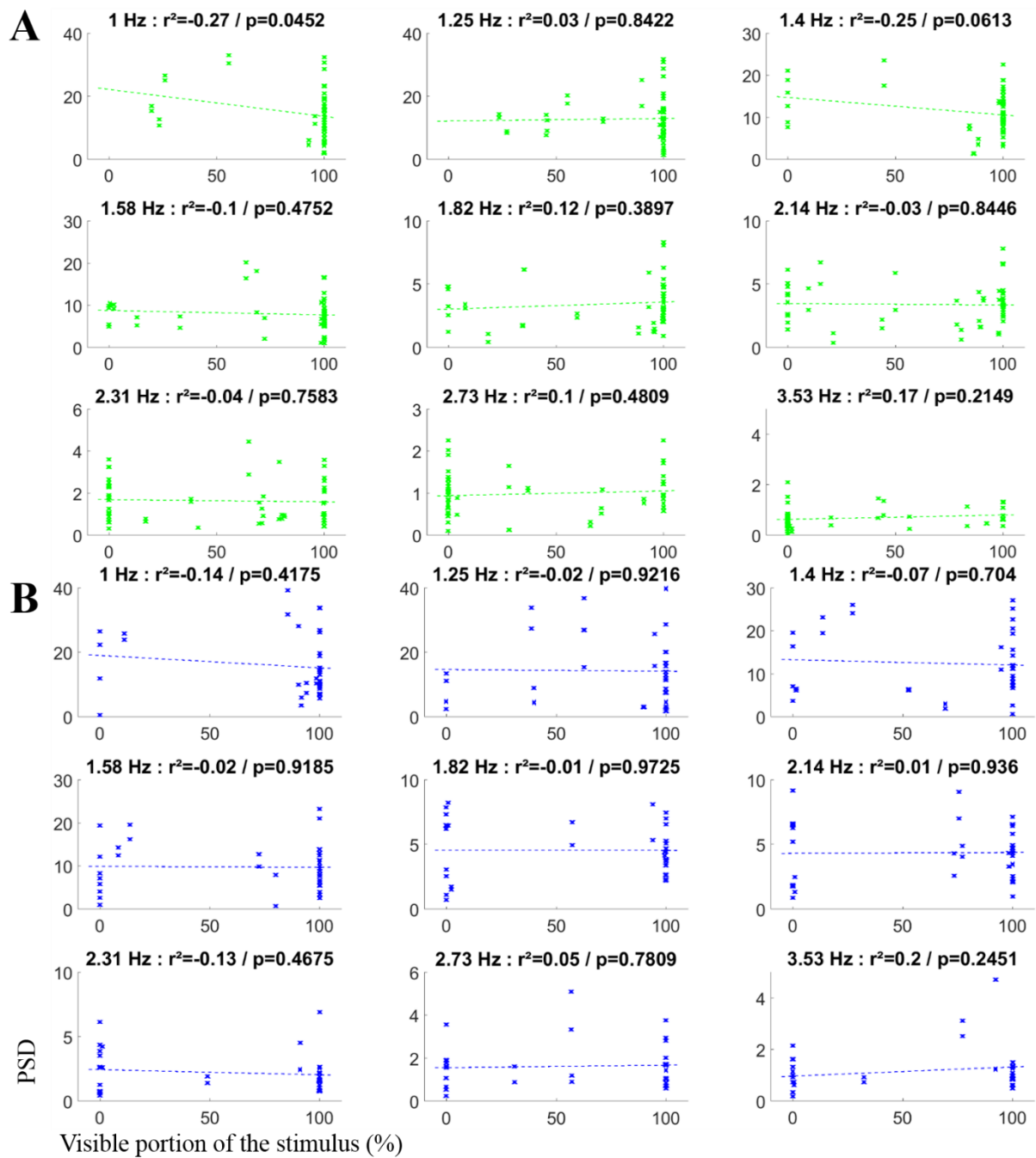


Annexe Figure 89 : Puissance spectrale du signal pupillaire aux fréquences d'intérêt en fonction de la proportion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère IIII lors du PFT plein champ. (A) pour les patients MS ; et (B) pour les patients NOHL. Les lignes en pointillés représentent les régressions linéaires et sont accompagnées d'un coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).

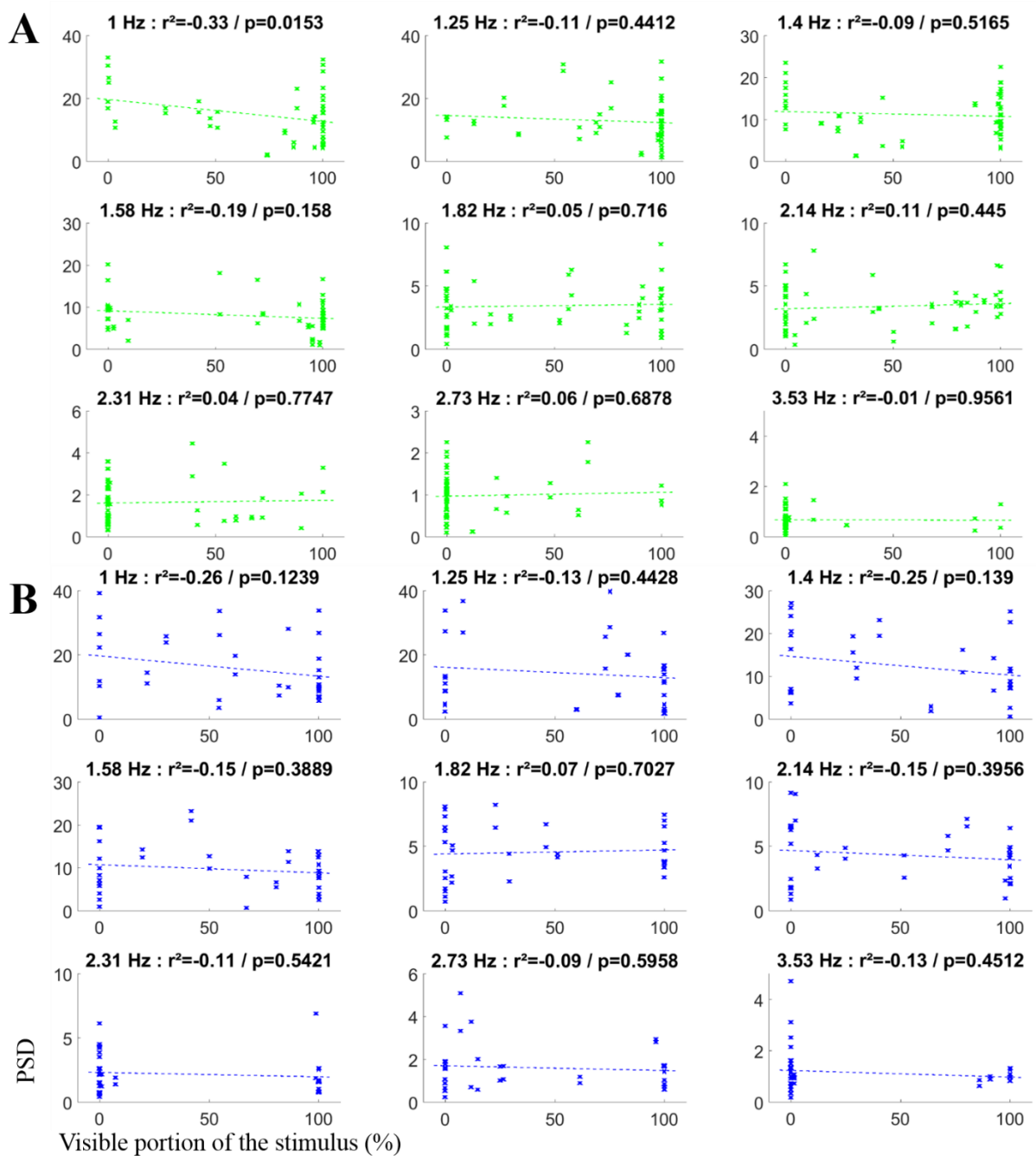




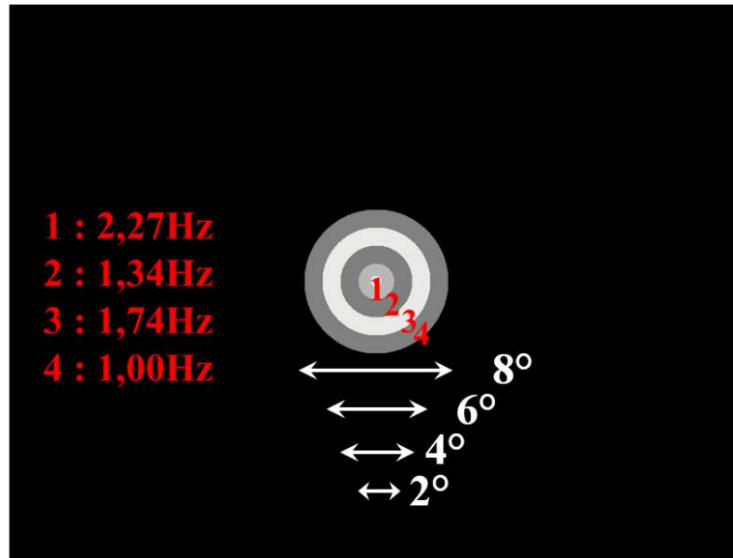
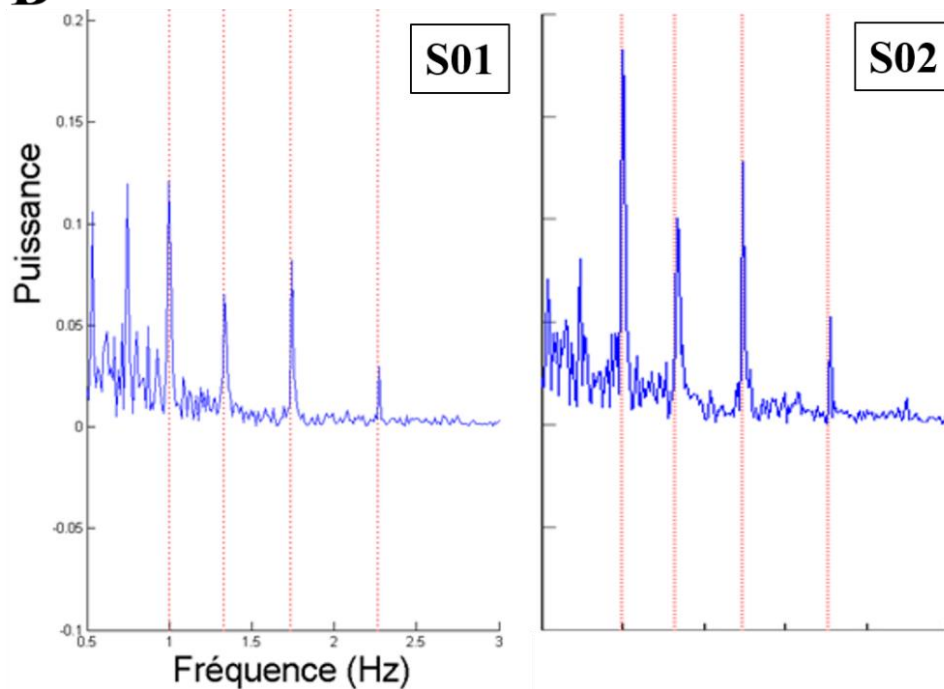
Annexe Figure 90 : Puissance spectrale du signal pupillaire aux fréquences d'intérêt en fonction de la proportion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère V4 lors du PFT localisé. (A) pour les patients MS ; (B) pour les patients RP et (C) pour les patients NOHL. Les lignes en pointillés représentent les régressions linéaires et sont accompagnées d'un coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).



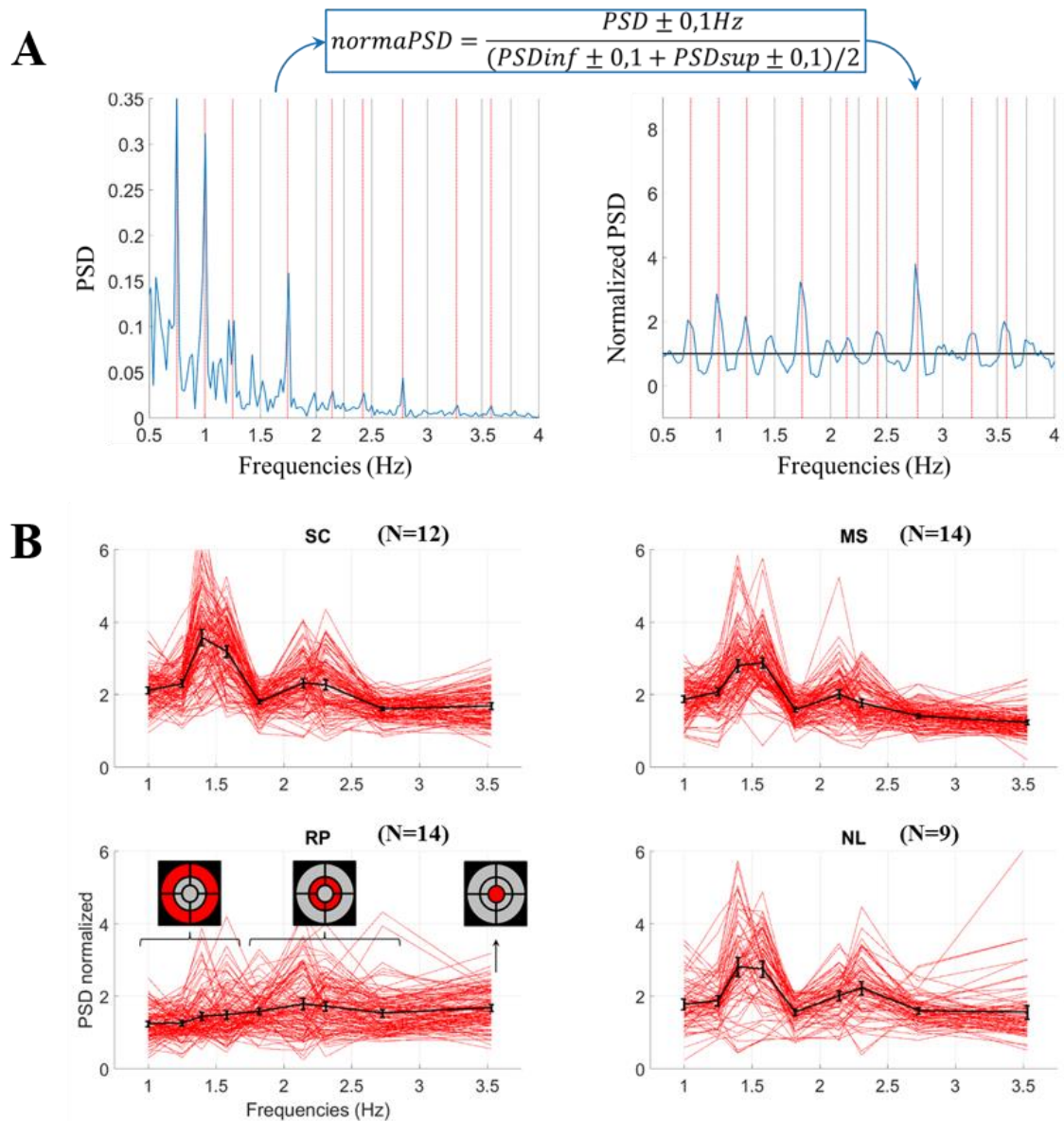
Annexe Figure 91 : Puissance spectrale du signal pupillaire aux fréquences d'intérêt en fonction de la proportion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère VI lors du PFT localisé. (A) pour les patients MS ; et (B) pour les patients NOHL. Les lignes en pointillés représentent les régressions linéaires et sont accompagnées d'un coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).



Annexe Figure 92 : Puissance spectrale du signal pupillaire aux fréquences d'intérêt en fonction de la proportion visible du stimulus calculée à partir de l'isoptère IIII lors du PFT localisé. (A) pour les patients MS ; et (B) pour les patients NOHL. Les lignes en pointillés représentent les régressions linéaires et sont accompagnées d'un coefficient de Pearson et sa pValue (en haut de chaque graphe).

**A****B**

Annexe Figure 93 : Etude paramétrique du PFT : recherche de la précision minimale. (A) Stimulus utilisé : 4 anneaux concentriques de 2° d'épaisseurs, de 8, 6, 4 et 2° de diamètre externe dont la luminance oscille à 2.27, 1.34, 1.74 et 1.00 Hz (de l'intérieur vers l'extérieur). (B) Résultats obtenus chez 2 volontaires sains : spectre du signal pupillaire lors de l'observation pendant 60 sec du stimulus présenté en (A) ; les droites verticales rouges représentent les fréquences d'intérêt ; on observe à environ 0.75 Hz un pic résultant du produit d'intermodulation des fréquences 3 et 4 (1.74 Hz – 1.00 Hz = 0.74 Hz).



Annexe Figure 94 : Normalisation des puissances spectrales du signal pupillaire enregistré lors du PFT plein champ. (A) Méthode de normalisation : chaque puissance spectrale entre 0.5 et 4 Hz est normalisée par le bruit dans les fréquences voisines. La puissance moyenne dans la bande de la fréquence traitée est divisée par la moyenne des puissances dans les bandes de fréquences inférieure et supérieure. Une fréquence ne présentant pas un pic significativement différente du bruit avoisinant est inférieur ou égal à 1. On observe que dans les fréquences d'intérêt (représentées par les droites verticales rouges), la puissance normalisée est supérieure à 1. (B) Puissances spectrales normalisées calculées sur le signal pupillaire des participants à l'étude PupDyn lors de la stimulation du PFT plein champ.



# Fixational eye-movements: a perturbation analysis using frequency-tagged visual motion

Suzon AJASSE & Jean LORENCEAU  
Institut de la Vision, Equipe Vision et Calcul Naturel  
CNRS – INSERM – UPMC

**Aim :** To use eye movements to objectively and easily assess the extent and location of visual deficits in patients with neuropathies or retinopathies [RP – Glaucoma – AMD – ...] through the perturbation of eye fixation by peripheral moving contexts of variable size, location and contrast.

**Hypothesis:** In healthy subjects, eye fixation should be perturbed by peripheral moving contexts. Patients with retinal deficits, being insensitive to peripheral motion presented in scotomatous regions, should maintain fixation independently of the presence of a moving context.

**Present study, proof of concept:** To test a perturbation analysis approach in healthy subjects, using peripheral, frequency-tagged, visual random dot kinematograms (RDk) to assess the stability of voluntary control of eye fixation.

**Questions:** Is fixation affected by peripheral moving visual contexts? To what extent? What are the relevant parameters that maximize the perturbation of eye fixation?

**Expectation:** Eye fixation should be instable and eye positions should oscillate at the tagged frequencies.

**Preliminary experiments** (not shown) to assess the relevant parameters: contrast (10% vs 99%), frequencies (H/V: 0,46/0,30Hz; 0,92/1,00Hz; 1,33/1,30Hz), size and eccentricity.

**Results:** no pronounced effect of contrast; larger perturbations for highest tagging frequencies

**Method:**

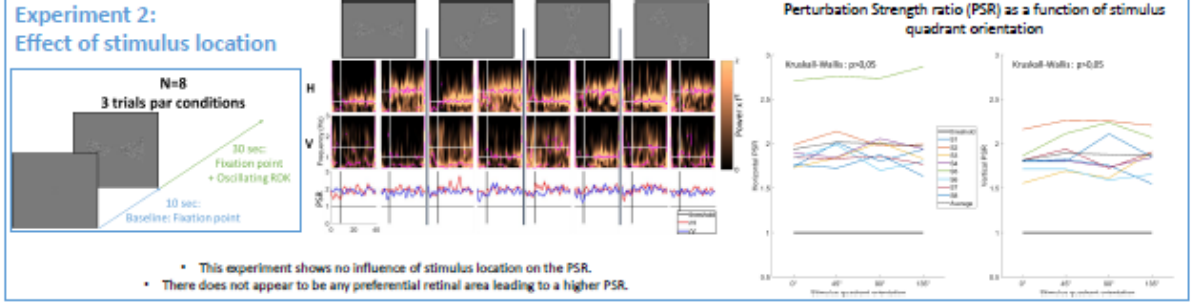
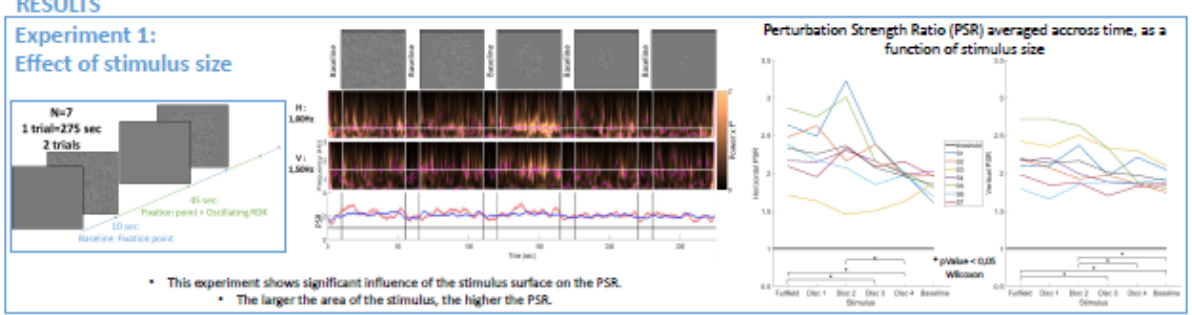
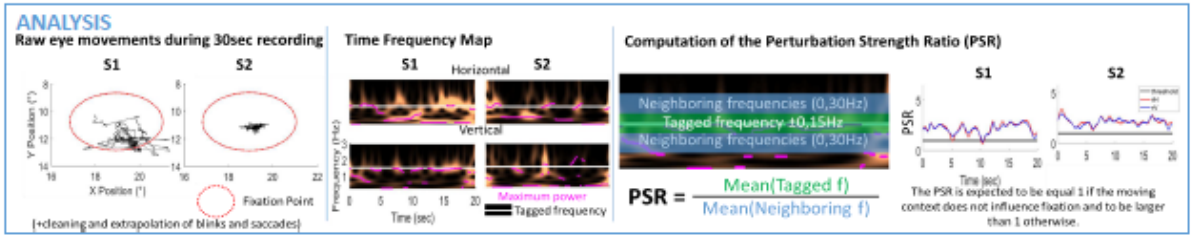
**Visual stimulation:** grey central fixation circle + surrounding random dot pattern oscillating with different horizontal and vertical tagging frequencies (e.g. 1.00/1.50 Hz for horizontal and vertical motion respectively).

**Task:** To maintain fixation within the fixation circle during the whole trial (30-45 s.)

**Apparatus:** EyeLink 1000 (1000Hz); LCD (1024 x 768; 75 Hz)

**Experiment 1: Effect of stimulation size**  
N=7; tagging frequencies : 1 & 1,5Hz; 5 sizes;  
10 sec: Baseline: Fixation point; 45 sec: Fixation point + Oscillating RDk  
1 trial (n=3) = 275 sec

**Experiment 2: Effect of stimulation location**  
N=8; tagging horizontal 1 Hz, vertical 1.5 Hz; 4 locations;  
10 sec: Baseline: Fixation point; 30 sec: Fixation point + Oscillating RDk  
1 trial (n=3) = 40 sec



### CONCLUSIONS & PERSPECTIVES

- Fixational eye movements can be disturbed by oscillating RDk in healthy subjects. Eye position oscillates at the moving tagged frequencies, indicating that sensitivity to peripheral motion results in perturbed FEMs.
- Despite large inter-individual differences in fixation stability, the same phenomenon is evident in all subjects, whether they have good or poor fixation.
- A dependent on the size of the stimulus used is to be confirmed and no significant effect of stimulus location is observed.
- The preliminary study did not show an effect of the contrast of the disturber but a more in-depth study of the frequencies to be used would be interesting as well as on stimulus eccentricity.
- Future work will aim at evaluating whether this perturbation analysis approach can be used with neuropathic or retinopathic patients.

• Rieke, H. B. (2012). Eye movements during fixation. *The Journal of Physiology*, 514(2), 290-306.  
 • Chenk, C., Kuang, X., Pollett, M., & Rucci, M. (2013). Precision of sustained fixation in trained and untrained observers. *Journal of Vision*, vol. 13, 21.  
 • Montluc-Comde, S., Macknik, S.L., & Hubel, D.H. (2004). Fractional Eye Movements in Visual Perception. *Nature Reviews Neuroscience*, vol. 5.  
 • Rucci, M., & DeBorja, S. (2009). Contributions of foveal eye movements to the discrimination of briefly presented stimuli. *Journal of Vision*, vol. 9, 28.  
 • Rucci, M., Jovan, E., Pollett, M., Santini, F. (2007). Microsaccade eye movements enhance fine spatial detail. *Nature* 447, 455-458.  
 • Theeuwé, L., Smeets, A. C., Giadale, M. A., & Sagenbarg, K. R. (2013). What is the best fixation target? The effect of target shape on stability of foveal eye movements. *Vision Research*, 76, 41-42.

**Corresponding authors :**  
 suzon.ajasse@inserm.fr  
 Jean.lorenceau@upmc.fr  
 Supported BPI finance to SA

Annexe Figure 95 : Poster présenté à l'European Conference on Visual Perception en aout 2017 à Berlin portant sur l'analyse spectrale de la perturbation par marquage fréquentiel des mouvements de fixation.



# RESUME

---

Depuis la découverte relativement récente de la mélanopsine, un nouveau photo-pigment présent dans une couche cellulaire de la rétine jusqu'alors considérée comme non photosensible et qui joue un rôle important dans les réponses pupillaires, la pupille est un sujet d'étude qui a fait l'objet d'un regain d'intérêt. En parallèle à cette vague de recherche visant à une meilleure définition des mécanismes des cellules ganglionnaires rétiniennes intrinsèquement photosensibles (ipRGC), deux autres axes de recherches émergent. Le premier vise à explorer les divers mécanismes cognitifs (état d'éveil, activité mnésique, charge émotionnelle, etc.) influençant le diamètre pupillaire via son innervation sympathique. Le second axe a pour but d'établir des nouvelles méthodes servant à tester l'intégrité des structures en jeu dans la perception visuelle en se basant uniquement sur le réflexe pupillaire à la lumière via l'innervation parasympathique de la pupille. Il existe aujourd'hui un décalage entre ces domaines de recherches, chacun étudiant les effets de l'un de ces deux circuits neuronaux en limitant ou en ne prenant pas en compte les effets de l'autre. Ajoutons également que la pupille est actuellement peu utilisée en milieu clinique et que les influences des réponses pupillaires sur la perception visuelle sont souvent méconnues ou ignorées. Un défi scientifique et technique est de combiner les connaissances fondamentales apportées par les recherches en laboratoire avec les applications cliniques utilisant la pupille afin de mettre en place des méthodes simples et fiables, en tirant avantages des évolutions technologiques, dans le but de démocratiser l'utilisation de l'activité pupillaire, comme marqueur de dysfonctionnements de diverses origines.

Une première partie de mon travail de thèse a porté sur l'étude de la balance sympathique/parasympathique modulant la pupille. La problématique était de savoir si les modulations du diamètre pupillaire potentiellement présentes lors de l'exploration visuelle de l'environnement, liées d'une part à l'hétérogénéité de la réponse pupillaire en fonction de la localisation sur la rétine de la stimulation, et d'autre part à la charge attentionnelle et cognitive, peuvent influencer les performances visuelles lors d'une tâche de discrimination visuelle de fréquences spatiales, compte tenu de l'influence de la taille de la pupille sur la qualité optique de l'œil. Notre hypothèse était que la fixation d'un stimulus lumineux diminuerait la taille de la pupille, et ainsi les aberrations optiques de l'œil, et améliorerait les performances visuelles lors de la tâche de discrimination. Notre étude n'a pas permis de



montrer des modulations des performances visuelles en fonction de la luminance du stimulus fixé. En revanche nous avons découvert que l'hétérogénéité de la réponse pupillaire est conservée lors de l'exploration visuelle et que la taille de la pupille est principalement modulée par la luminance au centre du champ visuel. Par ailleurs nous avons mis en évidence que l'augmentation de la charge attentionnelle liée à la tâche provoque une dilatation de la pupille, et que la vitesse de cette dilatation au cours d'un essai permet de prédire la réussite du participant dans la tâche de discrimination. Cette observation suggère que les dynamiques pupillaires sont un marqueur de l'encodage mémoriel permettant de décrire l'implication du participant dans la tâche et ainsi prédire sa réussite.

Le second chapitre traite de l'utilisation de la pupille en milieu clinique. Nous avons mis en place une étude clinique aux méthodes novatrices utilisant les dynamiques pupillaires dans des tests objectifs, simples et rapides ayant pour but la détection de localisations défailtantes dans le champ visuel chez des patients atteints de maladie de Stargardt, de rétinite pigmentaire et de neuropathie optique héréditaire de Leber, en comparaison d'un groupe de sujets contrôles. Ce chapitre détaille les expériences préliminaires menées chez des sujets sains et des patients atteints de névrite optique afin d'élaborer deux nouveaux tests pupillométriques peu sensibles aux modulations sympathiques. Le premier test utilisant le cycle d'oscillation endogène de la pupille et le second la technique du marquage fréquentiel, ces tests mettent en avant une nouvelle façon d'analyser les réponses pupillaires en utilisant leurs dynamiques au cours du temps à l'aide d'analyses fréquentielles.

Notre étude s'inscrit dans un contexte d'émergence de nouvelles méthodes d'exploration du champ visuel utilisant le réflexe pupillaire à la lumière comme marqueur de l'intégrité de la rétine, montrant des résultats encourageants, similaires à la mesure du champ visuel classiquement utilisé en routine ophtalmologique, sans faire appel aux réponses du patient. Cependant la variabilité importante de la réponse pupillaire rend indispensable de multiples répétitions de la mesure en chaque points de contrôle à travers le champ visuel ; si la mesure gagne en objectivité, elle reste longue et donc éprouvante pour les patients.

Les tests de pupillométrie que nous avons mis en place visent à pallier à ces problématiques en apportant des moyens objectifs, simples et rapides de détections de localisation défailtantes dans le champ visuel. Si de nombreux travaux sont à mener afin de démocratiser ces nouvelles méthodes de périmétrie par pupillométrie, notre étude montre des résultats très encourageants dans la discrimination des patients atteints de pathologies par la comparaison de leur comportement pupillaire à celui des sujets contrôles sains.

# ABSTRACT

---

## **Dynamic Pupillometry: Fundamental and Clinical Approaches.**

Since the discovery of the melanopsin, a new photo-pigment playing an important role in pupillary responses, in retinal ganglion cells, the pupil is a renewed interest subject of study. In parallel to the research aiming to a better definition and understanding of intrinsically photosensitive retinal ganglion cells (ipRGC) mechanisms, two main lines of research emerge. The first one aims to explore cognitive mechanisms like arousal, mnemonic activities, emotional load etc. that influence the pupil size through sympathetic innervation of the pupil. The goal of the second axis is to establish new methods testing the integrity of structures involve in the visual perception with the pupil light reflex driven by parasympathetic pathway. There is a gap between these research areas, each ones studying the effects of one of these two neural circuits limiting or without taking into account the effects of the other pathway. Furthermore the pupillary activities are actually not much used in clinical domain and the effect of pupil size on visual perception is often unknown or ignored. Today a scientific and technologic challenge is to combine fundamental knowledge provided by laboratory research with clinical application using the pupil to develop new and reliable method taking advantage of technological evolution in order to democratize the using of pupillary activities as dysfunction marker of diverse origins.

A first part of my PhD work focused on the study of the sympathetic / parasympathetic balance modulation and its effects on pupil size. The problem was to know whether the pupillary diameter modulations -potentially present during the visual exploration of the environment- related to the heterogeneity of the pupillary response according to the location of the stimulation on the one hand, and the attentional and cognitive load on the other hand, can influence the performance in a visual spatial discrimination task considering the effect of pupil size on optical quality of the eye. The hypothesis was that the fixation of a luminous stimulus decrease pupil size, increase the optical quality of the eye and improve visual performance. Our study did not allow finding of modulations of the visual performances according to the luminance of the fixated stimulus. However we discovered that the

heterogeneity of the pupillary response is preserved during the visual exploration and that the pupil size is mainly modulated by the luminance at the center of the visual field. Moreover we found that - as shown in literature - the increasing of attentional load due to the discrimination task induce a pupil dilation and the velocity of this pupil dilation across time during a trial allows to predict the participant's success in the discrimination task. This finding suggests that pupillary dynamics are marker for memorial encoding allowing describing of the implication of the participant in the task.

In the second chapter we focused on clinical application of pupillary activities with a clinical study involving innovative methods using pupillary dynamics in objective, reliable and rapid tests aiming at detecting failing localizations in visual field of patients with Stargardt's disease, retinitis pigmentosa and Leber's hereditary optic neuropathy, compared to healthy subjects. This chapter details preliminary studies on healthy subjects and patients with optic neuritis aiming to elaborate two new pupillometric tests –not much sensitive to sympathetic modulations according to ongoing study- using for the first one the pupil cycle time and for the second one the frequency tagging method. These tests highlight new way of using pupillary dynamics across time with spectral analysis.

This study is part of the emergence of new visual field exploration methods using pupillary light reflex as a marker of integrity of the simulated retinal region that showing encouraging results, similar to conventional methods of visual field measurement in ophthalmological routine. These tests are objective because no patient's answers are required, but the important variability of pupillary response constrains to multiply measurement in each location of the visual field. The visual field exploration with pupillographic perimetry is still long and therefore stressful for patients. The pupillometric tests that we developed aim to overcome these difficulties bringing objective, simple, rapid and reliable means to detect anomalies in visual field. We have to continue parametric evaluation and improvement of our methods but we found very encouraging results for the discrimination of patients by comparing their pupillary behavior with healthy subjects' pupillary behavior.