

08_Special abstract

**Haidinger's brush: sviluppo e test di uno strumento per
l'indagine psicofisica di un fenomeno entoptico**

Introduzione

Gli occhi ricavano informazioni dalle onde elettromagnetiche, le quali possiedono proprietà scalari (ampiezza e frequenza) ma anche proprietà vettoriali, ossia la polarizzazione. Molti animali, infatti, oltre a intensità e colore, elaborano informazioni utili da una scena visiva anche in base alla direzione di polarizzazione della luce. Questi dati possono essere utilizzati per diversi scopi come la navigazione, la ricerca di acqua, l'orientamento e altri. Anche gli esseri umani hanno una certa sensibilità alla polarizzazione sebbene in pochi siano consapevoli di questo fatto. È possibile infatti rilevare l'angolo di polarizzazione della luce utilizzando un fenomeno entoptico noto come "spazzole di Haidinger" ("Haidinger's brushes") descritto per la prima volta dal fisico austriaco Wilhelm Karl von Haidinger nel 1844, il quale notò che osservando il cielo attraverso un polarizzatore si può notare la comparsa nel centro del campo visivo di un piccolo pattern a forma di papillon giallo orientato in direzione perpendicolare al piano di polarizzazione della luce. Le aree complementari possono apparire bluastre per un meccanismo psicofisico di opposizione giallo-blu. A causa dell'adattamento neurale il pattern scompare velocemente, per questo nella nostra esperienza quotidiana non percepiamo il fenomeno. Tuttavia, è possibile ovviare a questo effetto ad esempio muovendo il capo attorno all'asse visivo oppure ruotando il polarizzatore. Poiché l'angolo di polarizzazione varia nel tempo, l'adattamento neurale viene eluso ed è così possibile continuare a percepire il pattern. Per fenomeni entoptici si intendono quelle percezioni visive che originano direttamente all'interno dell'occhio, per la sua particolare anatomia e fisiologia. Per questo motivo essi non possono essere fotografati.

La capacità di percezione degli Haidinger's brush in luce polarizzata viene attribuita alla presenza e alla particolare configurazione dei pigmenti presenti a livello foveale, in particolare la luteina. Una conferma di questo è data dal fatto che il massimo contrasto durante l'osservazione di questa figura si ottiene circa a 460 nm che coincide proprio con il picco di assorbimento (458 nm) dei pigmenti stessi. Pare che la retina a livello maculare si comporti come un analizzatore radiale: osservando infatti un campo luminoso polarizzato linearmente tramite un analizzatore radiale, cioè un polarizzatore lineare con gli assi di trasmissione disposti radialmente, si può osservare un pattern analogo agli Haidinger's brush risultante dall'attenuazione della luce lungo il meridiano perpendicolare alla direzione di polarizzazione. Se questo analizzatore attenua selettivamente la luce blu (lunghezze d'onda brevi), allora le aree che appaiono più scure in luce blu risulteranno giallastre in luce bianca. La direzione di polarizzazione della luce può essere quindi percepita grazie alla conversione dell'angolo di polarizzazione in un cambiamento di luminanza all'interno degli strati anatomici della macula, e questa variazione di luminanza viene poi rilevata dai sottostanti fotorecettori, insensibili alla polarizzazione (Misson G. P., Timmerman B. H., & Bryanston-Cross P. J., 2015). Un fattore molto importante pare essere l'assorbimento preferenziale da parte dei pigmenti maculari della luce polarizzata perpendicolarmente (dicroismo) alle fibre di Henle nello strato

plexiforme esterno della retina. Il pigmento maculare è localizzato nello strato di fibre di Henle della retina, dove sono presenti i numerosi assoni dei coni che si estendono radialmente dalla fovea verso la periferia. I pigmenti formano angoli retti con gli assoni dei coni se osservati in sezione parallela allo strato retinico. L'allineamento medio dei pigmenti maculari è quindi tangenziale a cerchi concentrici centrati nella fovea come è rappresentato dai tratti gialli in figura 1. Ricordando che i pigmenti maculari assorbono maggiormente lungo l'asse lungo della molecola, nel caso ad esempio di polarizzazione orizzontale della luce, l'assorbimento risulterà massimo nell'area in cui le molecole sono parallele alla direzione di polarizzazione (ore 12 e ore 6 in figura 1), minimo dove sono perpendicolari. Questo dà origine in luce bianca a un pattern a forma di papillon giallo in corrispondenza della zona di massimo assorbimento, cioè in direzione perpendicolare all'angolo di polarizzazione della luce (Le Floch et al., 2010), (McGregor et al., 2014). È stato proposto che questo fenomeno potesse addirittura essere sfruttato dai vichinghi durante la navigazione per determinare la posizione del sole anche quando coperto dalle nuvole, sotto l'orizzonte o nascosto da un oggetto (Horváth G. et al., 2017). Nonostante la rilevazione dell'angolo di polarizzazione possa non costituire un'abilità utile nella quotidianità, la percezione del pattern potrebbe essere utilizzata come metodo di screening per individuare soggetti con maculopatia o con altre malattie che interessano la zona maculare.

Non esistono in letteratura studi su campioni sufficientemente numerosi da fornire una stima della soglia di percezione in condizione di maggiore contrasto e una sua distribuzione statistica. Lo scopo di questa tesi è la realizzazione di uno strumento che permetta di compiere un'analisi psicofisica volta a indagare maggiormente sugli aspetti di questo fenomeno entoptico. L'obiettivo è quello stabilire dei valori attesi di percentuale di luce polarizzata necessaria per la visualizzazione degli Haidinger's brush in soggetti sani, e di testare il prototipo di un nuovo strumento di analisi che può trovare applicazione nello screening rapido e non invasivo per la diagnosi precoce di anomalie maculari.

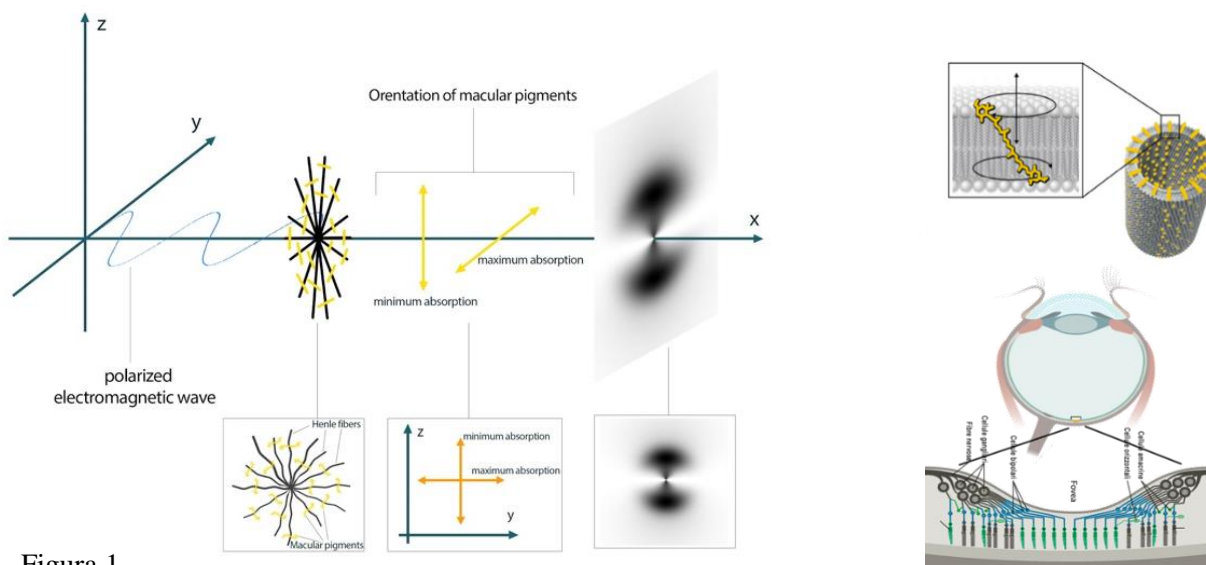


Figura 1

Modello proposto: la retina come analizzatore radiale, rappresentazione 3D delle fibre di Henle con molecole di luteina e rappresentazione degli strati retinici in corrispondenza della fovea.

Materiali e metodi

In questa tesi è stato progettato e sviluppato uno strumento (figura 2) che ha lo scopo di far percepire il fenomeno degli Haidinger's brush e che ha permesso di compiere un'indagine psicofisica per valutare la sensibilità dell'occhio umano alla luce polarizzata.

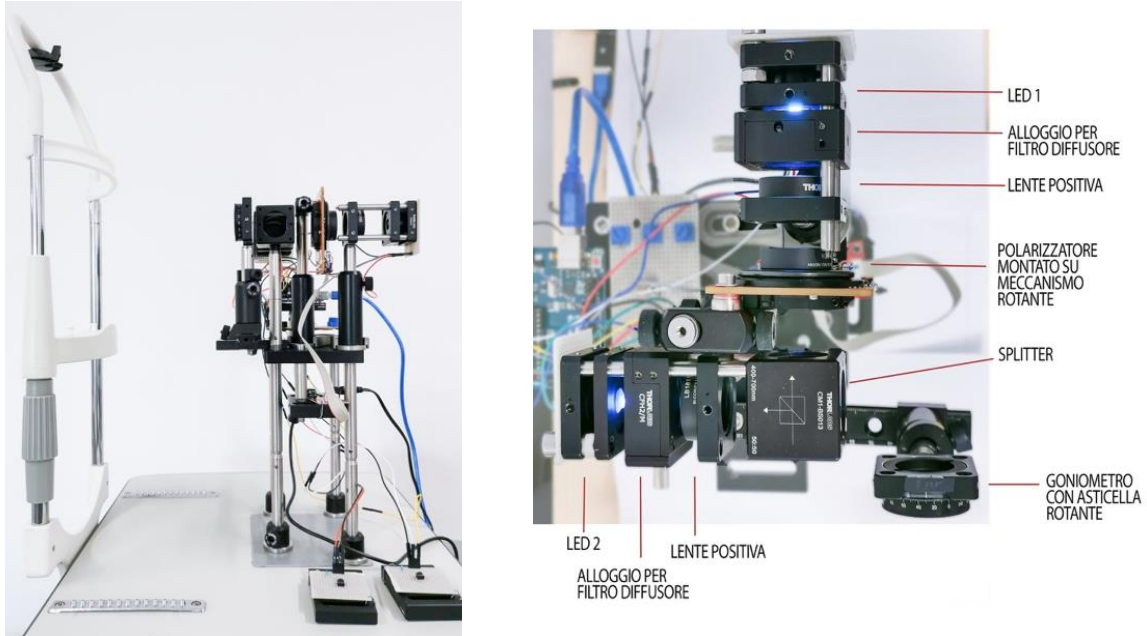


Figura 2
Foto e schematizzazione dello strumento realizzato.

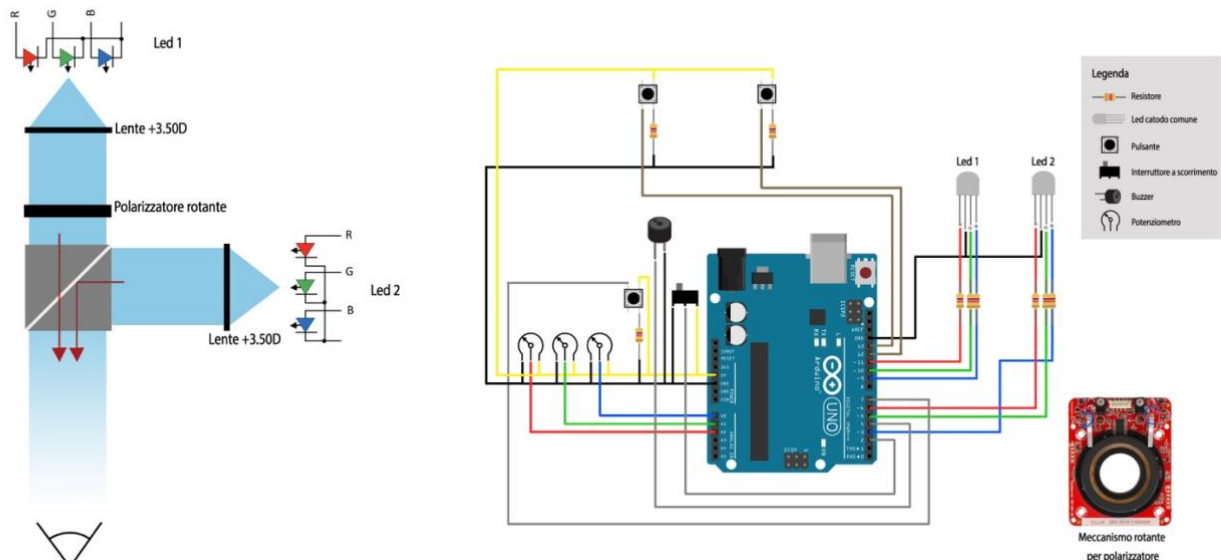


Figura 3
Schematizzazione della parte ottica dello strumento (a sinistra) e della circuiteria (a destra).

Lo strumento prevede l'utilizzo di due fonti luminose, un led RGB (LED 1) e un secondo led RGB (LED 2). Ogni led è posto sul fuoco di una lente convessa con focale di 3,50 cm (circa 2,86D), che

permette di ottenere così un fascio parallelo in uscita. L'utilizzo di un beam splitter consente di combinare i due fasci di luce provenienti dai due LED. In questo modo, ponendo un polarizzatore lineare solamente lungo il percorso del LED 1, è possibile combinare luce polarizzata con luce non polarizzata, dando origine a un fascio di luce con diverse percentuali di componente polarizzata (figura 3). Si può ottenere così luce completamente depolarizzata (0%) e luce totalmente polarizzata (100%) passando per tutti i valori percentuali intermedi. Al fine di controllare la comparsa e persistenza del pattern, il polarizzatore lineare è montato su un meccanismo rotante, controllato da un software dedicato. Lo strumento è stato programmato con l'utilizzo di una scheda Arduino UNO e del software IDE.

Sono stati assemblati in laboratorio di ottica diversi elementi meccanici di sostegno e varie componenti ottiche ed elettroniche, quest'ultime connesse attraverso collegamenti effettuati su breadboard. L'utilizzo di pulsanti ha permesso di automatizzare l'indagine psicofisica, facilitando la raccolta dati. La scheda ARDUINO è stata programmata in modo da implementare i protocolli di indagine. L'analisi statistica è stata svolta in ambiente MatLab.

Di seguito verranno illustrati i protocolli. A ogni soggetto esaminato viene brevemente descritto il fenomeno, viene poi mostrata una simulazione video in modo da rendere immediato il riconoscimento del pattern osservato successivamente. Prima di procedere al test si verifica la dominanza oculare del soggetto con un test di puntamento. Tutti i test vengono eseguiti con la correzione abituale. Viene chiesto a ogni soggetto di sedersi e di appoggiare il mento sull'apposita mentoniera. Lo strumento deve essere quindi regolato per risultare allineato con l'occhio dell'utente. Si comunica all'esaminato di osservare al centro del disco luminoso e di prestare attenzione alla comparsa di un pattern rotante simile a quello mostrato nella simulazione video, sottolineando che alcune volte la figura risulterà molto difficile da percepire o addirittura non percepibile. Si raccomanda di mantenere la fissazione al centro del disco durante tutta la prova.

Protocollo 1. La prima fase del test ha lo scopo di determinare in modo approssimativo la soglia di percentuale di luce polarizzata che permette di visualizzare gli Haidinger's brush in luce blu. Il valore ricavato in questa fase verrà poi utilizzato come partenza per la fase 2. L'esaminato viene testato con diverse percentuali di luce polarizzata blu in ordine decrescente (metodo psicofisico dei limiti decrescente). Il polarizzatore viene fatto ruotare arbitrariamente in senso orario o antiorario. Si chiede all'esaminato di riferire, dopo un segnale acustico, se riesce a percepire il pattern, in caso affermativo si passa alla percentuale inferiore. Si procede fino al valore per cui il soggetto riferisce di non vedere più gli Haidinger's brush. La soglia approssimativa risulta l'ultima percentuale che consente la visione del fenomeno. Per raggiungere una soglia il più vicina possibile a quella effettiva, quando l'esaminato riferisce di non vedere più il pattern, si ripresenta una seconda volta la rotazione senza far variare l'intensità dei LED (specificando di fissare al centro del disco luminoso), nel caso riferisca

nuovamente di non vedere più la figura la prima fase è terminata, nel caso riesca invece a percepirla si continua con la combinazione successiva.

Protocollo 2. In questa fase si stabilisce la soglia di percentuale di luce polarizzata che permette di visualizzare gli Haidinger's brush in luce blu. A differenza del protocollo 1, l'esaminato non deve solo percepire il fenomeno ma deve anche discriminare il senso di rotazione del pattern. Partendo dal valore ricavato nella fase 1, si presentano 25 percentuali di luce polarizzata utilizzando il metodo psicofisico della staircase (1 up, 2 down). A ogni risposta sbagliata viene aumentata la percentuale di luce polarizzata e viene diminuita solo dopo due risposte corrette. È importante comunicare all'esaminato che anche quando non riesce a percepire la figura deve comunque provare a intuire la direzione di rotazione. Si effettuano il protocollo 1 e il protocollo 2 prima sull'occhio destro e poi sull'occhio sinistro. Al termine dei due protocolli su entrambi gli occhi si passa all'ultima fase, il protocollo 3, che è stato effettuato su un numero minore di soggetti.

Protocollo 3. Lo scopo di questo protocollo è quello di indagare se il pattern risulta percepibile anche in luce bianca e stabilire la soglia della percentuale di luce polarizzata necessaria. Per fare questo si procede come con il protocollo 1, ma in luce bianca. L'ultima percentuale che consente la visione degli Haidinger's brush è quella corrispondente alla soglia. Poiché in luce bianca il pattern è molto debole e potrebbe confondersi con altri riflessi spuri, la richiesta che viene fatta è che il soggetto dica di vedere la figura unicamente quando riesce a discriminare nettamente il "papillon" giallo. Dal momento in cui riferisce di non vedere più questa figura distintamente, il test è da considerarsi concluso.

Protocollo 4. È stato creato poi un ulteriore protocollo utilizzato su un singolo soggetto. Lo scopo di questa fase è quello di valutare la capacità di individuare il corretto angolo di polarizzazione della luce osservata. Per questo protocollo viene utilizzato un goniometro rotante con un'asticella che il soggetto potrà regolare soggettivamente. La richiesta che viene fatta all'esaminato è quella di allineare l'asticella con l'asse del pattern visualizzato. Poiché il pattern non può essere visualizzato se il polarizzatore rimane fermo (a causa dell'adattamento neurale), questo verrà fatto oscillare di 180° in modo da essere continuamente percepibile. Viene presentata luce blu polarizzata con diverse inclinazioni e si confronta l'orientazione effettiva con quella rilevata dal soggetto. Lo scopo di questa fase è quello di indagare l'influenza della birifrangenza corneale sulla percezione del fenomeno.

L'indagine psicofisica dei protocolli 1 e 2 è stata effettuata su 113 soggetti con età compresa tra 6 e 77 anni. L'età media è di 30 anni. Il campione è costituito dal 33,6% di uomini e dal 66,4% di donne. Il protocollo 3 è stato invece eseguito su un sottogruppo del campione precedente costituito da 31 soggetti con età compresa tra 11 e 69 anni. L'età media è di 32 anni, il 45,2% uomini, il 54,8% donne.

Risultati

I dati ricavati dai protocolli 1 e 2 sono stati analizzati attraverso un fit ottenuto con una curva log-normale, pesato assumendo come errori le radici quadrate delle frequenze (figura 4). La media della minima percentuale di luce polarizzata blu che permette la visualizzazione degli Haidinger's brush, ottenuta con il migliore occhio testato per ogni soggetto, è di $15,75\% \pm 1,02\%$. Con il peggiore, la soglia è $20,95\% \pm 1,13\%$.

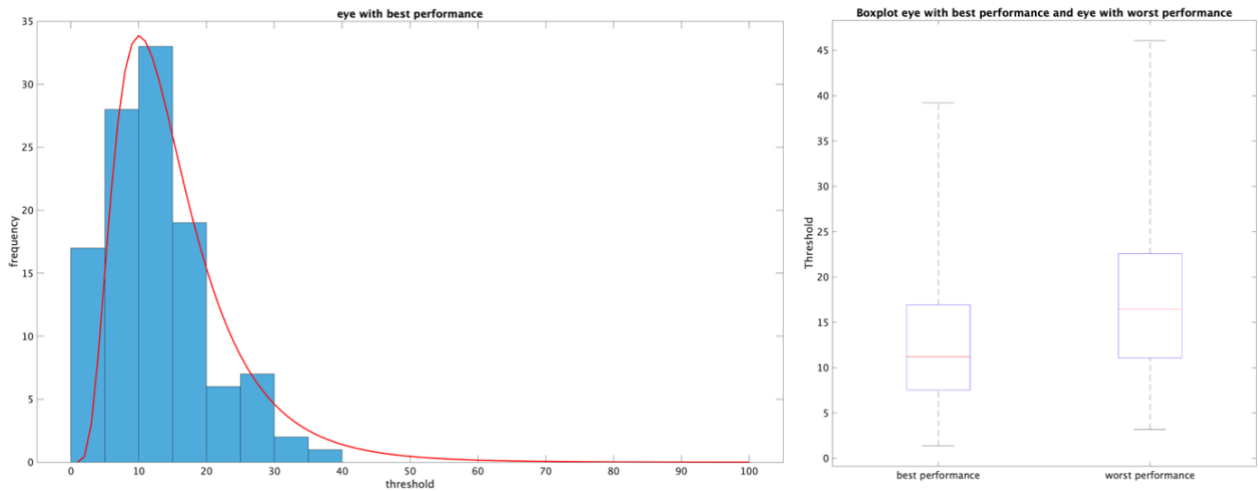


Figura 4
Grafico delle frequenze per diverse soglie con fit non lineare, inerente agli occhi con soglia più bassa (luce blu) e boxplot inerenti all'occhio con soglia più bassa e all'occhio con soglia più alta (luce blu).

È stata poi valutata la differenza di soglia tra i due occhi in uno stesso soggetto. Nella maggior parte dei casi la differenza è inferiore al 10% (figura 5).

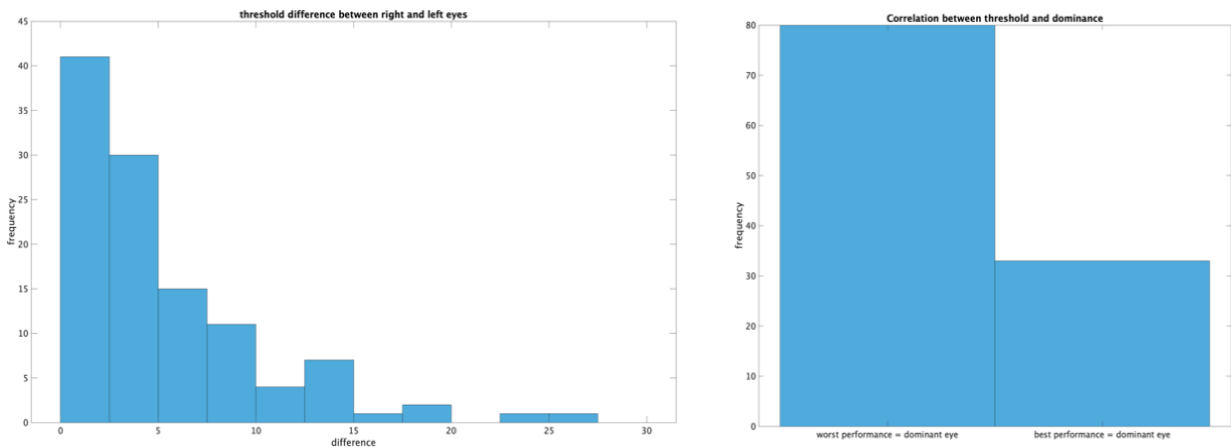


Figura 5
Grafico che rappresenta le frequenze di differenza tra le soglie dei due occhi in uno stesso soggetto (luce blu) e grafico che rappresenta nella prima colonna il numero di soggetti in cui la soglia minore corrisponde all'occhio non dominante (dominanza di puntamento), nella seconda il numero di soggetti in cui la soglia minore corrisponde alla dominanza di puntamento (luce blu).

Pare non esserci correlazione tra dominanza di puntamento e soglia più bassa. Infatti come si può vedere dal grafico in figura 5 questo non avviene, anzi sembra essere presente una tendenza contraria. Questo è giustificabile con due motivi: (a) la dominanza di puntamento non è la dominanza che va a

migliorare o peggiorare la percezione del fenomeno, andrebbe valutata piuttosto una dominanza sensoriale. Nonostante nella maggior parte dei casi i diversi tipi di dominanze coincidano in una stessa persona, questo non è vero nella totalità dei soggetti. (b) C'è un fattore di apprendimento da tenere in considerazione. I protocolli ideati prevedono di testare in tutti i soggetti prima l'occhio destro e successivamente l'occhio sinistro. Si va incontro quindi a un fenomeno di apprendimento che favorisce il secondo occhio testato. Poiché la maggior parte dei soggetti presenta una dominanza destra, sembrerà che la soglia minore tenda a essere ottenuta con l'occhio non dominante, cioè il sinistro.

È stata poi valutata la media degli uomini e delle donne separatamente, considerando l'occhio con performance migliore: la media maschile risulta del $18,73\% \pm 3,14\%$, quella femminile del $16,09\% \pm 1,14\%$. Sembra non esserci quindi correlazione tra sesso e soglia. Inoltre attraverso un fit è possibile escludere anche la correlazione tra età e soglia, poiché il coefficiente R^2 risulta prossimo allo zero.

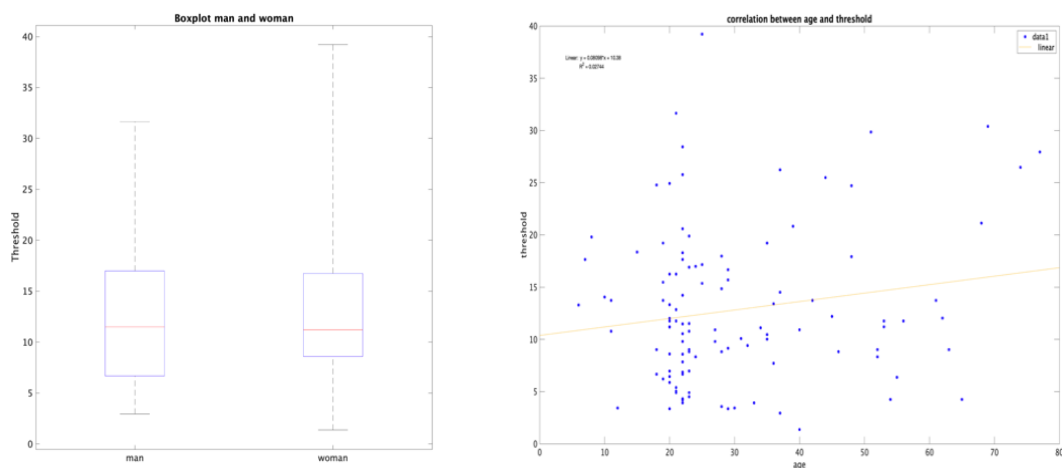


Figura 6
Boxplot inerenti alla soglia maschile e femminile (luce blu) e grafico che rappresenta le soglie in funzione dell'età dei soggetti esaminati (luce blu).

Le stesse considerazioni sono state fatte sui dati in luce bianca del protocollo 3.

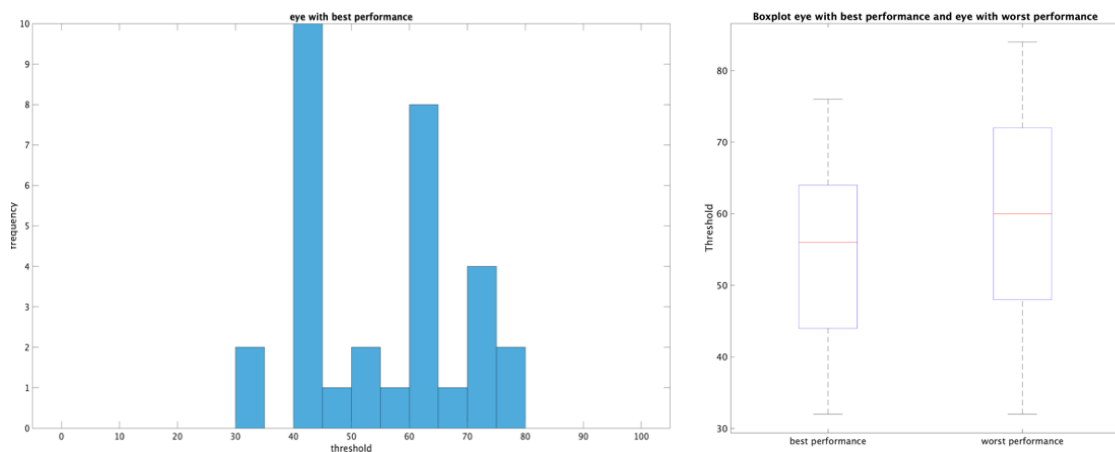


Figura 7
Grafico delle frequenze per diverse soglie, inerente agli occhi con soglia più bassa (luce bianca) e boxplot inerenti all'occhio con soglia più bassa e all'occhio con soglia più alta (luce bianca).

La soglia in luce bianca è pari al $55,16\% \pm 13,26\%$ per l'occhio con performance migliore e al $58,84\% \pm 14,05\%$ per l'occhio con soglia più alta. Valgono anche in questo caso le stesse considerazioni fatte in luce blu per l'assenza di correlazione della soglia con sesso ed età.

Per il fit del protocollo 4 è stata utilizzata l'equazione presa da Temple et al., che a sua volta è stata modificata a partire da quella presente nell'articolo di Rothmayer et al. del 2007.

$$\theta_1 = \frac{1}{2} \arccos\left(\frac{\cos(2(\theta_0 + s))}{\sqrt{1 - \sin^2 \Delta \sin^2 2(\theta_0 + s)}}\right) - s$$

In questo lavoro si è svolta l'analisi su di un singolo soggetto, allo scopo di mostrare questa ulteriore funzionalità offerta dallo strumento realizzato, senza la pretesa di svolgere una indagine statistica della variabilità dei parametri corneali nella popolazione esaminata. La raccolta dei dati richiede infatti un tempo prolungato di misura ed un certo livello di apprendimento nella percezione e fissazione del pattern. L'analisi svolta dimostra comunque la potenzialità e l'utilità dello strumento per lo svolgimento di questa ulteriore indagine che può essere oggetto di studi futuri. Il caso esaminato evidenzia una differenza nel ritardo corneale tra i due occhi, con un valore di $\Delta=(55\pm 6)^\circ$ per il destro e di $\Delta=(23\pm 15)^\circ$ per il sinistro. Al crescere del ritardo si accentua la deviazione dalla linearità della polarizzazione percepita, ovvero dell'orientazione degli Haidinger's Brush, rispetto a quella in ingresso.

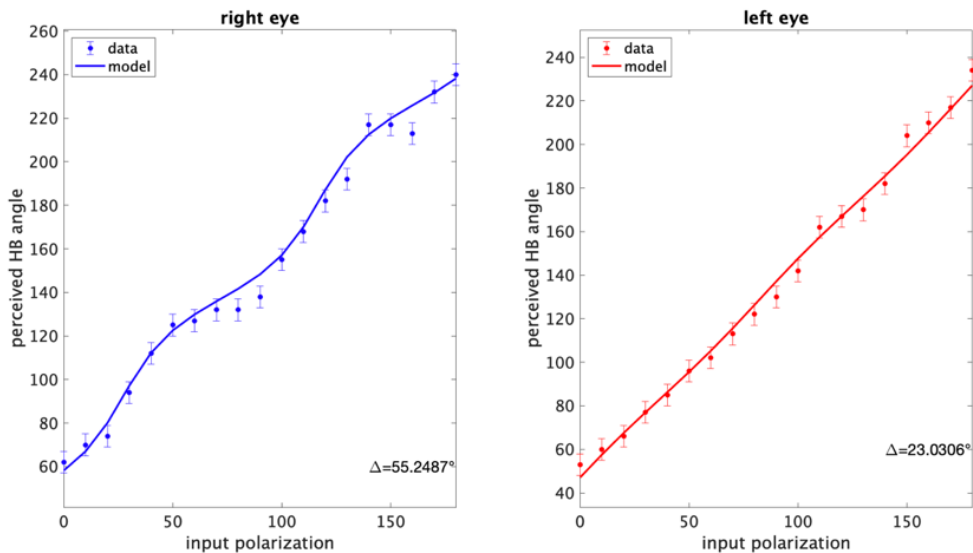


Figura 8

Grafici inerenti ai dati raccolti dell'occhio destro e dell'occhio sinistro durante il protocollo 4 con fit non lineare effettuato con l'equazione sopra riportata.

Conclusioni

La raccolta dati effettuata su più di 100 soggetti ha permesso per la prima volta di ottenere una stima della percentuale di luce polarizzata necessaria per percepire il fenomeno degli Haidinger's brush in condizioni di massimo contrasto e di studiarne la distribuzione statistica. La media ottenuta con il migliore occhio testato per ogni soggetto è di circa il 16% in luce blu e di circa il 55% in luce bianca. Come ci si aspettava la percezione del pattern in luce blu è molto più semplice rispetto a quando il test viene effettuato in luce bianca, poiché il contrasto è massimo intorno ai 460 nm. Pare non ci sia correlazione tra percezione del fenomeno e vizio refrattivo, utilizzo di lenti a contatto od occhiali, sesso ed età poiché le medie risultano compatibili entro l'errore.

Non sono presenti studi in letteratura che stabiliscono dei valori di media sulla percentuale di luce polarizzata blu che permette di vedere il fenomeno. C'è tuttavia uno studio, condotto dall'Università di Bristol su 27 soggetti (S.E. Temple et al., 2015), che stabilisce una soglia di percezione in luce bianca. È possibile quindi confrontarlo con i dati raccolti durante il protocollo 3. In questo studio si riporta una soglia media del 56% di componente polarizzata, in linea con quanto trovato nella nostra raccolta dati.

Il fit effettuato con una funzione log-normale risulta adatto per descrivere l'andamento dei dati raccolti in luce blu, infatti effettuando il test del chi quadro con un livello di significatività dello 0.05 (intervallo di confidenza del 95%) si stabilisce che il fit è statisticamente accettabile. Quando si utilizza una log-normale, non è la variabile stessa a distribuirsi normalmente, ma il suo logaritmo. Questo potrebbe essere in accordo con la legge psicofisica di Weber-Fechner ($S = k \log(x)$, dove x è lo stimolo, k una costante di proporzionalità, S una misura della percezione effettiva), che descrive come variazioni uguali del logaritmo della luminosità corrispondano a identiche variazioni della percezione. Il contrasto è dato da variazioni di luminanza e il pattern viene riconosciuto solamente se il contrasto è sufficiente, questo potrebbe quindi giustificare l'andamento log-normale della funzione con cui è stato effettuato il fit.

La raccolta dati è stata effettuata su un campione di soggetti senza patologie oculari che interessano direttamente la macula, questo ha permesso di ottenere una stima di un "valore di norma", cioè un valore che ci si aspetta da un soggetto in cui i pigmenti maculari non risultano compromessi. Sarebbe interessante stabilire come rispondono soggetti con patologie maculari e con degenerazione dei pigmenti maculari stessi, per capire se esiste un valore di cut-off tra condizione fisiologica e patologica oppure solo per stabilire dei valori "sospetti" che, una volta individuati, possano suggerire la presenza di una patologia o comunque di una condizione non fisiologica. La continuazione di questo studio potrebbe quindi stabilire se effettivamente nella pratica lavorativa l'utilizzo di uno

strumento simile a quello creato per questa tesi possa costituire una metodologia di screening semplice ed efficace.

Bibliografia

- Horváth, G., Takács, P., Kretzer, B., Szilasi, S., Száz, D., Farkas, A., & Barta, A. (2017). Celestial polarization patterns sufficient for Viking navigation with the naked eye: detectability of Haidinger's brushes on the sky versus meteorological conditions. *Royal Society open science*, 4(2), 160688.
- Le Floch, A., Ropars, G., Enoch, J., & Lakshminarayanan, V. (2010). The polarization sense in human vision. *Vision research*, 50(20), 2048–2054.
- McGregor, J., Temple, S. E., & Horváth, G. (2014). Human Polarization Sensitivity. In G. Horváth (Ed.). *Polarized Light and Polarization Vision in Animal Sciences* (pp. 303–315).
- Misson, G. P., Timmerman, B. H., & Bryanston-Cross, P. J. (2015). Human perception of visual stimuli modulated by direction of linear polarization. *Vision research*, 115(Pt A), 48–57.
- Rothmayer M, Dultz W, Frins E, Zhan Q, Tierney D, Schmitzer H. (2007). Nonlinearity in the rotational dynamics of Haidinger's brushes. *Appl. Opt.* 46, 7244 – 7251.
- S.E. Temple, J.E. McGregor, C. Miles, L. Graham, J. Miller, J. Buck, N.E. Scott-Samuel, N.W. Roberts, Perceiving polarization with the naked eye: characterization of human polarization sensitivity, *Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci.* 282 (2015).