

**ALMA MATER STUDIORUM-UNIVERSITA' DI BOLOGNA
SEDE DI CESENA
SECONDA FACOLTA' DI INGEGNERIA CON SEDE A CESENA
CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA:
PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO, STUDIO DELLA
TECNOLOGIA ED APPLICAZIONI NEL SETTORE
CLINICO**

Elaborata in

Ingegneria clinica

Relatore

DOTT. CLAUDIO LAMBERTI

Presentata da

FILIPPO GIOVANNINI

Sessione 2[^]

Anno Accademico 2011-2012

*Alla mia famiglia, che mi ha concesso questa splendida
opportunità e alla mia ragazza, che mi è stata vicina
nei momenti di sconforto.*

*Un ringraziamento è rivolto ai reparti di ingegneria clinica dell'ausl di Rimini e di
oculistica di Riccione,
in particolare dell'ingegnere Cenni che mi ha seguito durante il progetto.*

INDICE

INTRODUZIONE	7
1.CENNI DI ANATOMIA OCULARE.....	10
1.1 PALPEBRA.....	10
1.2 CONGIUNTIVA.....	10
1.3 CORNEA.....	10
1.4 CRISTALLINO.....	11
1.5 LIMBUS.....	12
1.6 SCLERA.....	12
1.7 ANGOLO IBRIDO-CORNEALE.....	13
1.8 IRIDE.....	13
1.9 CORPO CILIATO.....	14
1.10 VITREO.....	14
1.11 COROIDE.....	14
1.12 RETINA.....	15
1.13 APPARATO MUSCOLARE.....	16
2.PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO.....	17
2.1 LUCE: INTERFERENZA E COERENZA	17
2.2 INTERFEROMETRIA A BASSA COERENZA	20
2.3 SENSIBILITÀ	23
2.4 RISOLUZIONE SPAZIALE	24
2.5 DENSITA' DEI PIXEL E TEMPO DI ACQUISIZIONE DELL'IMMAGINE.....	26
2.6 MODALITA' DI PRODUZIONE DELL'IMMAGINE.....	27
2.6.1 A-scan.....	28
2.6.2 B-scan.....	29
2.6.3 C-scan o 3D Oct.....	29

3. LA NUOVA TECNOLOGIA FOURIER DOMAIN	31
3.1 TIME DOMAIN OCT.....	31
3.2 FOURIER DOMAIN OCT.....	32
3.3 SPECTRAL OCT E SWEPT SOURCE OCT.....	36
3.4 INCONVENIENTI DELLA TECNOLOGIA E LORO RISOLUZIONE.....	39
3.4.1 DISPERSIONE.....	39
3.4.2 SNR DROP-OFF.....	40
3.4.3 SEGNALE SIMMETRICO.....	41
4. INTERPRETAZIONE DELLA TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA.....	42
4.1 PROPRIETA' OTTICHE NEL TESSUTO.....	42
4.2 INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI OCT DEL SEGMENTO POSTERIORE NORMALE.....	43
4.2.1 ASSE PAPPILLOMACULARE.....	43
4.2.2 MICROSTRUTTURA RETINICA.....	47
4.2.3 TESTA DEL NERVO OTTICO.....	44
4.3 INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI OCT DEL SEGMENTO ANTERIORE NORMALE.....	49
4.3.1 CAMERA ANTERIORE.....	49
4.3.2 CORNEA ED ANGOLO.....	49
4.4 INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI OCT DELLE PATOGIE RETINICHE.....	50
4.4.1 CARATTERI GENERALI ASSOCIATI ALLA PATOLOGIA.....	50
4.4.2 FORI MACULARI.....	51
4.4.3 ANOMALIE VITREALI E DELL'INTERFACCIA VITREO-RETINICA.....	53
4.4.4 LIQUIDO SOTTORETINICO, EMORRAGIA E PROLIFERAZIONE FIBROVASCOLARE.....	55
4.4.5 EDEMA MACULARE.....	58
4.4.6 EPITELIO PIGMENTATO RETINICO E CORIOCAPILLARE.....	59
4.4.7 ATROFIA DELLO STRATO DELLE FIBRE NERVOSE E DELLA RETINA: GLAUCOMA E DISTROFIA.....	61
5 PROTOCOLLI DI SCANSIONE ED ELABORAZIONE DELL'IMMAGINE OCT.....	63
5.1 PROTOCOLLI DI SCANSIONE LINEARE.....	63
5.2 PROTOCOLLI DI SCANSIONE VOLUMETRICA.....	63
5.2 PROTOCOLLI DI SCANSIONE CIRCOLARE.....	64
5.3 OTTIMIZZAZIONE TEMPORALE O SCANSIONI VELOCI.....	65
5.4 PROTOCOLLI DI ELABORAZIONE DELL'IMMAGINE.....	66
5.4.1 SPESSORE RETINICO E MAPPA DELLO SPESSORE RETINICO.....	67
5.4.2 STRATO DELLE FIBRE NERVOSE.....	70

5.4.3 DISCO OTTICO.....	74
6 PARAMETRI DA CONSIDERARE NELLA SCELTA DI UN OTTIMO OCT.....	76
6.1 VELOCITA' DI SCANSIONE.....	76
6.2 EYE TRACKING ATTIVO.....	78
6.3 SISTEMA DI RIDUZIONE DEL RUMORE.....	81
6.4 SISTEMA DI ALLINEAMENTO AUTOMATICO.....	82
6.5 CAPACITA' DI PENETRAZIONE DEL FASCIO.....	82
6.6 CAPACITA' NEL DISCRIMINARE I VARI STRATI RETINICI.....	83
6.7 SISTEMA DI MESSA A FUOCO AUTOMATICA.....	85
6.8 ELEVATA RISOLUZIONE SPAZIALE.....	85
6.9 IMMAGINE DEL FONDO.....	86
7 IL FUTURO DEGLI OCT E GLI SPECTRAL ATTUALI.....	88
7.1 OTTICA ADATTATIVA.....	88
7.2 CONCLUSIONI.....	91
BIBLIOGRAFIA.....	92
SITOGRAFIA.....	93

INTRODUZIONE

La tomografia a coerenza ottica (Optical Coherence tomography, OCT) rappresenta fondamentalmente una nuova modalità di diagnostica per immagini. L'OCT nasce come tecnologia nel 1992 ad opera dell'Advanced Ophthalmic Devices (AOD), con l'immissione sul mercato del primo strumento diagnostico OCT nel 1995.

L'OCT fornisce immagini ad alta risoluzione, nella scala dei micron, sotto forma di sezione trasversale o tomografica, delle microstrutture dei tessuti biologici, tramite la misura del ritardo dell'eco e dell'intensità della luce retrodiffusa o riflessa. Quindi i principi di funzionamento sono simili a quelli dell'ultrasonografia con la sola differenza del mezzo impiegato per la rilevazione dei particolari tissutali. Rispetto agli ultrasuoni, con l'OCT non è possibile ottenere informazioni di elevata precisione per profondità superiori a 3 mm; tuttavia con questo metodo di indagine è possibile ottenere particolari a risoluzione spaziale superiore (3-5 μm di risoluzione assiale contro i 0.3 mm degli ultrasuoni e 20 μm contro 1 mm per la risoluzione trasversale).

L'OCT rappresenta una potente tecnica di diagnostica per immagini poiché consente la visualizzazione in tempo reale, in situ, delle microstrutture tissutali senza la necessità di ottenere ed analizzare un campione tramite biopsia e studio istopatologico (dimostrandosi un metodo di indagine non invasivo).

L'OCT può avere tre tipi di applicazione clinica:

- Essere una valida alternativa alla biopsia escissionale, qualora si mostrasse troppo rischiosa da eseguire
- Come guida nella giusta localizzazione della parte di tessuto da estrarre nella biopsia
- Come guida a procedure di intervento chirurgico quali anastomosi vascolari e nervose, guida al posizionamento di stent ed arteriectomie negli interventi di cardiologia

L'OCT è particolarmente importante in oftalmologia perché fornisce in tempo reale immagini di sezioni trasversali della retina o della camera anteriore dell'occhio.

Dal momento che produce un'immagine sotto forma di sezione della morfologia retinica, fornisce informazioni diagnostiche essenziali, complementari alla fotografia del fondo, all'angiografia (con fluoresceina o verde indocianina) e all'autofluorescenza. Con questa tecnica è possibile visualizzare ad esempio la fovea e il disco ottico (figura 1), ma anche la morfologia architetturale interna della retina, cioè lo strato delle fibre nervose (RNFL), delle cellule ganglionari o dei fotorecettori. L'immagine OCT della camera anteriore dell'occhio permette la visualizzazione della cornea, dell'iride del cristallino e delle strutture dell'angolo (figura 2).

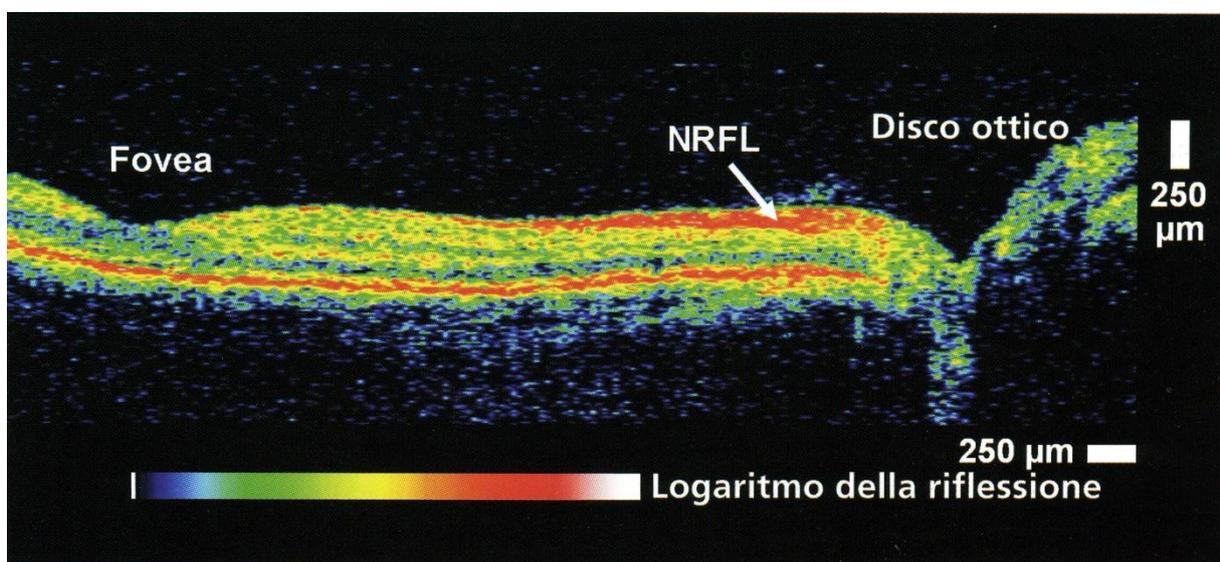


figura 1-Immagine OCT del segmento posteriore. Vengono mostrati la depressione foveale e disco ottico, in connessione con il nervo ottico.

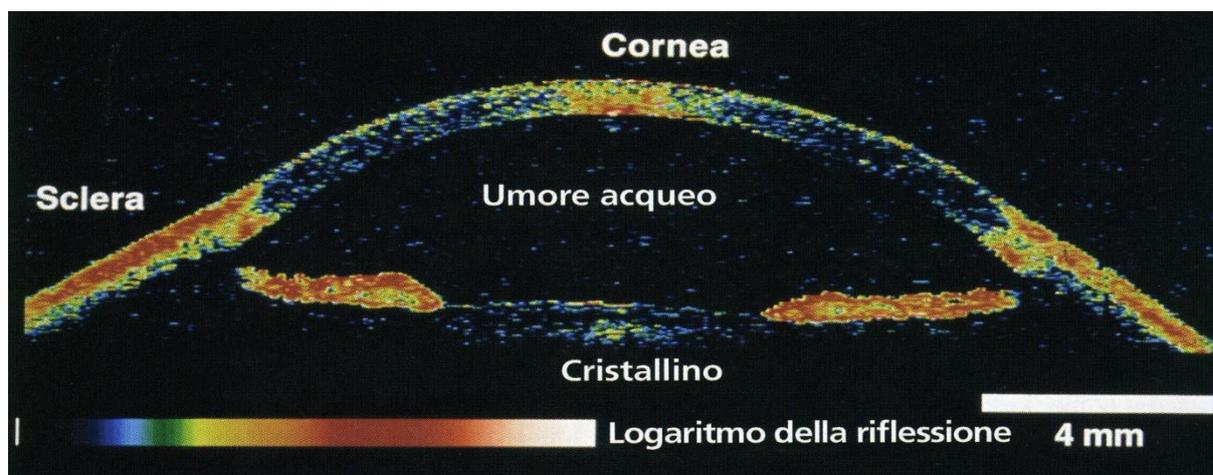


figura 2-Immagine OCT del segmento anteriore. Vengono evidenziati cornea, sclera, cristallino e iride. Dall'immagine si nota come le diverse strutture riflettano in maniera differente la luce incidente.

L'OCT si è dimostrata utile per la diagnosi ed il follow-up di una varietà di patologie maculari, come edema maculare, fori maculari, corioretinopatia della sierosa centrale, degenerazione coroideale e membrane epiretinali.

Inoltre può anche essere utilizzata per ottenere misure quantitative, ovvero per effettuare la morfometria della retina. È particolarmente indicata per la diagnosi ed il follow-up di malattie come il glaucoma o l'edema maculare associato alla retinopatia diabetica, perché fornisce una misurazione quantitativa di parametri come lo spessore dello strato delle fibre nervose, utili per valutare la progressione della malattia o verificare la risposta ad una terapia curativa. La tecnologia OCT è oggi in continuo sviluppo con i seguenti obiettivi:

- Aumentare sempre più la risoluzione assiale, parametro importante per ottenere qualità dei dettagli a profondità sempre maggiori
- Aumentare la risoluzione trasversale per aumentare la definizione dell'immagine B-scan(2D) ottenuta
- Aumentare la velocità di acquisizione delle immagini e quindi delle scansioni assiali per secondo al fine di ridurre al minimo artefatti dovuti al movimento dell'occhio

1 CENNI DI ANATOMIA OCULARE

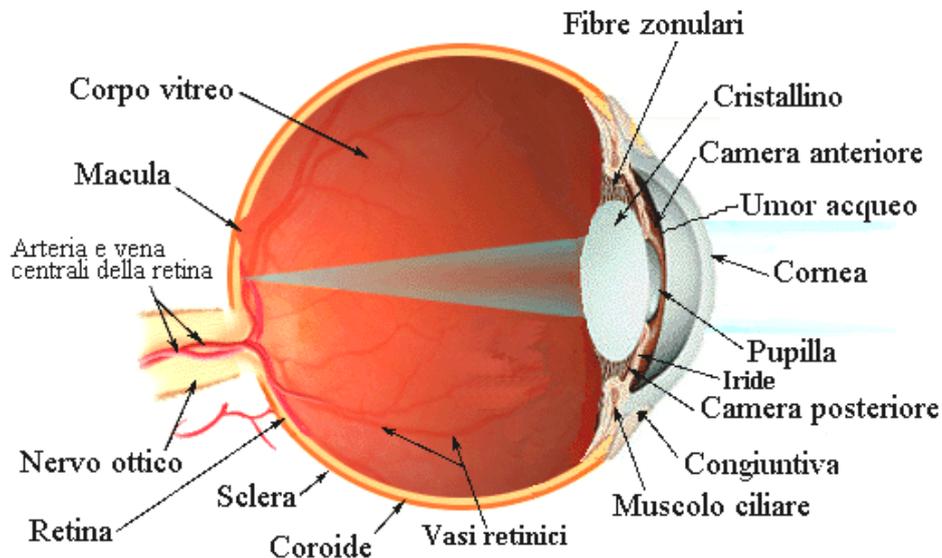


Figura3-visione d'insieme della struttura dell'occhio in cui sono visibili camera anteriore e posteriore.

1.1 Palpebra

Formazione cutaneo- membranosa che ricopre l'occhio e svolge un importante lavoro di protezione, contribuendo alla distribuzione del liquido lacrimale.

1.2 Congiuntiva

Membrana mucosa che riveste la faccia posteriore delle palpebre e la parte anteriore dell'occhio.

1.3 Cornea

La cornea è la lente esterna dell'occhio e, quindi, la prima lente che i raggi luminosi incontrano nel loro percorso verso la retina dove andranno a formare le immagini, che poi giungeranno al cervello attraverso il nervo ottico.

E' necessario che i raggi luminosi giungano sulla retina a fuoco. La cornea è responsabile di circa l'80% della messa a fuoco, il resto è completato dal cristallino che è la lente interna dell'occhio. E' costituita da cinque strati successivi: epitelio corneale, membrana di Bowmann, stroma, membrana di Descemet, endotelio.



figura4-Raffigurazione della cornea in un occhio normale

1.4 Cristallino

E' la lente naturale trasparente e biconvessa dell'occhio, una struttura che, insieme alla cornea, consente di mettere a fuoco i raggi luminosi sulla retina. Ha il compito specifico di variare la distanza focale del sistema ottico, cambiando la propria forma, per adattarlo alla distanza dell'oggetto da mettere a fuoco.

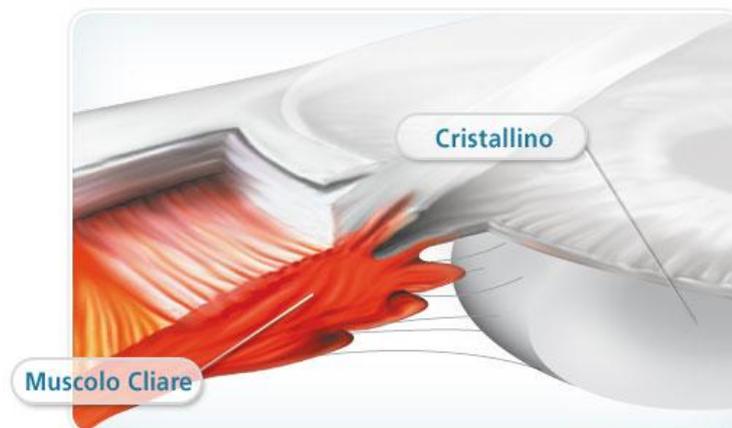


Figura 5-Inserzione tra cristallino e muscolo ciliare.

1.5 Limbus

Rappresenta una barriera cellulare caratterizzata da un epitelio di 10- 12 strati contenente melanociti, cellule di Langherans e vasi sanguigni. L'importanza di questa struttura dipende dalla presenza di cellule staminali dell'epitelio corneale, le quali per tutta la vita proliferano e permettono alle cellule dell'epitelio di rinnovarsi.

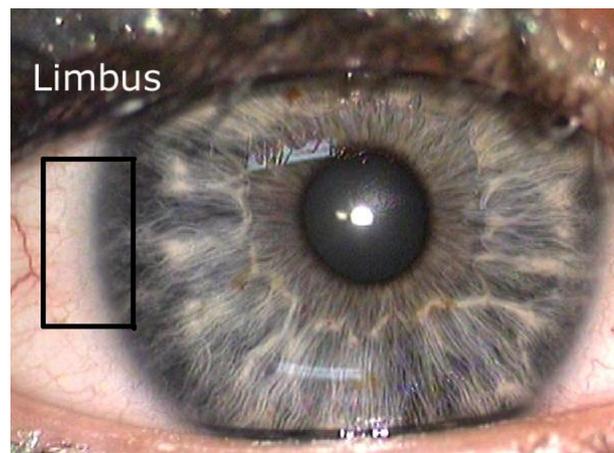


Figura6-Raffigurazione del limbus,ovvero dell'interfaccia tra cornea e sclera.

1.6 Sclera

E' il cosiddetto "bianco dell'occhio". Si tratta di una membrana fibrosa opaca che costituisce i 5/6 della tunica esterna del bulbo oculare. La sclera ha una funzione strutturale e protettiva: mantiene la forma dell'occhio e nel contempo protegge le strutture in esso contenute. Consente inoltre l'inserzione della muscolatura oculare estrinseca. La sclera è formata da due strati: quello più esterno, denominato episclera, ricco di vasi sanguigni e tessuto connettivo. Lo strato più interno è la sclera, propriamente detta, composta da tessuto connettivo lasso.



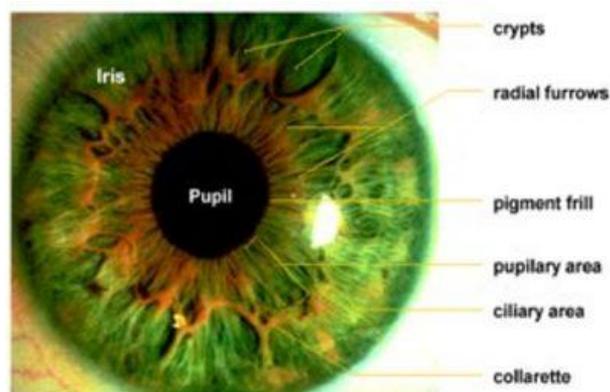
figura 7-In figura è mostrato il fondo dell'occhio; vengono mostrate in particolare retina corioide e sclera,rispettivamente,dallo strato più superficiale a quello più in profondità.

1.7 Angolo ibrido-corneale

Spazio delimitato dallo stroma corneale e dall'iride posteriormente. Lateralmente, presso l'angolo vero e proprio, è presente il sistema trabecolare. Quest'ultimo ha un ruolo fondamentale per il drenaggio dell'umor acqueo.

1.8 Iride

E' una struttura pigmentata (colorata) dalla forma anulare, convessa anteriormente, che agisce quale diaframma muscolare per regolare il diametro del suo foro centrale, la pupilla e quindi il passaggio di luce.



In figura 8 sono mostrate pupilla e iride;di quest'ultimo ne vengono indicate le varie zone di cui è costituito.

1.9 Corpo ciliato

Il corpo, o processo ciliare, è la zona media della tonaca vascolare dell'occhio che, facendo seguito all'iride, si estende fino alla coroide, da cui è separata da un solco anulare che prende il nome di ora serrata. La parte principale del corpo ciliare è costituita da un anello muscolare (il muscolo ciliare) che si proietta verso l'interno dell'occhio, ed è rivestito da un epitelio ripiegato su se stesso a formare delle creste, definite processi ciliari, sulle quali si inseriscono i legamenti sospensori (o fibre zonulari) del cristallino. La funzione principale del corpo ciliare è di produrre l'umor acqueo.

1.10 Vitreo

Costituisce i $\frac{4}{5}$ del volume totale del bulbo oculare. E' una struttura incolore costituita prevalentemente da acqua (99% del totale). È distinguibile una parte esterna di consistenza gelatinosa, che presenta fibre collagene di tipo II e un particolare tipo di cellule fagocitarie mononucleate, dette ialociti, che producono l'acido ialuronico. La parte interna del corpo vitreo è quasi liquida e ricca di acido ialuronico.

1.11 Coroide

La coroide è uno strato pigmentato e vascolarizzato, prosecuzione posteriore del corpo ciliare, abbraccia i $\frac{5}{6}$ della circonferenza dell'occhio con uno spessore variabile che giunge sino a 160 μm dietro la macula. E' separata dalla retina, dall'ora serrata ed è a contatto con la sclera tramite la sua lamina supracorioidea. Viene inoltre perforata posteriormente dal nervo ottico. La sua funzione è quella di rappresentare una sorta di filtro per le sostanze che dai capillari fenestrati della coriocapillare giungono presso l'epitelio pigmentato della retina.

1.12 Retina

Sottile strato cellulare (spesso 100 μm , e circa 300 μm presso la fovea) collocato posteriormente alla coroide e anteriormente al corpo vitreo, che ha come limite anteriore l'ora serrata e come limite posteriore il disco ottico e il nervo ottico. Nella retina si distinguono una zona periferica e una zona centrale. La zona centrale è approssimativamente circolare e collocata inferiormente al disco ottico, è rappresentata dalla macula lutea e, nel suo centro, dalla fovea e dalla foveola, che non sono irrorate. Tutto ciò che vi è all'esterno della macula lutea è la retina periferica. Malgrado la retina sia sottile, si distinguono 10 strati sovrapposti che dal più superficiale al più profondo sono: l'epitelio pigmentato (strato epiteliale pigmentato), lo strato dei coni e dei bastoncelli, la membrana limitante esterna, lo strato nucleare esterno, lo strato plessiforme esterno, lo strato nucleare interno, lo strato plessiforme interno, lo strato delle cellule gangliari, lo strato delle fibre nervose e la membrana limitante interna. In generale gli strati 2-5 sono occupati dai fotorecettori della retina, ovvero i coni e i bastoncelli.

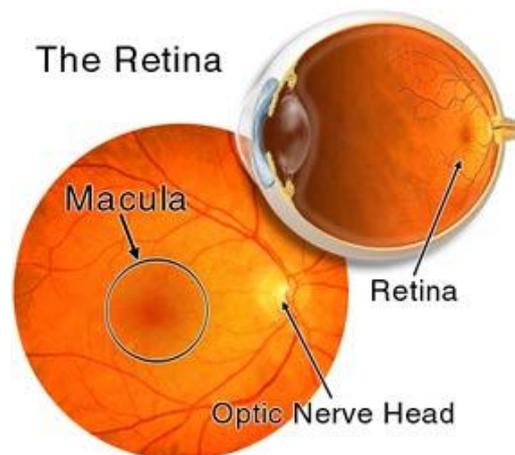


Figura 9 rappresenta la retina; essa comprende la macula, la parte più importante del fondo dell'occhio, nella quale vi è maggiore concentrazione di cellule sensoriali.

1.13 Apparato muscolare

Formato dai due tipi di muscolatura

- INTRINSECA :

- muscolo ciliare;
- muscolo sfintere della pupilla;
- muscolo dilatatore della pupilla.

- ESTRINSECA:

- 4 muscoli retti = superiore, inferiore, mediale e laterale;
- 2 muscoli obliqui = grande e piccolo obliquo;
- muscolo elevatore della palpebra superiore
- muscolo orbicolare

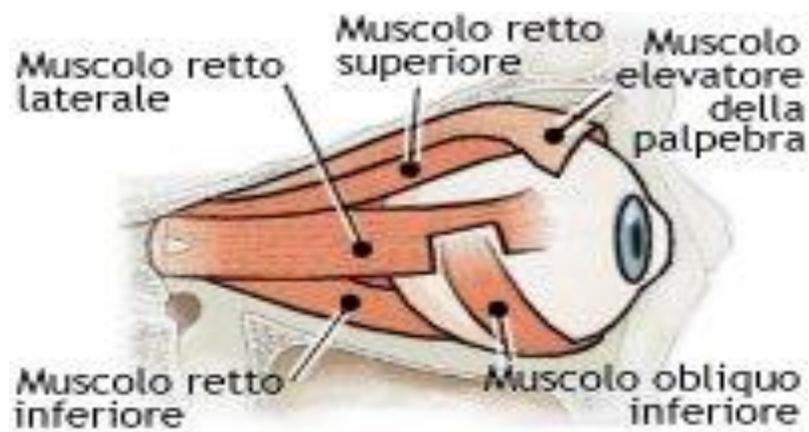


Figura 10-Visione schematica dell'apparato muscolare oculare

2 PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO

Per poter ottenere immagini ottiche di tessuti biologici sotto forma di sezione o tomografiche, è prima necessario misurarne le strutture interne. Nell'OCT il primo passo per ottenere tali immagini è misurare la distanza assiale all'interno del tessuto; quando un fascio di luce è diretto all'interno dell'occhio, si riflette a livello delle interfacce tra i differenti tessuti e diffonde in maniera diversa da tessuti che hanno proprietà ottiche differenti. Le distanze e le dimensioni delle differenti strutture oculari possono essere determinate misurando il tempo di ritardo dell'eco di luce che viene riflessa o retrodiffusa dalle differenti strutture al variare della distanza assiale.

Si definisce con $\Delta T = \frac{\Delta z}{v}$ la risoluzione temporale associata allo strumento atto a misurare il ritardo dell'eco luminoso; Δz è la distanza che percorre l'eco, mentre v è la velocità di propagazione dell'eco nel tessuto. Quindi per valori tipici di Δz di 5 μm , con v pari a 3×10^8 m/s si avranno risoluzioni temporali di circa 15 femtosecondi.

L'unico modo per poter rilevare segnali tanto rapidi è avvalersi di strumenti di rilevazione che sfruttano il principio dell'interferometria.

2.1 Luce: interferenza e coerenza

La luce è un'onda elettromagnetica. Un raggio di luce è composto da campi elettrici e magnetici che oscillano nel tempo e nello spazio ed è caratterizzato da un'ampiezza e da una lunghezza d'onda. A seconda del mezzo in cui si propaga, la luce riduce la propria velocità di un fattore detto indice di rifrazione del mezzo n :

$$v = \frac{c}{n}$$

Quando due raggi sono combinati tra loro i due campi elettromagnetici interagiscono e si verifica un fenomeno chiamato interferenza (fig.11). Affinchè si

verifichi un'interferenza è necessario che le due onde ricombinate abbiano lo stesso periodo di oscillazione, ovvero la stessa frequenza. Se i raggi che si incontrano hanno i campi in concordanza fase si parla di interferenza costruttiva e il segnale risultante ha ampiezza pari alla somma delle ampiezze delle due onde. Al contrario, si ha interferenza distruttiva quando il segnale si annulla a causa dei campi in opposizione di fase.

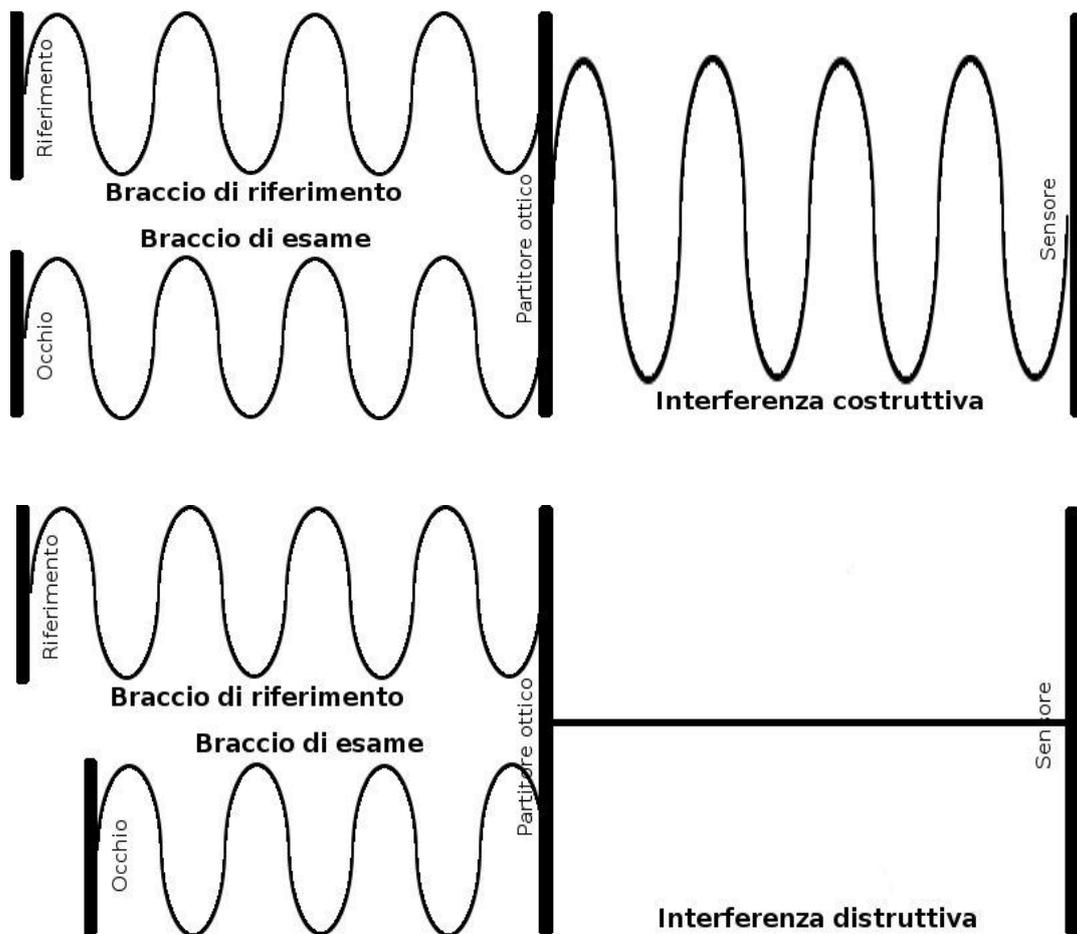


figura 11-rappresentazione di un'interferenza costruttiva e distruttiva

Nei casi reali le onde sono soggette a fluttuazioni attorno ad un certo valore medio f_0 , cioè hanno una propria larghezza di banda Δf .

La perturbazione elettrica risultante ha un'ampiezza e una fase che rimangono costanti solo per un certo intervallo di tempo detto tempo di coerenza:

$$\Delta t = \frac{1}{\Delta f}$$

Durante tale intervallo la perturbazione si comporta approssimativamente come una radiazione monocromatica.

Analogamente si definisce lunghezza di coerenza (Δl) il breve spazio in cui la radiazione può essere considerata perfettamente sinusoidale:

$$\Delta l = c \cdot \Delta t$$

Consideriamo per esempio due punti P_1 e P_2 giacenti sulla semiretta uscente da una sorgente S (figura 12).

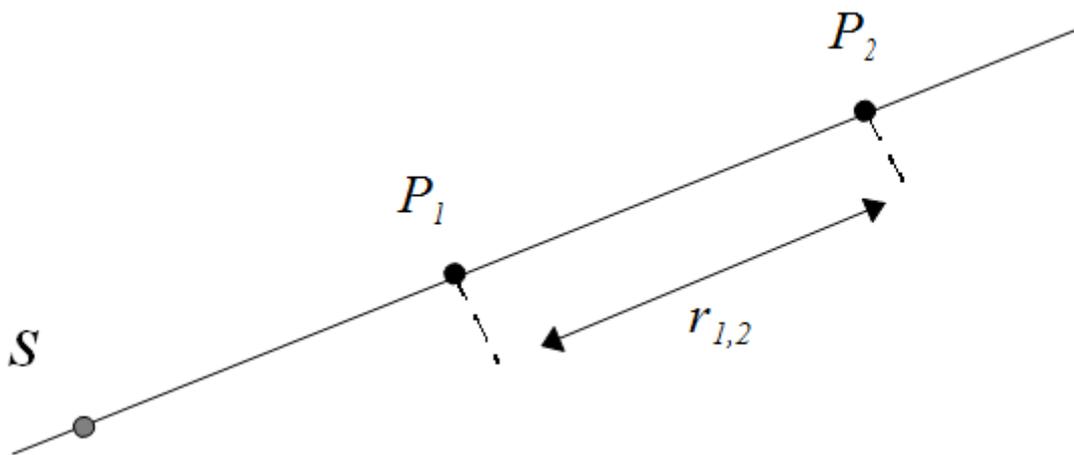


figura 12-distanza tra due punti P_1 e P_2 giacenti sulla semiretta uscente dalla sorgente S .

Se $\Delta l \gg r_{1,2}$ allora da P_1 a P_2 si presenta un singolo treno d'onda e la perturbazione in P_1 è fortemente correlata con quella in P_2 . In caso contrario, se $\Delta l \ll r_{1,2}$, le perturbazioni nei due punti sono completamente scorrelate e sono presenti molti treni d'onda. Se il raggio di luce è coerente e quindi ha una lunghezza di coerenza elevata, si osserveranno oscillazioni di interferenza per un ampio intervallo fra le relative differenze di lunghezza di traiettoria. Per applicazioni in ambito ottico è necessario misurare con precisione la posizione di una struttura in un tessuto; è quindi richiesta luce a bassa coerenza o lunghezza

di coerenza breve .Nella pratica OCT, questo viene implementato attraverso un diodo superluminescente.

Si tratta di un dispositivo simile ad un diodo laser, basato sull'azionamento elettrico di una giunzione p-n che, quando polarizzato, diventa otticamente attivo e genera emissione spontanea amplificata in un ampio intervallo di lunghezze d'onda .Solitamente il semiconduttore impiegato per produrre tale dispositivo è alluminio o arseniuro di gallio.All'interno del materiale vengono realizzate due giunzioni p-n e n-p+ a differenti drogaggio e indice di rifrazione. Nel momento in cui viene fornita energia sufficiente ad un elettrone,questo viene promosso al livello energetico superiore;al cessare della stimolazione,l'elettrone ritorna allo stato fondamentale, rilasciando per intero l'energia fornita. Tale energia è rilasciata sottoforma di fotoni ad una specifica lunghezza d'onda (fascio monocromatico).I fotoni prodotti rimbalzano tra una giunzione e l'altra senza uscire dal dispositivo,stimolando la produzione di altri fotoni alla stessa lunghezza d'onda e ottenendo l'amplificazione del segnale originario. La produzione di luce può anche essere vista come la ricombinazione di vettori elettrici positivi (lacune) e negativi (elettroni).Ciascuna giunzione p-n è progettata in modo tale che elettroni e lacune presentino una moltitudine di stati possibili (bande di energia) con energie differenti. Pertanto, la ricombinazione di elettroni e lacune genera luce in una vasta gamma di frequenze ottiche , cioè la luce a banda larga.

2.2 Interferometria a bassa coerenza

L'interferometria a bassa coerenza è un metodo semplice che può misurare le distanze tra gli oggetti con elevata precisione,misurando la luce riflessa da questi e confrontandola con un fascio luminoso che viaggia su un percorso di riferimento. Un interferometro ottico funziona facendo sovrapporre o interferire le onde elettromagnetiche che compongono due raggi luminosi. Figura 13 mostra lo schema di funzionamento di un interferometro semplice di tipo Michelson. Un'onda luminosa incide su uno specchio semiriflettente o beamsplitter, che separa in due parti il fascio emesso:una parte funge da riferimento,l'altra da raggio di misurazione o raggio di segnale.I raggi percorrono determinate distanze nei due bracci dell'interferometro, chiamate percorsi ottici.Il raggio di misurazione è

riflesso o diffuso dal tessuto ed è rappresentato dal segnale E_{sig} , mentre quello riflesso dallo specchio di riferimento è rappresentato dal segnale E_{ref} . I due raggi si combinano, generando un'interferenza in corrispondenza dello specchio semiriflettente. In uscita dall'interferometro si avrà quindi il segnale

$$E_{out} = E_{sig} + E_{ref}$$

L'intensità dell'emissione luminosa verrà rilevata da un fotorivelatore.

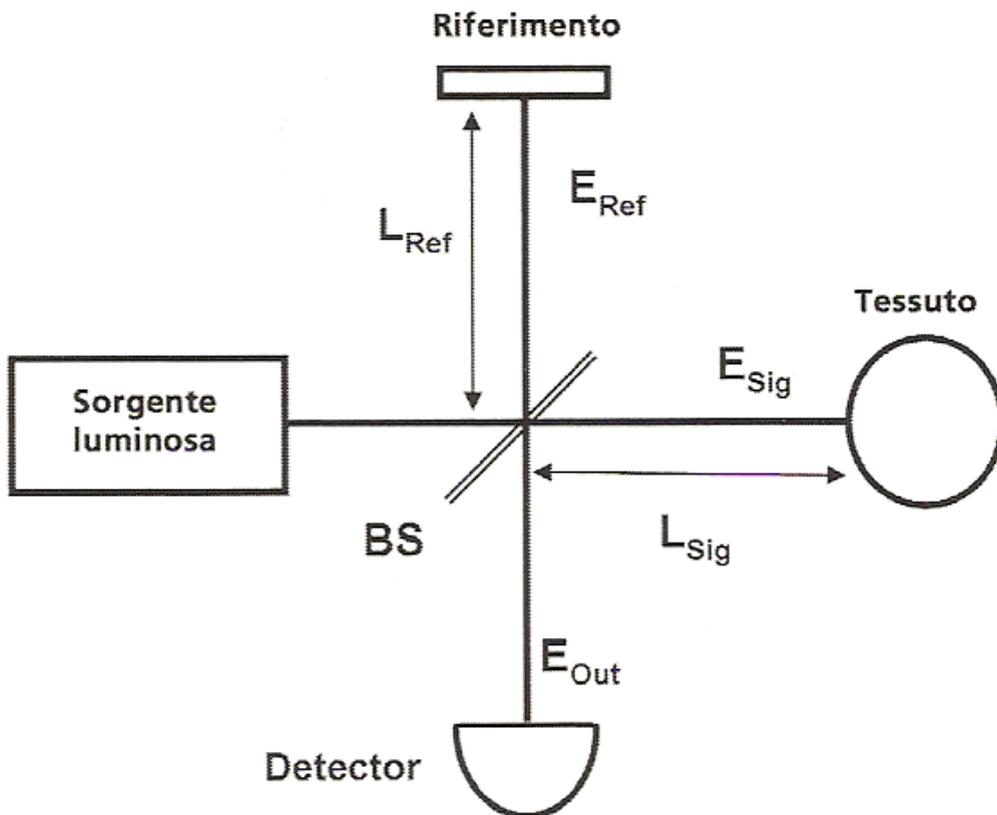


figura 13-schema base di un interferometro di tipo Michelson

L'equazione 1 fornisce l'intensità di emissione in funzione di E_{sig} , E_{ref} e della differenza tra le traiettorie di segnale e di riferimento ΔL :

$$I_{out}(t) \approx (1/4) |E_{ref}|^2 + (1/4) |E_{sig}|^2 + (1/2) E_{ref} E_{sig} \cos[2(\frac{2\pi}{\lambda}) \Delta L], \text{dove}$$

l'ultimo termine è quello di interferenza.

Da questa equazione si vede che se $\Delta L \approx 0$ si genera un'interferenza totalmente distruttiva o costruttiva delle onde di segnale e del riferimento all'oscillare dello specchio di riferimento; si ha infatti $E_{sig} \approx E_{ref}$ e $I_{out} \approx E^2$.

Quindi, per una specifica posizione dello specchio di riferimento sarà possibile rilevare un segnale di interferenza, generato ad una profondità corrispondente. Facendo variare la posizione dello specchio di riferimento all'interno di un range predefinito, corrispondente all'estensione della regione da indagare, sarà quindi possibile rilevare le interferenze ottiche provenienti dai vari tessuti a differenti profondità. La relazione tra la variazione di lunghezza dei due percorsi ottici e la lunghezza di coerenza Δz è mostrata in figura 14.

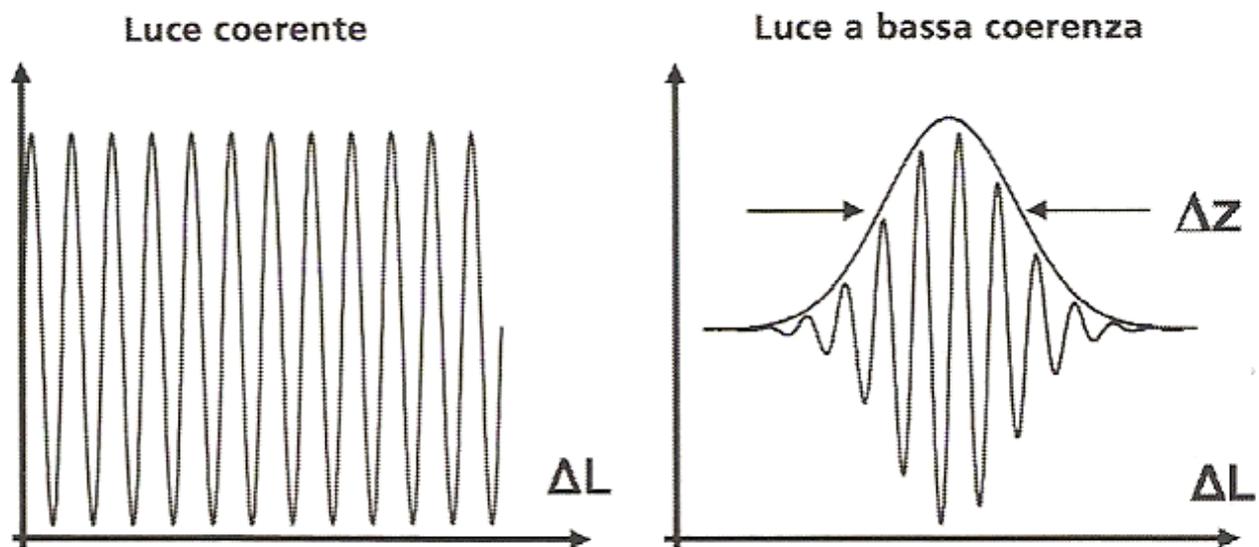


figura 14-rappresentazione di luce ad elevata coerenza (a sinistra) ed una a bassa coerenza (a destra). Si nota come il segnale a bassa coerenza sia costituito da un insieme di lunghezze d'onda e non da una sola, come nel caso del segnale sinusoidale (luce ad elevata coerenza).

Come accennato in precedenza, affinché tale metodo di rilevazione degli echi ottici risulti efficace, è necessario che la sorgente emetta luce a bassa coerenza. In questa maniera si rileverà un'interferenza soltanto quando la differenza di ritardo temporale tra l'eco retrodiffuso dal tessuto e quello del riferimento sarà minore del tempo di coerenza della sorgente di luce. Quindi l'errore introdotto dalla misurazione della distanza sarà pari alla lunghezza di coerenza.

2.3 Sensibilità

Per la produzione di immagini delle strutture oculari, è richiesta un'alta sensibilità, poiché la retina è praticamente trasparente e l'intensità degli echi luminosi prodotti dai tessuti è molto bassa. Per i tessuti otticamente più riflettenti, la sensibilità determina la profondità esplorabile in un tessuto, poiché la luce incidente è attenuata dall'assorbimento e dalla dispersione nei tessuti.

Come accennato in precedenza, grazie all'interferometria è possibile raccogliere dati relativi anche a segnali retrodiffusi molto deboli. Questo lo si può ricavare dall'equazione 1, dove l'intervallo di interferenza del segnale è proporzionale a

$E_{sig} E_{ref}$. Questo è il prodotto del campo del segnale associato al tessuto, moltiplicato per quello del riferimento.

Il segnale derivante dal tessuto E_{sig} può essere debole, ma viene moltiplicato per il campo elettrico forte E_{ref} , aumentando così la grandezza del termine di interferenza oscillatoria che viene misurato dal rivelatore.

La specifica sulla sensibilità è rappresentata dal rapporto segnale-rumore (SNR). In generale l'SNR per un segnale rilevato, è dato da:

$$SNR = 10 \log(\eta P / 2 h \nu N E B), \text{ dove}$$

η è l'efficienza quantica del rivelatore, $2h\nu$ è l'energia fotonica, P è la potenza del segnale rilevato e NEB è l'ampiezza di banda equivalente del rumore del sistema di rilevamento.

La sensibilità di un OCT è direttamente proporzionale alla potenza ed inversamente proporzionale all'ampiezza di banda del rumore. Acquisire immagini più rapidamente o con risoluzione maggiore richiederà una maggiore ampiezza di banda. Si verifica perciò una relazione inversa tra le prestazioni ed il rapporto segnale rumore, per la quale è necessario trovare un giusto trade-off.

Tipici valori dell'SNR di OCT attuali sono 95 dB; significa che il sistema è sensibile ad un segnale con intensità riflessa o retrodiffusa fino a 95 dB più piccole del segnale incidente.

2.4 Risoluzione spaziale

Per quanto riguarda la risoluzione possiamo distinguere quella assiale e quella trasversale.

Le prima rappresenta la precisione con cui può essere misurata una distanza, ed è inversamente proporzionale all'ampiezza di banda della lunghezza d'onda della fonte luminosa ($\Delta\lambda$), come dimostra la seguente formula che definisce la risoluzione assiale:

$$\Delta z = \left(\frac{2 \ln 2}{\pi} \right) \left(\frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} \right)$$

Di conseguenza la risoluzione assiale è strettamente collegata alla lunghezza di coerenza della fonte luminosa che, come si è già visto, è in relazione di proporzionalità inversa con l'ampiezza di banda.

Tipicamente per l'OCT si utilizzano onde luminose con lunghezza d'onda di 840-880 nm (prossime all'infrarosso) e un'ampiezza di banda della lunghezza d'onda di 40 nm. Tenendo conto di un mezzo di propagazione diverso dall'aria ne consegue una risoluzione assiale pari circa a 5 μm .

E' inoltre necessario specificare che esistono due tipologie di risoluzione assiale: ottica e digitale. La prima è ottenuta valutando le prestazioni del sistema ottico di lenti utilizzato per produrre l'immagine, mentre la seconda è ottenuta attraverso ricostruzione digitale basata su diverse scansioni laser effettuate sul tessuto in esame e poi sovrapposte, mediando i risultati ottenuti.

Approssimativamente si può dire che la risoluzione digitale è numericamente metà di quella ottica.

La risoluzione trasversale, invece, deriva dai principi della microscopia ottica convenzionale e corrisponde all'ampiezza dello *spot* luminoso (Δx) risultante dalla focalizzazione del raggio esplorante:

$$\Delta x = \left(\frac{4\lambda}{\pi} \right) \left(\frac{f}{d} \right), \text{ dove}$$

con f/d è indicato il rapporto tra la lunghezza focale della lente e con d il diametro del raggio ottico incidente.

Quindi la larghezza dello *spot* può essere regolata facendo variare opportunamente il diametro del raggio e la lunghezza focale, come mostra figura 15.

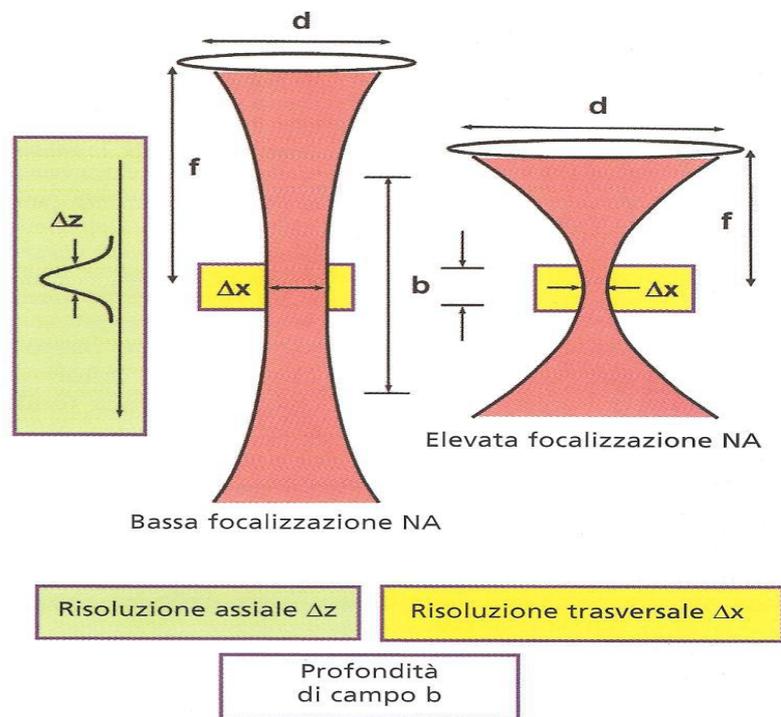


figura 15-Risoluzione di immagine nella OCT. La risoluzione trasversale Δx è determinata dal diametro trasversale dello spot luminoso. La risoluzione assiale o longitudinale Δz è data dalla lunghezza di coerenza della sorgente luminosa.

Esiste inoltre un parametro confocale b , che determina la profondità di campo:

$$b = \frac{\pi(\Delta x^2)}{2\lambda}$$

Minore è l'ampiezza dello spot luminoso (maggiore risoluzione trasversale), più ridotta ne risulta la profondità del fuoco.

Generalmente nelle applicazioni OCT è preferibile avere una grande profondità di campo (maggiore della lunghezza di coerenza) a discapito del grado di focalizzazione, garantendo comunque un'elevata risoluzione assiale.

In campo oftalmico, ad esempio per la retina, valori tipici del diametro dello *spot* sono attorno a 15-20 μm .

2.5 Densità dei pixel e tempo di acquisizione dell'immagine

Da notare che la risoluzione spaziale di uno strumento OCT è differente dalla grandezza e dalla densità dei pixel che costituiscono l'immagine prodotta. L'immagine deve avere una sufficiente densità di pixel al fine di riuscire a visualizzare piccole caratteristiche con una data risoluzione.

Figura 16 mostra una descrizione schematica della densità e della grandezza dei pixel nelle direzioni assiale e trasversale.

Il numero di pixel nella direzione trasversale è dato dal numero di scansioni assiali eseguite; dati N_x pixel trasversali ed una lunghezza di scansione L_x ogni pixel avrà una larghezza L_x/N_x . Per sfruttare appieno la risoluzione dello strumento occorre che tale dimensione sia inferiore alla risoluzione trasversale.

La misura in profondità di un pixel è invece legata alla velocità di acquisizione dell'immagine ad opera del sistema di conversione analogico/digitale; dati N_z pixel assiali ed una profondità assiale L_z ogni pixel avrà una profondità pari a L_z/N_z . Avere un tempo di acquisizione rapido è importante per le applicazioni cliniche, in quanto riduce la possibilità di acquisire immagini ricche di artefatti da movimento dell'occhio e di ridurre il tempo di esame per il paziente.

Il tempo di acquisizione è strettamente legato alla sensibilità della misurazione; aumentando la rapidità di acquisizione di un'immagine si provoca una forte diminuzione dell'SNR, a causa dell'aumento dell'ampiezza di banda di rivelazione del rumore (indicata con NEB nell'equazione 1).

La performance potrebbe essere migliorata aumentando la potenza del segnale rilevato P ; tuttavia esistono norme che fissano dei limiti di potenza ed esposizione del paziente a luce laser. E' quindi necessario trovare un giusto compromesso tra la qualità dell'immagine ottenuta e l'intensità luminosa incidente sicura per il paziente.

Il tempo di acquisizione aumenta anche all'aumentare del numero dei pixel trasversali. Se uno strumento OCT effettua misure di profondità con N_x scansioni assiali ad una frequenza R , avremo un tempo di acquisizione $T = \frac{N_x}{R}$.

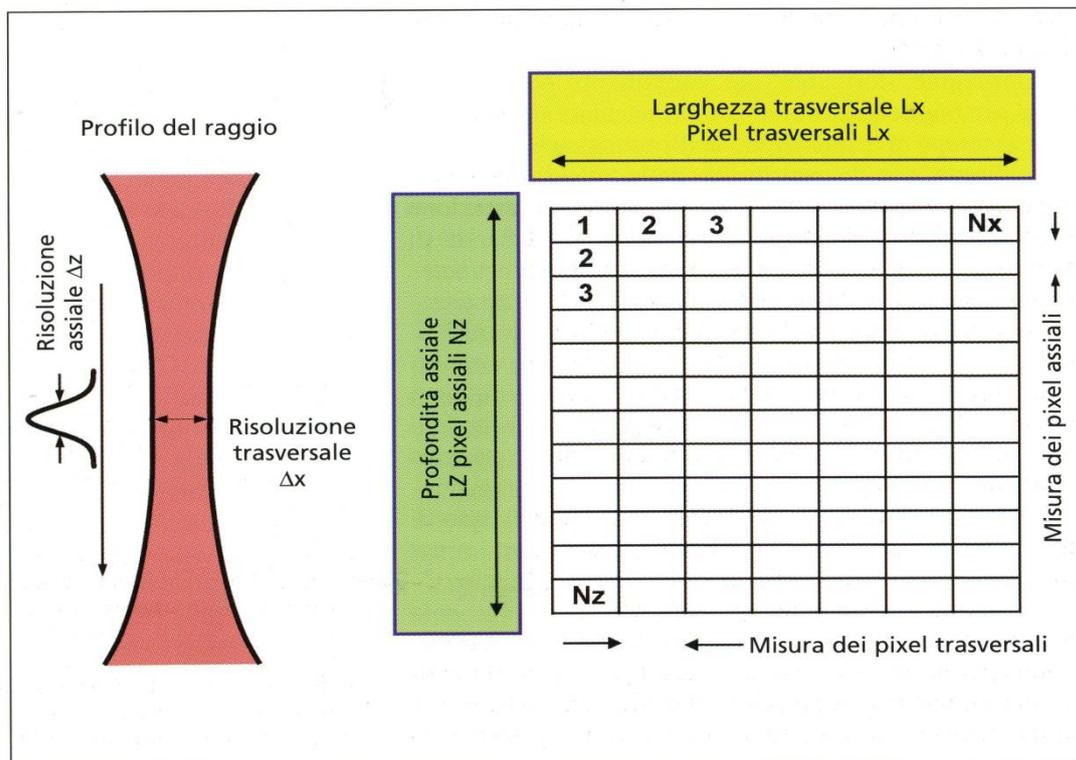


figura 16-Risoluzione di immagine e densità dei pixel. Il numero e la misura dei pixel in direzione trasversale sono determinati dal numero di scansioni assiali. Il numero dei pixel in direzione assiale è determinato dalla velocità di acquisizione dei dati al computer

I dispositivi OCT commercializzati oggi posseggono una frequenza di decine di migliaia di scansioni assiali per secondo, consentendo l'acquisizione di immagini ad elevata densità di pixel in un tempo brevissimo. Se ad esempio si vuole ricostruire un'immagine di 1024 pixel trasversali, sarà necessario un tempo T di alcune decine di millisecondi.

2.6 Modalità di produzione dell'immagine

Come nell'ecografia, con l'OCT si possono ottenere tre diversi tipi di immagini definite A-scan, B-scan, e C-scan. I tracciati A-scan, o monodimensionali, analizzano la riflettività delle strutture e la loro profondità lungo un singolo raggio luminoso.

In OCT sono utilizzate molto di rado, soprattutto per misurare con precisione la lunghezza dell'occhio.

I tracciati B-scan, o bidimensionali, vengono ottenuti affiancando circa 1600 scansioni A-scan, eseguite lungo una linea di circa 6 mm di lunghezza in senso

trasversale. Sono le rappresentazioni più frequentemente utilizzate in oculistica; sono inoltre immagini molto simili alle sezioni istologiche (i preparati utilizzati per gli esami microscopici tradizionali) dei tessuti. Consentono di valutare la struttura interna dei tessuti, e di eseguire misure degli spessori.

I tracciati C-scan, o tridimensionali, vengono ottenuti affiancando 265 scansioni B-scan orizzontali.

Consentono di apprezzare rigonfiamenti retinici, i loro rapporti con la topografia retinica, ed eventuali deformazioni della superficie retinica.

Indipendentemente da quale metodo di campionamento venga utilizzato, il risultato dell'insieme dei dati raccolti è essenzialmente un array o un campo scalare di valori di riflettanza. Per questo i valori ottenuti in uscita tramite scansione sono digitalizzati.

I processi di elaborazione e visualizzazione sono analoghi ad altre tecniche di imaging medico come TC ed RMN.

2.6.1 Singola A-scan

Nel caso di una singola A-scan la visualizzazione è banale: i dati per ogni punto possono essere rappresentati in un grafico tempo-ampiezza (fig.17).

Finché l'informazione è solo lungo una sola direzione, nessuna informazione può essere perduta e i modelli o i cambiamenti significativi possono essere facilmente individuati.

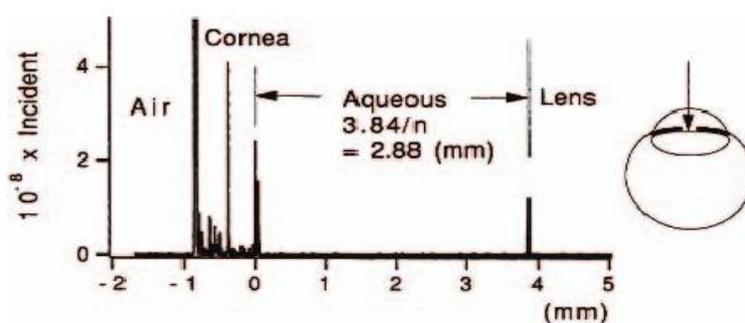


figura 17-rappresentazione in A-mode dell'intensità del segnale retro diffuso in funzione della distanza

2.6.2 B-scan

Per più A-scan affiancate, ancora non risulta difficile visualizzare il data set. Come suggerisce il nome, trattando la profondità e la posizione della scansione lungo le coordinate x e y in un'immagine e visualizzando la riflettanza acquisita dai tessuti in una scala di grigi, si riesce già ad avere una visualizzazione più intuitiva, in cui ogni colonna rappresenta una singola A-scan.

Spesso per permettere un migliore contrasto tra valori differenti e quindi, rendere più chiaramente visibili le differenze, si alternano alla rappresentazione in chiaro-scuro mappe a colori.

Un esempio di B-scan è rappresentata in figura 18.

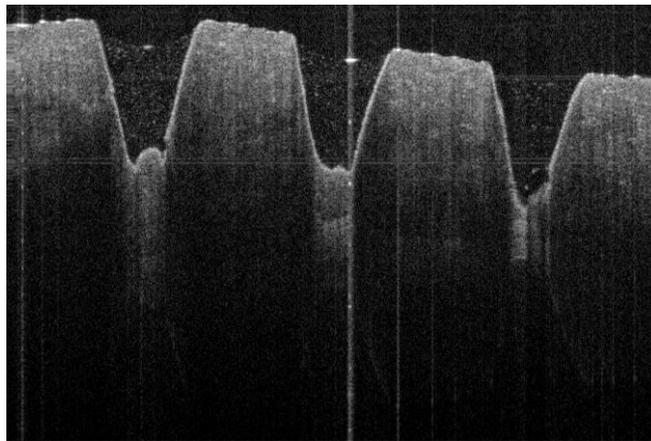


figura 18-immagine OCT B-scan del corpo ciliato

2.6.3 C-scan o 3D -OCT

Nel 3D-OCT, la visualizzazione è molto più complessa. E' possibile rappresentare i dati acquisiti come un insieme di voxel colorati in funzione dei valori retrodiffusi acquisiti, affiancando più B-scan l'una all'altra in uno spazio tridimensionale.

Questo processo spesso porta ad ottenere immagini poco chiare; per la ricostruzione sono quindi utilizzate tecniche impiegate in altre metodologie di imaging.

Un metodo possibile è semplicemente visualizzare sezioni lungo un asse e permettere all'operatore di scegliere la profondità alla quale le si vogliono combinare, o permettere all'operatore di scegliere un altro piano di sezione (fig.19).

Un'alternativa è mostrare una sezione di immagine per tutti e tre i piani che passano per un dato punto, e visualizzarli per ottenere l'immagine di una sezione 3D del campione. Oppure utilizzare una qualche altra tecnica di modellazione dei dati tridimensionali, come considerarli un'isosuperficie di profondità regolabile (figura 20).

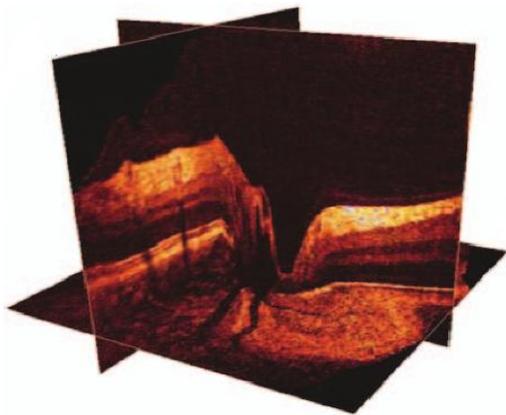


figura 19-cross section 3D OCT



figura 20-isosuperficie di profondità regolabile

3 LA NUOVA TECNOLOGIA

FREQUENCY-DOMAIN

In questa sezione viene descritto il percorso effettuato per passare dalla tecnologia OCT di analisi dell'interferenza nel dominio dei tempi a quella nel dominio di Fourier, descrivendo i vantaggi portati dalla nuova tecnologia sulle immagini prodotte.

Come detto in precedenza, il modo con cui si riesce a rilevare l'intensità degli echi luminosi retrodiffusi è utilizzare un interferometro. A partire da una sorgente luminosa a banda larga viene prodotto un raggio, che viene separato in due da uno specchio semiriflettente. Una parte si dirige verso il tessuto, mentre l'altra va verso uno specchio di riferimento. I tessuti dal campione esaminato producono echi luminosi retrodiffusi che si combinano con il fascio luminoso di riferimento riflesso dallo specchio di riferimento.

L'intensità del segnale in uscita viene rilevata da un fotorivelatore. Questo è il tipico funzionamento di un TD OCT (Time Domain OCT).

3.1 Time Domain Oct

In un TD OCT (figura 21) lo specchio di riferimento oscilla tra un minimo e un massimo per permettere di acquisire tutti gli echi alle varie profondità del tessuto; infatti come detto in precedenza si verifica un'interferenza solo se la distanza da cui proviene l'eco retrodiffuso è la stessa alla quale si trova lo specchio di riferimento rispetto al BS (beamsplitter).

Definendo con lc la lunghezza di coerenza della sorgente, con $xdepth$ la massima escursione dello specchio di riferimento e con T il tempo totale di scansione per ottenere una B-scan, si può definire con $(lc/xdepth)T$ la durata dell'acquisizione di un segnale di interferenza. Nonostante il fotorivelatore collezioni i fotoni retrodiffusi dall'interfaccia di interesse per l'intera durata dell'acquisizione, T , lo schema di rilevazione è selettivamente attivo solamente per quei fotoni che appartengono all'interferenza che sta rilevando. Si ha quindi un'inevitabile perdita di informazione e diminuzione del rapporto segnale-rumore.

Numericamente è possibile determinare la sensibilità di un TD OCT calcolando il numero dei fotoni del segnale utile e comparandolo con quelli provenienti al di fuori del piano focale.

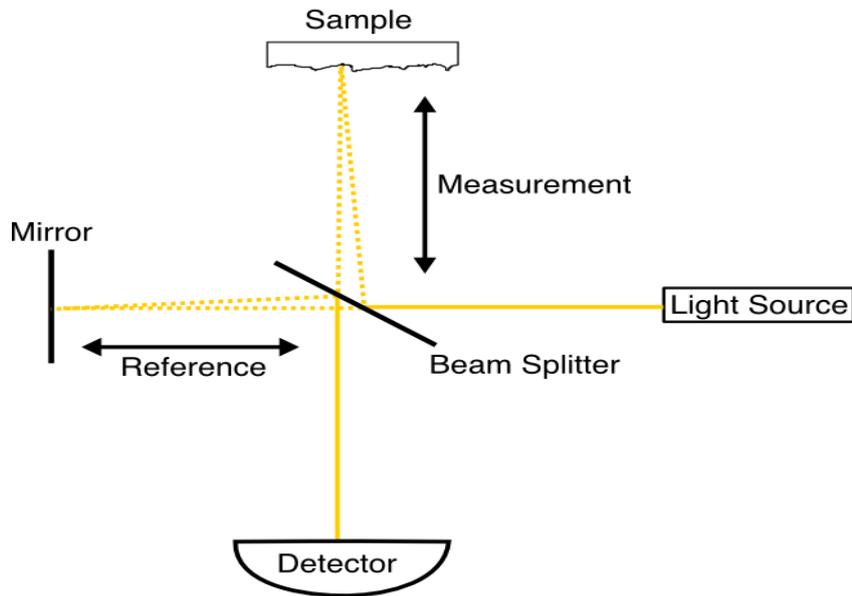


figura 21-schema di funzionamento di un TD OCT. Il fascio di luce sorgente viene diviso in due componenti, di cui una va verso lo specchio di riferimento ed una verso il tessuto. Il fascio ricombinato è rilevato da un fotorivelatore (detector).

Il numero totale dei fotoni del segnale utile sono dati da

$$\text{Signal}_{TD OCT} = 2\sqrt{P_{sig} P_{ref}} \frac{lcT}{x_{depth}} \frac{\epsilon}{h\nu}, \text{dove}$$

P_{ref} e P_{sig} sono la potenza del segnale di riferimento e del tessuto in esame, ϵ è l'efficienza quantica e $h\nu$ è l'energia fotonica.

Il segnale rumore è dato dalla radice quadrata dei fotoni totali rilevati dallo strumento:

$$\text{Noise}_{TD OCT} = \sqrt{P_{ref} \frac{lcT}{x_{depth}} \frac{\epsilon}{h\nu}}$$

Come detto in precedenza la specifica sulla sensibilità è rappresentata dall' SRN dato da:

$$SNR_{TDOCT} = 10 \log \left(\frac{Signal_{TDOCT}}{Noise_{TDOCT}} \right)^2 = 10 \log \left(4P_{sig} \frac{lcT}{x_{depth}} \frac{\varepsilon}{h\nu} \right) (dB)$$

3.2 Fourier Domain Oct

Un sistema in grado di fare un pieno uso dei fotoni relativi al segnale utile durante l'intero tempo di acquisizione, è il Fourier Domain OCT (FD OCT).

Un tipico sistema Spectral (SD OCT) è molto simile ad un TD OCT. Il movimento dello specchio di riferimento è eliminato ed il fotorivelatore viene sostituito con uno spettrometro, che registra le variazioni spettrali del segnale rilevato.

La trasformata di Fourier, applicata nella forma inversa allo spettro acquisito, permette di ottenere un profilo di scansione lineare molto simile ad un TD OCT.

In questo caso il numero totale dei fotoni del segnale utile è dato da

$$Signal_{SDOCT} = 2\sqrt{P_{sig} P_{ref} T} \frac{\varepsilon}{h\nu}$$

Mentre il numero dei fotoni rumorosi è sempre dato dalla radice quadrata dei fotoni totali del segnale retrodiffuso:

$$Noise_{SDOCT} = \sqrt{P_{ref} T} \frac{\varepsilon}{h\nu}$$

Di conseguenza si ottiene un SNR di:

$$SNR_{SDOCT} = 10 \log \left(\frac{Signal_{SDOCT}}{Noise_{SDOCT}} \right)^2 = 10 \log \left(4P_{sig} T \frac{\varepsilon}{h\nu} \right) (dB)$$

La profondità di scansione X_{depth} , si traduce per un SDOCT, nel range delle oscillazioni spettrali, in frequenza, che lo spettrometro è in grado di rilevare. Per

uno spettrometro con N pixel, la maggiore oscillazione periodica spettrale che è in grado di rilevare è pari a $N/2$. Oltre questo valore, le oscillazioni portano in saturazione lo strumento e generano aliasing. Usando questo criterio si può vedere che:

$$\Delta k 2x_{depth} = \left(\frac{N}{2}\right)2\pi \longrightarrow x_{depth} = \frac{N\pi}{2\Delta k} = \left(\frac{N}{2}\right)lc, \text{ con } lc = \frac{\pi}{\Delta k}$$

Ora è possibile stabilire un confronto tra un SD OCT ed un TD OCT. Dato un sistema Spectral a N pixel con una profondità di scansione

$x_{depth} = \left(\frac{N}{2}\right)lc$, un'acquisizione tramite TD OCT della stessa durata temporale avrà un

SNR pari a:

$$SNR_{TD OCT} = 10\log\left(4P_{sig}\left(\frac{2}{N}\right)T \frac{\varepsilon}{h\nu}\right) = SNR_{SD OCT} - 10\log\left(\frac{N}{2}\right)$$

Da tale equazione si vede chiaramente che un sistema SD OCT è intrinsecamente più sensibile di un TD OCT di un fattore $N/2$. Questo miglioramento è dovuto al fatto che un SD OCT è capace di collezionare segnali del campione provenienti da tutte le profondità, per l'intera durata del tempo di acquisizione.

I vantaggi principali introdotti dall'utilizzo di questa nuova tecnologia sono stati

- Un aumento della frequenza di scansioni assiali
- Un aumento della sensibilità di rilevazione
- La riduzione dei tempi di acquisizione delle immagini
- La riduzione di artefatti da movimento ottico a circa 1/30 rispetto ad un TD
- ripetere più volte la stessa scansione, per eseguire la sommatoria dei valori misurati in ogni punto esaminato, ed ottenere delle immagini con miglioramento del rapporto segnale rumore
- eseguire molte scansioni B-scan affiancate per ottenere una ricostruzione tridimensionale dei tessuti (C-scan) ed esaminarli anche per strati (scansioni en-face) dalla superficie verso la profondità

In figura 22 è mostrata la differenza nell'interpretazione diagnostica di un'immagine relativa allo stesso paziente prodotta con un TD OCT (A) e con un SD OCT(B).In entrambe le immagini è visibile un accumulo di liquido intraretinico,che nel TD si miscela al rumore di fondo,mentre nell'SD OCT è chiaramente distinguibile tra i vari strati. Le frecce bianche indicano le aree di liquido, e gli asterischi neri indicano la membrana neovascolare coroideale.

Spesso la risoluzione assiale risulta il parametro più utilizzato in fase di commercializzazione per esibire le prestazioni di un OCT. L'evoluzione ha portato ad un continuo aumento della larghezza di banda della sorgente,ovvero di una minore lunghezza di coerenza,che significa migliore risoluzione assiale. In un sistema TD OCT,aumentare la larghezza di banda della sorgente,significa ridurre l'SNR,in quanto viene incrementata anche l'ampiezza della banda relativa al rumore. Per mantenere lo stesso SNR sarebbe necessario diminuire la frequenza delle scansioni assiali o il range di profondità di scansione (peggiorativo dal punto di vista tecnologico),o incrementare l'intensità dell'illuminazione sul campione(una maggiore potenza del fascio incidente significa esporre il paziente a rischio maggiore).Per questi motivi,un recente aumento,attraverso la tecnologia Fourier Domain,della frequenza degli A-scan/s e l'aver ottenuto più ampi range di scansione di profondità,ha reso superati gli OCT Time Domain.

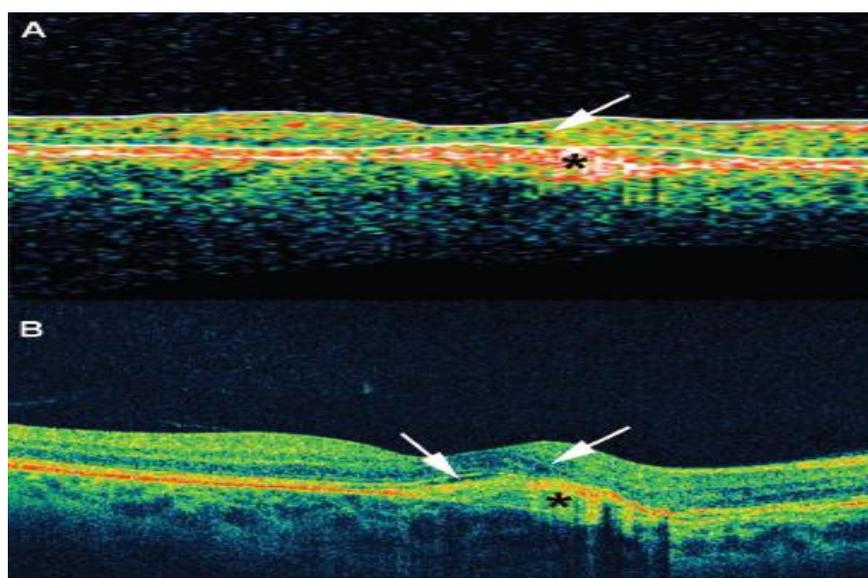


figura 22-immagine OCT ottenuta con tecnologia Time Domain (in alto) e Spectral Domain (in basso)

3.3 Spectral Oct e Swept Source Oct

Ci sono due modi differenti per implementare un FD OCT: Spectral Domain OCT oppure Swept Source OCT.

Un SD OCT (fig.23) è molto simile ad un TD OCT se non altro per l'immobilità dello specchio di riferimento e della presenza di uno spettrometro a bassa perdita al posto del fotorivelatore. Lo spettrometro al suo interno è costituito da una schiera lineare di elementi sensibili alla luce (CCD o CMOS); non appena questi vengono investiti dal fascio ricombinato, sono in grado di rilevare le varie interferenze sul segnale luminoso incidente in base alla loro lunghezza d'onda λ . Il segnale in ingresso allo spettrometro è di tipo analogico; all'uscita dell'array il segnale è già stato campionato (e quindi convertito in digitale). I dati spettrali sono messi in scala rispetto al dominio dei numeri d'onda e ricampionati prima dell'esecuzione della trasformata di Fourier, eseguita dal software, che permette di ottenere una rappresentazione in A-mode dell'intensità degli echi retrodiffusi. Un'elevata risoluzione spaziale, parametro altamente desiderabile, implica l'uso di una sorgente ad ampia larghezza di banda (o piccola lunghezza di coerenza). Questo implica che, per ottenere un'elevato dettaglio, sarà richiesto un elevato numero di pixel, N , dell'array lineare. Nella pratica ciò si ottiene riducendo la dimensione dei pixel ed aumentando il loro numero; di conseguenza si ottiene un incremento della massima oscillazione rilevabile dallo spettrometro, che significa un più ampio intervallo di scansione.

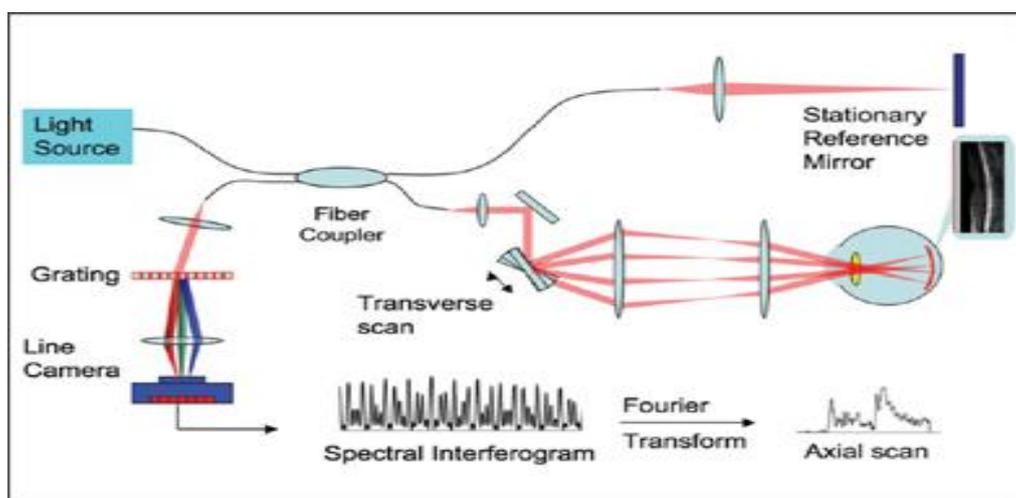


figura 23-schema di un OCT Spectral. Si nota l'immobilizzazione dello specchio di riferimento e la presenza di uno spettrometro a bassa perdita per discriminare le varie interferenze in funzione della lunghezza d'onda.

In un SS OCT(fig.24) l'informazione in frequenza non è estratta come in un SD OCT usando uno spettrometro.Si dispone invece di una sorgente in grado di emettere un fascio laser ad una specifica lunghezza d'onda. L'uscita della sorgente è una funzione $S[k(t)]$ ed è mantenuta lineare. Essa può essere scritta come

$$k(t) = K_0 + \delta k \times t,$$

dove $\delta k = \Delta k / \Delta t$. Δk rappresenta l'ampiezza della banda ottica entro cui può variare il segnale sorgente, mentre Δt è il tempo totale impiegato per fare assumere alla sorgente tutti i valori di lunghezza d'onda nell'intervallo. Idealmente un sistema SS OCT richiederebbe M numeri d'onda equispaziati all'interno dell'intervallo di definizione, del tipo $M \times \delta k = \Delta k$. In questo contesto, il range di scansione è dato da

$$x_{depth} = \frac{M\pi}{2\Delta k} = \frac{\pi}{2\delta k} = \frac{M}{2} l_c$$

Il segnale di interferenza può essere rilevato da un singolo detettore o da una coppia di detettori bilanciati per compensare l'intensità delle fluttuazioni di segnale. Non appena viene acquisita un'interferenza, corrispondente ad una specifica lunghezza d'onda, può essere trasformata secondo Fourier ed ottenere il profilo in A-mode corrispondente.

Uno di vantaggi rispetto ad un SD OCT sta nella possibilità di impiegare intervalli di lunghezza d'onda di 1000-1300 nm; ciò permette la visualizzazione ad alta risoluzione di strutture molto in profondità come la coroide e la sclera, altrimenti poco visibili tramite uno Spectral. Inoltre la linea di scansione OCT risulta invisibile per il paziente, consentendogli di non dirottare l'attenzione dalla mira di fissazione interna dello strumento, riducendo la durata dell'esame.

Con un SS OCT è inoltre possibile raggiungere velocità di scansione molto più elevate (dell'ordine di 80'000-100'000 A-scan/s). Grazie a questa specifica si riesce ad acquisire una B-scan in 0.01 s, invece dei 0.02 s necessari ad uno Spectral; ma la grossa differenza sta nell'acquisizione di immagini 3D, dove allo SS-OCT sono sufficienti 0.9 s contro gli 1.9 s di uno Spectral Domain.

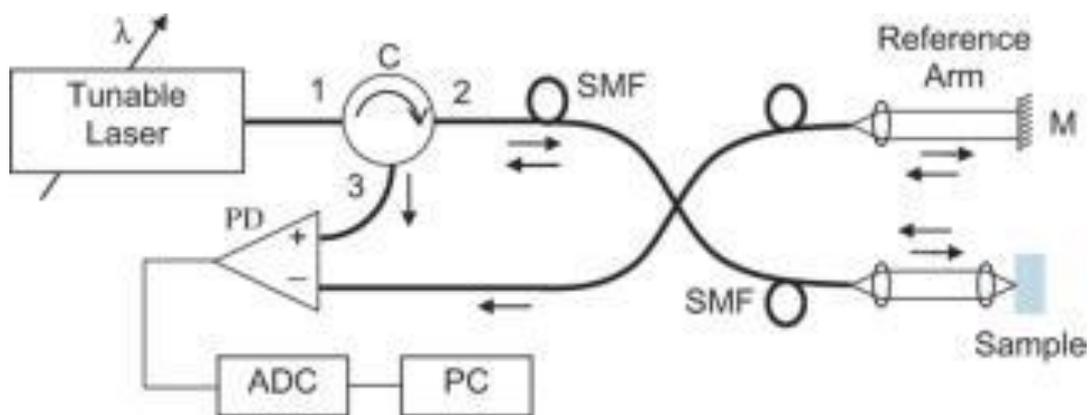


figura 24-rappresentazione schematica di uno Swept Source OCT.Si nota la presenza di una sorgente laser ad emissione di lunghezza d'onda variabile.

Figura 25 mostra la differenza tra le immagini di fovea e disco ottico ottenute attraverso la tecnologia Spectral Domain (a sinistra) e quella Swept Source (a destra).Si nota come l'immagine prodotta dallo SS-OCT permetta una più chiara visione di sclera e coroide,quasi invisibili con lo Spectral.Inoltre,nonostante l'immagine SS-OCT sia stata ottenuta con un minor numero di immagini mediate,l'intera struttura retinica risulta apparire molto più nitida rispetto a quella ottenuta con lo Spectral.

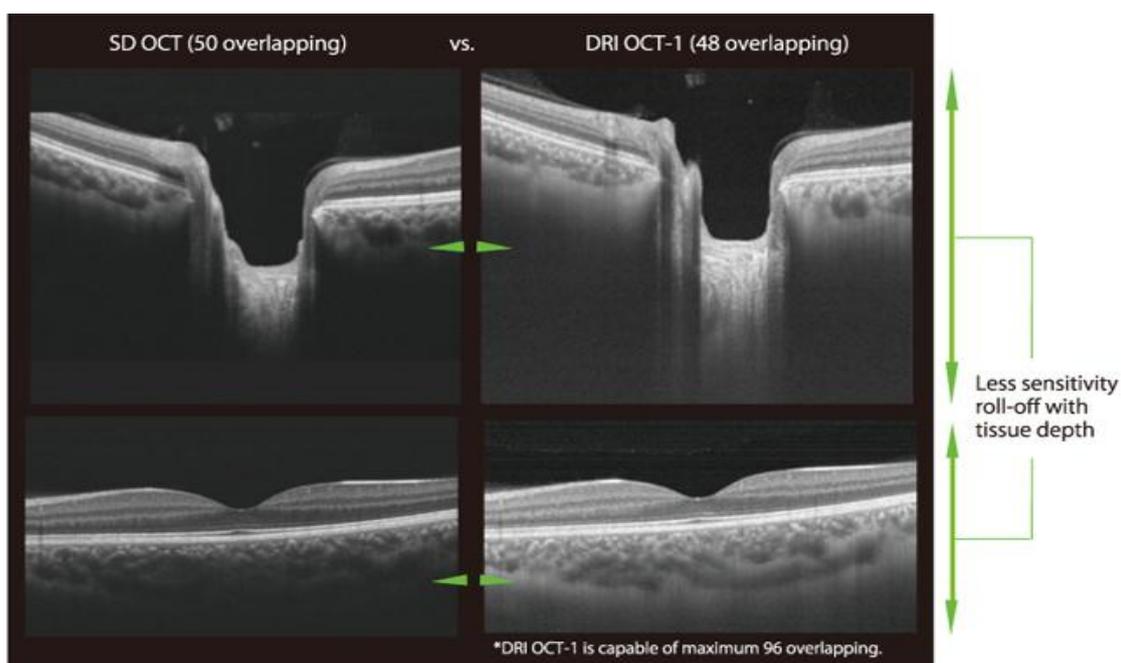


figura 25-confronto tra le immagini di fovea e disco ottico ottenute con la tecnologia SS-OCT (a destra) e SD-OCT (a sinistra).

3.4 Inconvenienti della tecnologia e loro risoluzione

3.4.1 Dispersione

La *dispersione* è un fenomeno che degrada la qualità di un'immagine OCT e diventa elevata nel caso di impiego di sorgenti a banda larga. Il fenomeno consiste nella scomposizione di un'onda elettromagnetica in un fascio di onde monocromatiche, nel momento in cui questa attraversa un corpo, avente uno specifico indice di rifrazione. La velocità con cui si propaga l'onda dipende dalla lunghezza d'onda λ . Siccome ciascuna onda monocromatica possiede una λ differente, tenderà a viaggiare nel tessuto ad una velocità differente. L'effetto netto è l'allargamento dell'impulso sorgente, con conseguente distorsione del segnale e, talvolta, l'impossibilità di rilevare un segnale di interferenza. Questi fattori nel loro insieme producono una riduzione della risoluzione assiale.

Solitamente la dispersione sulla profondità assiale è trascurabile ed è principalmente causata da uno sbilanciamento ottico nei due bracci dell'interferometro. Nel caso di immagini retiniche, la maggior parte della dispersione nasce dal vitreo, che costituisce gran parte della lunghezza dell'occhio. Il metodo correntemente usato per eliminare tale effetto è la compensazione di dispersione. Tale metodo si serve di specchi chirpati, ricoperti da materiale dielettrico; vengono progettati in modo che a diverse lunghezze d'onda generate per dispersione nel materiale corrispondano differenti lunghezze di penetrazione e di conseguenza diversi ritardi di gruppo. Si possono quindi generare strati di copertura aventi ritardi di gruppo tali da compensare quelli prodotti dal mezzo attraversato. Oltre al metodo hardware, esiste anche una correzione della dispersione tramite software.

Un esempio di immagini senza correzione di dispersione (A) e con correzione tramite specchio (B) o software (C) sono presentate in figura 26.

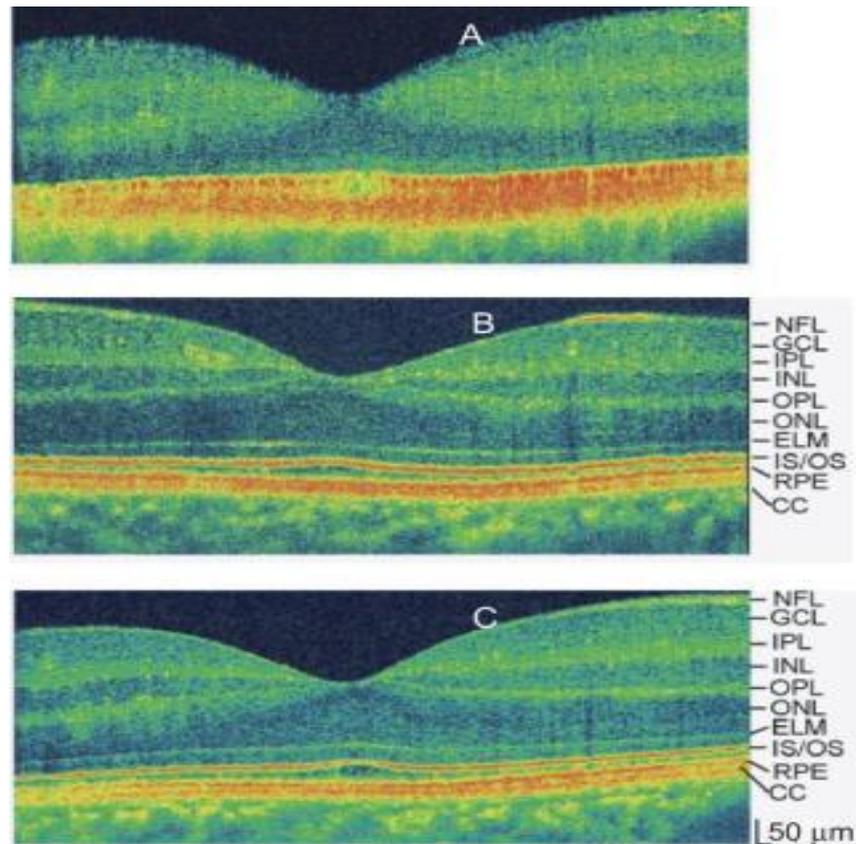


figura 26-rappresentazione di un'immagine OCT Spectral ottenuta senza correzione (A),e con correzione hardware (B) e software (C).

3.4.2 SNR Drop-Off

L'*SNR Drop-Off* è un fenomeno causato dal non perfetto mantenimento della monocromaticità dell'onda durante l'acquisizione del segnale. Nello SS OCT, la larghezza di linea corrispondente ad ogni numero d'onda è così piccola che questo fattore può essere trascurato. L'*SNR Drop-Off* nello SS OCT è principalmente causato dalla non linearità del segnale in uscita dalla sorgente. Solitamente le non linearità non sono cospicue,così la caduta dell'*SNR* non è prominente e può essere ignorata.

Nell'*SD OCT* l'*SNR* non è lo stesso durante l'intero range di scansione;esso aumenta all'aumentare della differenza di lunghezza tra il braccio di riferimento e del campione. L'*SNR Drop-Off* può essere descritto come la convoluzione tra una funzione rect, rappresentante la larghezza finita dei pixel del CCD e del segnale di interferenza nel dominio della frequenza. Nei sistemi *SD OCT* tale effetto può

arrivare fino a 20 dB sul valore medio dell'SNR. Tutto ciò può essere migliorato diminuendo la dimensione dei pixel della camera CCD o muovendo la regione interessata del campione vicino al punto di equidistanza.

3.4.3 Segnale simmetrico

Finchè lo spettro del segnale acquisito è una funzione reale, la sua trasformata di Fourier è simmetrica rispetto al punto di equidistanza. Questo porta a ridurre il contenuto informativo acquisibile sull'intera scansione di dati. Per ovviare a ciò è necessario costruire un segnale complesso, e quindi ricavare informazioni sulla fase del segnale. Un approccio è il metodo *five-frame*, nel quale il segnale complesso è ricostruito prendendo cinque misurazioni consecutive dello spettro con incrementi di fase di $\pi/2$.

4 INTERPRETAZIONE DELLA

TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA

4.1 Proprietà ottiche del tessuto

La luce incidente sul tessuto, un mezzo otticamente rifrangente e torbido, è trasmessa, assorbita o diffusa.

La luce trasmessa rimane inalterata ed è libera di interagire con gli strati tissutali più profondi.

La luce assorbita viene essenzialmente rimossa dal fascio incidente.

L'assorbimento si verifica perché i cromofori tissutali, come l'emoglobina o la melanina, hanno uno spettro di assorbimento simile all'energia della luce incidente. Alle lunghezze d'onda prossime all'infrarosso usate nella diagnostica OCT, la maggior parte della luce assorbita produce solo effetti termici, al contrario della luce visibile che produce effetti fitochimici. Tuttavia, poiché le potenze del fascio incidente sono molto basse, diviene trascurabile l'effetto di surriscaldamento del tessuto prodotto.

La diffusione ottica è una proprietà dei mezzi omogenei e non si verifica quando sono presenti zone aventi indice di rifrazione differente all'interno di un tessuto.

La diffusione comporta che la luce incidente sia proiettata in direzioni multiple.

La luce che inverte completamente il suo percorso di andata è detta retrodiffusa.

Nei tessuti che assorbono fortemente o che diffondono, l'intensità del fascio incidente decresce esponenzialmente con la profondità, ad un tasso che dipende dai relativi coefficienti di assorbimento e diffusione.

Come detto in precedenza la OCT permette di rivelare le varie stratificazioni in tessuti apparentemente trasparenti, per il loro esiguo spessore, come la retina.

Quando un fascio di luce incide su un tessuto, è dapprima attenuato

dall'assorbimento e dalla diffusione, mentre si propaga nel tessuto stesso. Poi la luce è retrodiffusa a livello delle strutture a differente profondità. In ultimo, la

luce è ulteriormente attenuata dall'assorbimento e dallo scattering nel percorso di ritorno, prima di essere rivelata dallo strumento OCT.

Al fine di eliminare la luce diffusa non voluta si utilizzano particolari tecniche di focalizzazione del fascio.

Come risultato, l'immagine OCT si può considerare una singola luce retrodiffusa.

La potenza di un segnale OCT proveniente da una particolare struttura tissutale ad una certa profondità dipende dalla luce trasmessa senza essere assorbita o diffusa, dalla percentuale di questa che è direttamente retrodiffusa e dalla frazione di luce direttamente retrodiffusa che ritorna al rilevatore.

Quando si verifica un forte assorbimento, a causa di un'emorragia in un tessuto gli strati più in profondità tendono ad essere oscurati.

4.2 Interpretazione delle immagini di OCT del segmento posteriore normale

4.2.1 Asse papillomaculare

Figura 27 mostra un tomogramma OCT ad ampio campo di una retina normale, incluse la regione maculare e peripapillare.

L'immagine è stata ottenuta con una risoluzione assiale di 10 µm alla lunghezza d'onda di 800 nm. L'immagine si estende per una lunghezza trasversale di 1 mm, evidenziata nell'immagine del fondo dell'occhio.

È chiaramente evidente l'interfaccia vitreoretinica dall'incremento nella retridiffusione tra vitreo e retina interna. La fovea appare come una leggera depressione della retina; in corrispondenza della quale si nota un assottigliamento dello strato delle fibre nervose (NFL) ed un ispessimento dello strato fotorecettoriale. Il disco ottico appare con il caratteristico profilo del nervo ottico.

Il limite posteriore della retina è evidenziato da uno strato altamente riflettente, ovvero il complesso epitelio pigmentato retinico-coriocapillare.

Sopra tale strato si trovano i segmenti interno ed esterno, anch'essi altamente riflettenti. Tali strati si interrompono in corrispondenza del disco ottico, dove si

trova la lamina cribrosa. Posteriormente alla coriocalpillare troviamo la coroide e la sclera, poco messe a fuoco a causa dell'attenuazione del fascio da parte degli strati più superficiali.

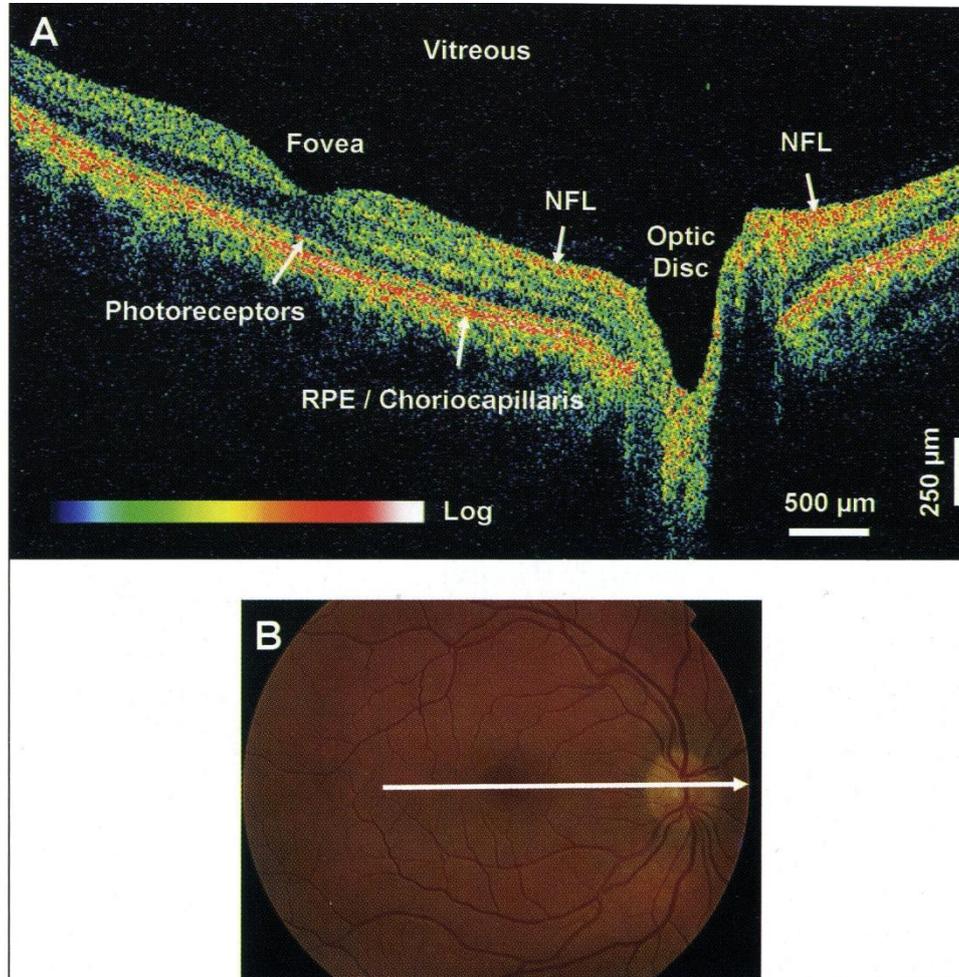


figura 27-immagine OCT di fovea e disco ottico (sopra) associati all'immagine del fondo (sotto).

4.2.2 Microstruttura retinica

La diagnostica OCT permette anche di visualizzare i vari strati che compongono la retina.

Figura 28-A mostra un'immagine OCT della macula normale, di larghezza 6 mm e composta da 512 pixel, mentre la 20-B ne mostra un suo ingrandimento.

La morfologia della microstruttura retinica può essere differenziata e si correla con la ben nota morfologia delle regioni foveale e parafoveale.

La retina può essere descritta in funzione di 10 strati distinti, che includono 4 strati cellulari e 2 di connessione neuronale.

Gli strati delle fibre nervose e plessiforme sono costituiti da strutture assonali otticamente altamente riflettenti ed appaiono rossi nelle immagini in falsi colori. Al contrario gli strati nucleari sono debolmente riflettenti ed appaiono di colore blu-nero.

Il primo strato altamente riflettente, visibile nasalmente è lo strato delle fibre nervose (RNFL). I tre strati debolmente riflettenti sono lo strato delle cellule gangliari (SCG), lo strato nucleare interno (SNI) e lo strato nucleare esterno (SNE).

Lo SCG aumenta di spessore in prossimità della fovea.

Lo strato plessiforme interno (SPI), moderatamente riflettente, è adiacente allo SCG ed allo SNI. Spesse volte gli assoni dei fotorecettori che decorrono obliquamente sono considerati uno strato separato dal SPE, chiamato strato delle fibre di Hanle.

Il confine tra segmento interno (SI) ed esterno (SE) è rappresentato da una sottile banda altamente riflettente, posta immediatamente sopra l'epitelio pigmentato retinico (EPR) e la coroide. Lo spessore degli strati fotorecettoriali SI ed SE aumenta in corrispondenza della fovea, a causa dell'aumento di lunghezza dei coni.

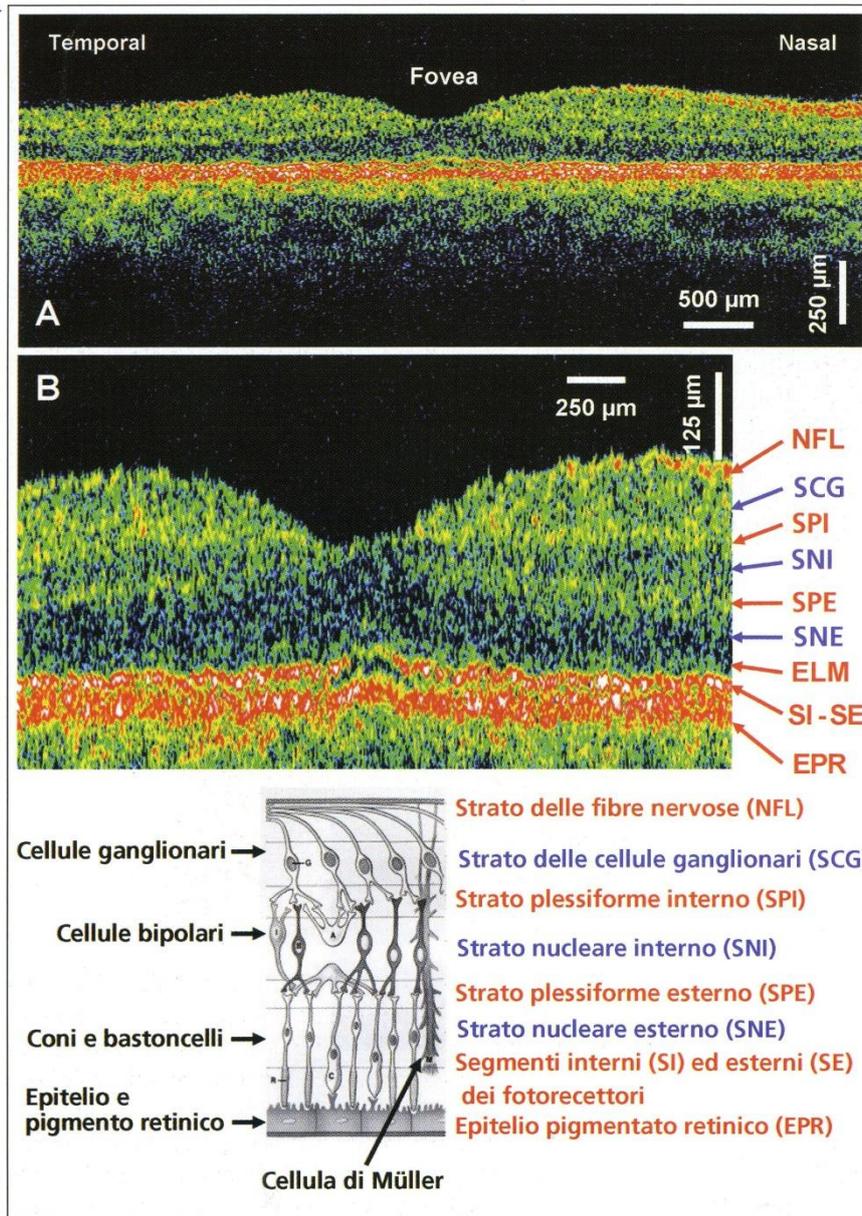


figura 28-rappresentazione dei 10 strati retinici. Viene evidenziato il diverso livello di riflettività del tessuto in scala cromatica dal bianco al blu scuro.

La membrana limitante esterna (ELM) può essere visualizzata come un sottile strato riflettente tra l'SNE e l'SI; essa rappresenta un allineamento tra i fotorecettori e le cellule di Müller.

L'EPR si presenta come uno strato fortemente riflettente e spesso volte risulta visibilmente conglobato alla coriocapillare. La sua funzione primaria è quella di determinare il metabolismo dei fotorecettori, fagocitando i vecchi e rimpiazzandoli con dei nuovi.

Le strutture più in profondità risultano spesso poco visibili, non solo a causa dei limiti dello strumento, ma anche dalla presenza di numerosi vasi sanguigni che, altamente riflettenti, tendono a creare un effetto ombra.

4.2.3 Testa del nervo ottico

Figura 29 mostra un'immagine OCT del disco ottico normale. Il suo contorno è messo in evidenza dall'interfaccia tra vitreo e strato delle fibre nervose. È visibile la normale escavazione del disco.

L'immagine OCT mostra un aumento delle fibre nervose in direzione della rima neuroretinica fino a quasi costituire l'intero spessore retinico. L'intensità del segnale riflesso dalle fibre nervose decresce avvicinandosi al profilo del disco; questo si spiega col fatto che qui le fibre non sono più perpendicolari al fascio incidente, bensì si ripiegano sulla testa del nervo ottico.

Lo strato dei fotorecettori e dell'EPR possono essere utilizzati come punti di repère per definire i margini esterni del disco.

L'acquisizione di immagini OCT del nervo ottico sono utili al fine di diagnosticare, anche precocemente, alcune patologie neuroftalmiche, come il glaucoma.

Per rendere maggiormente evidente lo strato delle fibre nervose anche in corrispondenza della testa del nervo ottico è stato elaborato nel 1995 da Schuman e Hee un protocollo che consisteva nell'eseguire scansioni circumpapillari, creando sezioni cilindriche della retina centrate attorno al disco ottico, in modo che tutti i nervi che fuoriuscissero dalla testa del nervo ottico attraversassero il piano immagine OCT.

Figura 30 mostra due scansioni circumpapillari OCT con diametri di 2,3 e 3,4 mm, centrate sulla testa del nervo ottico.

Si nota come lo spessore dell'NFL vari con la posizione attorno alla testa del nervo ottico; in particolare si nota un suo ispessimento nella regione supero-temporale ed infero-nasale.

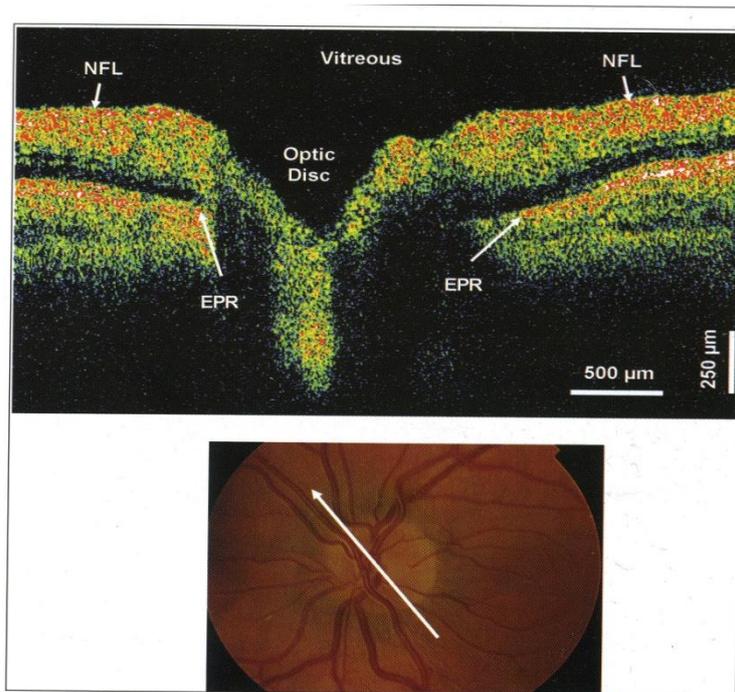


figura 29-immagine OCT del disco ottico normale. Si notano i punti di discontinuità dell'EPR, in corrispondenza della lamina cribrosa. Al tomogramma OCT è associata l'immagine del fondo.

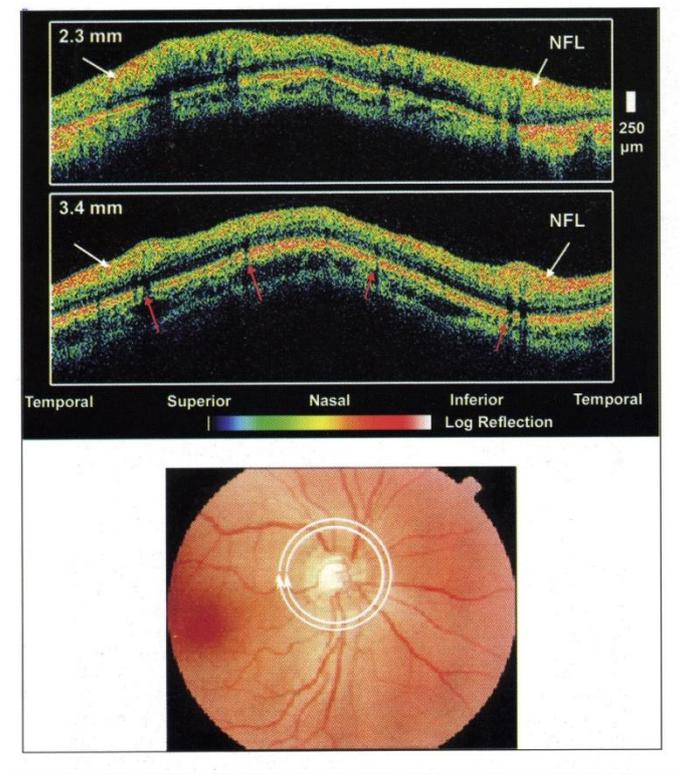


figura 30-scansioni circolari eseguite sulla testa del nervo ottico attraverso due differenti diametri di scansione.

4.3 Interpretazione delle immagini di OCT del segmento anteriore dell'occhio normale

4.3.1 Camera anteriore

Figura 31 mostra un'immagine OCT della camera anteriore dell'occhio normale. L'immagine ha una risoluzione assiale di 15 μm , ad una lunghezza d'onda di 1300 nm. In confronto agli 840-880 nm impiegati nella diagnostica retinica qui è possibile ridurre l'attenuazione dovuta alla diffusione ottica e permettere la visualizzazione di spessori maggiori. Inoltre, data la maggiore lunghezza d'onda, è possibile utilizzare potenze maggiori, a vantaggio della sensibilità dello strumento. Figura 31-A mostra strutture chiaramente distinguibili quali cornea sclera, iride e capsula anteriore del cristallino.

I segnali più forti provengono dalla superficie epiteliale della cornea, dalla sclera e dall'iride; in generale l'intensità dell'eco retrodiffuso decresce dalla parte centrale della cornea verso la periferia.

Il limbus appare come l'interfaccia tra cornea e sclera a livello dell'angolo. Poiché la luce è rifratta o inclinata, quando incide a livello dell'angolo tra due mezzi con differente indice di rifrazione, come aria e cornea, l'immagine OCT della camera anteriore deve essere corretta attraverso un'elaborazione software.

4.3.2 Cornea ed angolo

Attraverso un restringimento del campo di visione è possibile evidenziare con maggiore dettaglio le strutture che compongono il segmento anteriore (fig.31-B). In figura vengono mostrati il profilo dell'iride e l'epitelio, il limbus sclerocorneale, e l'angolo della camera anteriore. Le strutture della regione dell'angolo, come il trabecolato, il corpo ciliare ed il canale di Schlemm, non sono ben visibili poiché la luce che è penetrata viene attenuata dalle strutture sclerali sovrastanti.

Figura 31-C mostra in ingrandimento maggiore della cornea, evidenziando nuovamente la demarcazione tra epitelio e stroma.

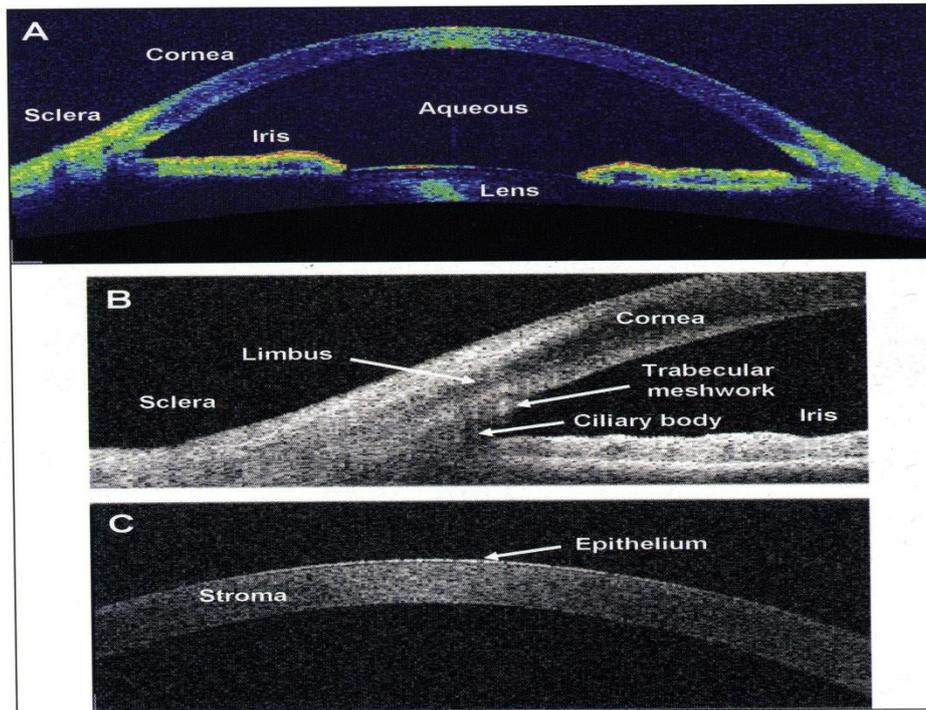


figura 31-immagine OCT del segmento anteriore.Nell'immagine A si nota l'inserzione tra cornea (poco riflettente) e sclera (altamente riflettente),oltre che l'iride ed il cristallino.L'immagine B e C sono state ottenute mediante ingrandimento e visualizzazione in chiaro-scuro,per mettere in evidenza i dettagli.

4.4 Interpretazione delle immagini di OCT delle patologie retiniche

4.4.1 Caratteri generali associati alla patologia

Molte malattie retiniche si manifestano come importanti alterazioni strutturali della normale architettura della retina.Per esempio,le modificazioni nella morfologia della fovea nel foro maculare,nella trazione vitreomaculare e nel distacco di retina, sono spesso indicative di malattia.

L'alterazione del profilo foveale è spesso associato alle membrane epiretiniche e a pseudofori maculari o fori lamellari.L'OCT permette di distinguere i vari stadi di foro maculare,pseudoforo o foro lamellare.Per esempio, i fori lamellari in

formazione possono essere diagnosticati da un ispessimento della fovea, con la formazione di spazi cistici e la disorganizzazione tra retina interna e strato dei fotorecettori.

L'accumulo di liquido intraretinico comporta sia un incremento dello spessore retinico che modificazioni nelle proprietà di diffusione del tessuto. La diffusione può aumentare con l'infiammazione, con infiltrazioni negli strati retinici o nella coroide, in caso di fibrosi, essudati duri o di emorragie. Sia gli essudati duri che le emorragie sono altamente riflettenti e causano effetto ombra sulle strutture retiniche più profonde; basti pensare al normale effetto esercitato dai vasi sanguigni nei vari distretti retinici.

La distinzione tra sangue, liquido sieroso, ed essudati può essere effettuata anche in base alla riflettività. Il liquido sieroso, contenente poche cellule, è praticamente trasparente all'OCT; appare come una regione priva di riflettività, in contrapposizione al sangue che mostra una riflettività maggiore ed un incremento dell'attenuazione del segnale incidente. Gli essudati sottoretinici, opachi tipicamente all'OCT, hanno un aspetto intermedio tra sangue e liquido sieroso. La diminuzione di riflettività può essere causata dall'edema retinico, in cui il liquido accumulato comporta una diminuzione della densità del tessuto e la formazione di cisti.

Le alterazioni della struttura cellulare, come l'ipopigmentazione dell'EPR, possono anche comportare una diminuzione della riflettività.

Le anomalie delle strutture che si interpongono o dei tessuti che precedono la parte da esaminare, come cataratte dense, opacità dei mezzi, astigmatismo, impianti di lenti oculari scarsamente centrate o scarso allineamento dello strumento OCT, causano una diminuzione diffusa nell'intensità dell'immagine a livello di tutti i tessuti.

4.4.2 Fori maculari

L'OCT permette la differenziazione tra foro maculare e foro lamellare o pseudoforo.

Figura 32-A mostra l'immagine OCT di un foro maculare a tutto spessore. Il foro maculare a tutto spessore è caratterizzato dalla perdita del normale profilo foveale

e dall'alterazione della normale organizzazione retinica che interessa l'intero spessore della retina.

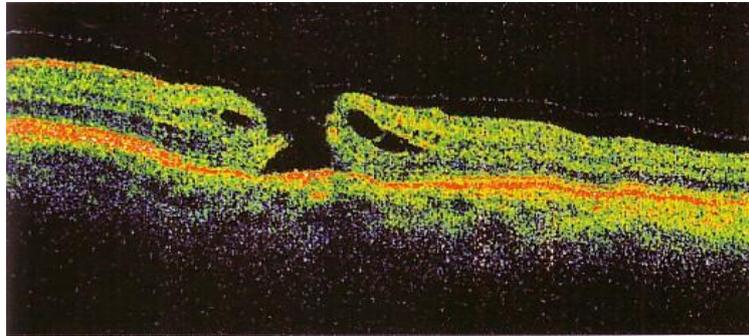


figura 32-A-foro maculare a tutto spessore

Si possono osservare edema intraretinico e modificazioni cistiche adiacenti al foro. L'EPR risulta intatto alla base del foro e la retina adiacente si presenta sollevata dall'EPR. Le modificazioni cistiche si osservano a livello degli strati nucleare interno ed esterno. Il vitreo è distaccato e visibile come una banda sottile sopra la retina.

Figura 32-B mostra uno pseudoforo maculare con membrana epiretinica. E' presente una disorganizzazione della retina interna nell'area del foro, con separazione adiacente della retina tra SPE ed SNE. Tuttavia lo SNE, l'SI e l'SE dei fotorecettori sono intatti. Filamenti che potrebbero rappresentare le cellule di Müller, occupano gli spazi tra i vari strati retinici. Si produce una trazione sulla retina interna, con un aspetto ondulato della stessa e formazione di piccoli spazi cistici nell'NFL.

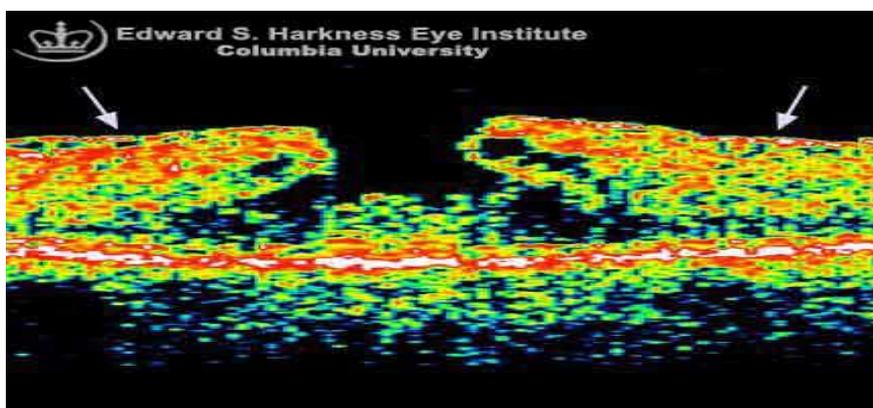


figura 32-B-foro maculare lamellare

L'OCT può essere usato per la stadiazione del foro maculare, effettuata in base alle caratteristiche morfologiche evidenti nelle sezioni e fornisce informazioni circa la patogenesi dello sviluppo del foro. Dall'immagine acquisita è inoltre possibile ricavare informazioni di carattere quantitativo, riguardanti ad esempio il diametro del foro, l'estensione dell'edema cistico intraretinico e dell'accumulo del liquido sottoretinico circostante. Inoltre, utilizzato nel pre e post intervento chirurgico permette di valutarne l'efficacia.

4.4.3 Anomalie vitreali e dell'interfaccia vitreoretinica

L'OCT può fornire informazioni strutturali riguardanti l'interfaccia vitreoretinica che, normalmente è trasparente al mezzo diagnostico. La presenza di infiammazioni, addensamenti vitreali o emorragie comportano un aumento della sua riflettività permettendo la sua visualizzazione tramite diagnosi OCT.

Figura 33-A mostra un esempio di distacco posteriore del vitreo, con la ialoide visibile come una superficie sottile, debolmente riflettente, localizzata poche centinaia di micron sopra la retina. La sua riflettività è debole ed irregolare a causa della diversità nell'indice di rifrazione tra il gel vitreale ed il liquido interposto. Se distaccata di più di 1-2 mm la ialoide non può essere visualizzata dall'OCT.

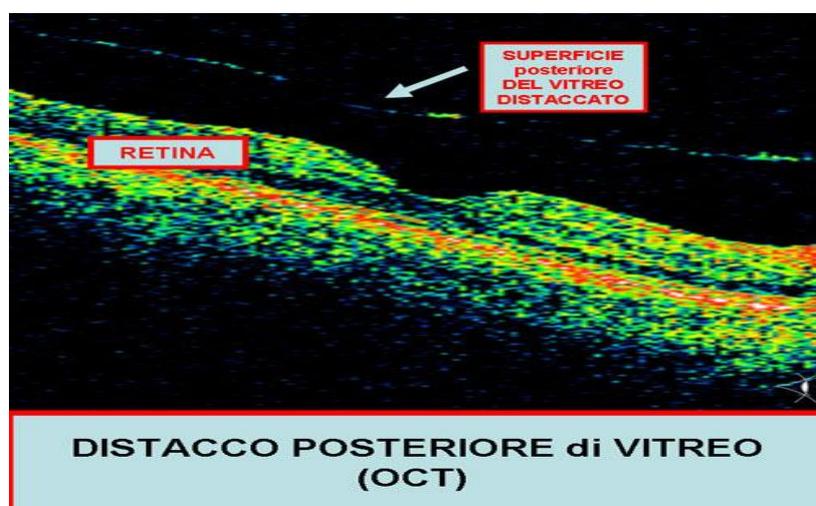


figura 33-A-distacco posteriore del vitreo

Figura 33-B mostra un esempio di trazione vitreomaculare. Il vitreo è distaccato perifericamente rispetto alla fovea ed esercita una trazione, causando la separazione tra lo SNE e l'SPE. Filamenti, che potrebbero rappresentare le cellule di Müller, occupano gli spazi tra gli strati retinici.

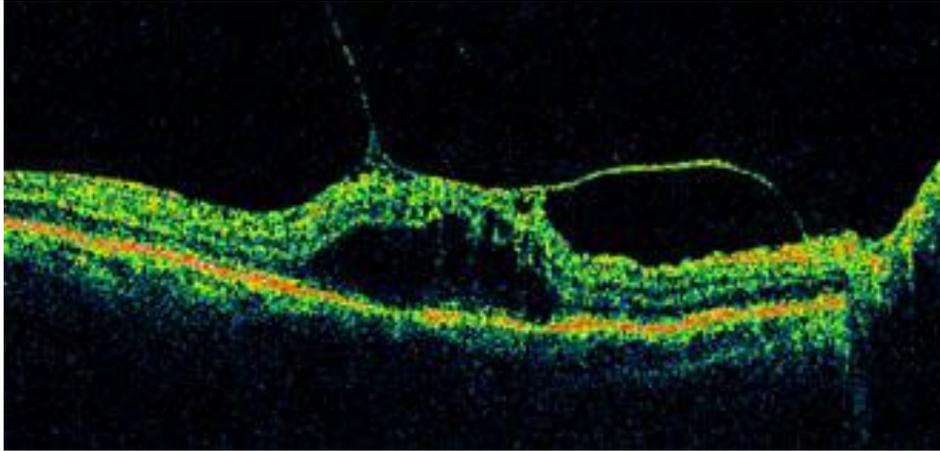


figura 33-B-trazione vitreo-maculare

Figura 33-C mostra un esempio di membrana epiretinica. Una membrana epiretinica, che è separata dalla retina può essere distinta dalla ialoide per la sua elevata riflettività, per lo spessore maggiore e per la differenza di profilo indotta. Essa inoltre si presenta più piatta rispetto alla ialoide distaccata, indicando un maggiore livello di tensione. Non sono escluse deformazioni della fovea e regioni circostanti.

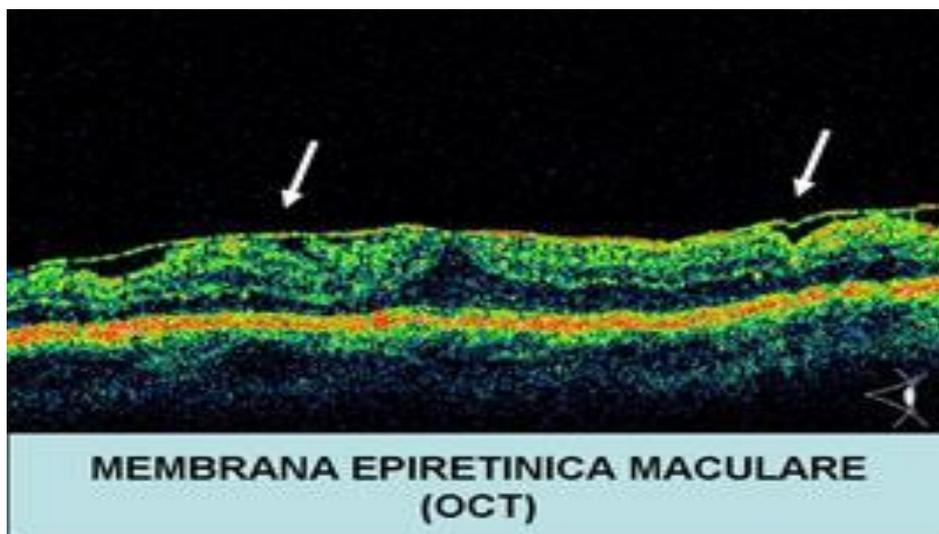


figura 33-C-membrana epiretinica maculare, visibile per effetto dell'elevato contrasto col vitreo.

4.4.4 Liquido sottoretinico,emorragia e proliferazione fibrovascolare

Figura 34-A mostra l'immagine OCT relativa ad un caso di corioretinopatia della sierosa centrale. L'immagine evidenzia un distacco della retina neurosensoriale con sollevamento piatto della retina. E' presente liquido sottoretinico, evidente come uno spazio otticamente trasparente tra retina ed EPR. La morfologia normale dell'architettura retinica è conservata nell'area del distacco con la presenza di tutti gli strati intatti. Lo strato dei fotorecettori si presenta più spesso del normale, forse a causa di una variazione del suo normale metabolismo. L'EPR e la coriocapillare sono visibili come strati altamente riflettenti.

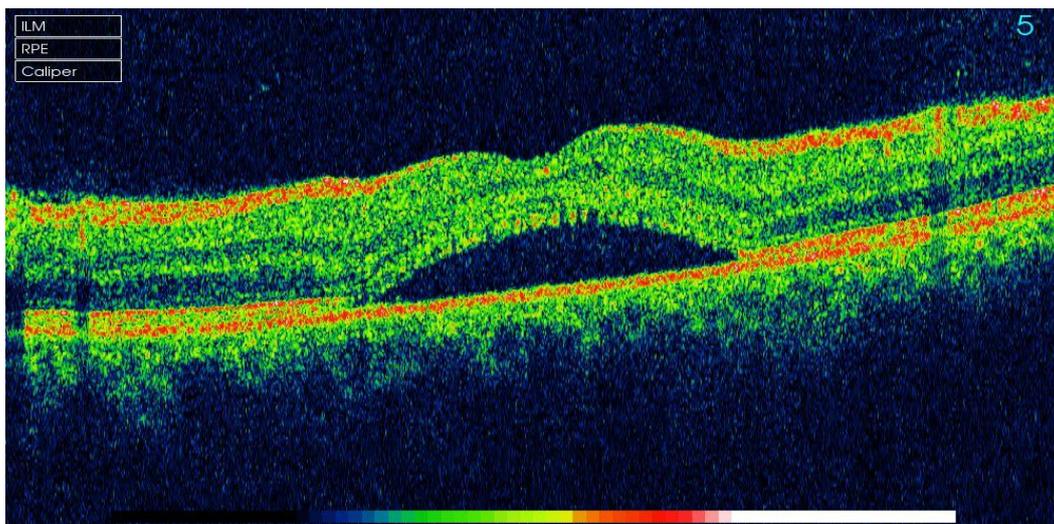


figura 34-A-corioretinopatia della sierosa centrale.

Figura 34-B mostra un esempio di distacco dell'EPR (DEP). L'EPR è visibile come una banda sottile, altamente riflettente, aderente posteriormente alla retina esterna. Nonostante sia presente un certo grado di distorsione della normale morfologia retinica, viene preservata l'integrità delle strutture. L'aumentata riflettività dell'EPR, forse dovuta a differenze dell'indice di rifrazione o alle modificazioni morfologiche, comporta un effetto ombra sulla coroide. L'angolo del distacco

spesso è più acuto rispetto ad un distacco neurosensoriale a causa della maggiore aderenza dell'EPR alla membrana basale.

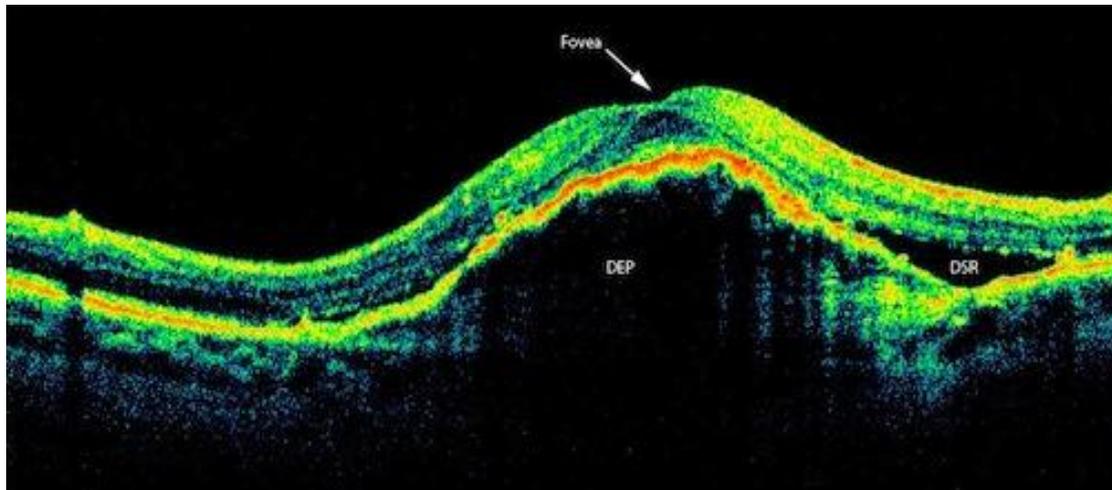


figura 34-B-distacco dell'EPR.Si nota l'effetto ombra generato sulla coroide per effetto dell'accumulo di liquido sotto l'epitelio.

La maggiore riflettività dei fotorecettori che si verifica in un distacco neurosensoriale può simulare l'alta riflettività dell'EPR ,portando a diagnosticare erroneamente un DEP;di solito però non comporta un significativo effetto ombra sulla coroide.

Quindi la differenziazione tra distacco di retina neurosensoriale e DEP spesso dipende dalla valutazione dell'entità della riflettività presente sotto la raccolta di liquido sieroso e dalla valutazione dell'angolo del distacco.

Figura 34-C mostra un esempio OCT di DEP emorragico.Questo si differenzia dal DEP per la presenza di riflettività ottica proveniente dal sangue direttamente al di sotto dell'EPR distaccato.La penetrazione nella retina si estende per circa 100 μm .In casi in cui l'emorragia raggiunga valori di penetrazione superiori a 200 μm ,a causa dell'elevata riflettività del sangue diventa quasi impossibile distinguere i tessuti sottostanti.

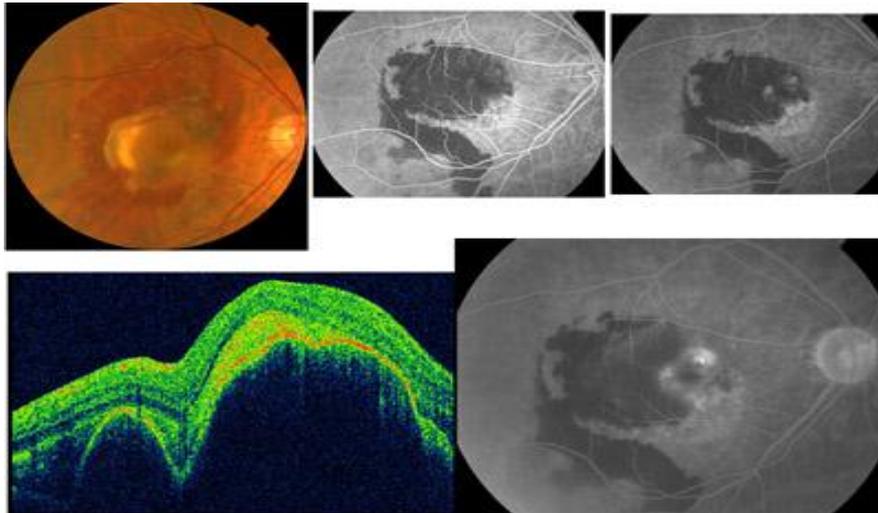


figura 34-C-immagine OCT raffigurante un distacco dell'EPR emorragico.In questo caso si nota un aumento di riflettività sotto l'EPR per effetto dell'accumulo di sangue.

Figura 34-D mostra un esempio di un DEP fibro-vascolare.Si osserva un aumento della riflettività ottica che è visibile sotto l'EPR,talvolta con liquido sottoretinico adiacente.Tuttavia il tessuto fibrovascolare riflette meno del sangue e l'OCT mostra immagini meno luminose e con una maggiore penetrazione,che spesso raggiunge la coroide.

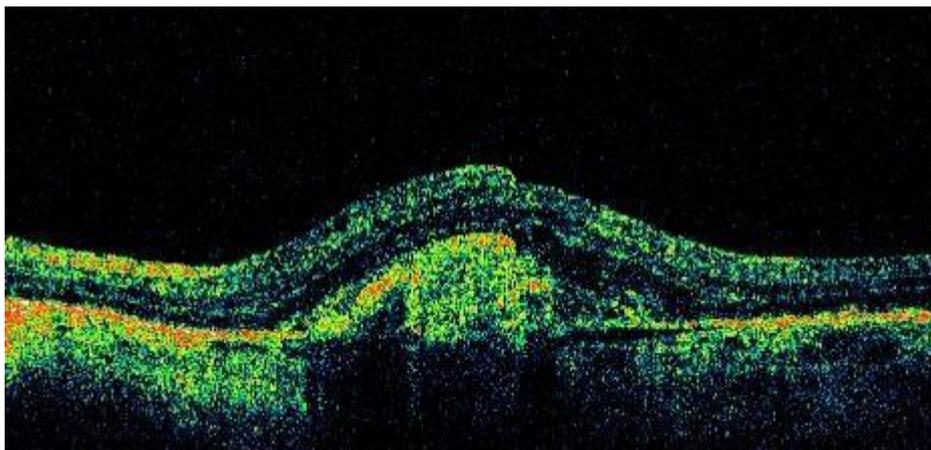


Figura 34-D-distacco di EPR fibro-vascolare

4.4.5 Edema maculare

L'OCT è in grado di fornire immagini e misure quantitative delle modificazioni dello spessore retinico, utile nella valutazione e nel follow-up dei pazienti con edema maculare associato alla retinopatia diabetica o dopo intervento di cataratta. Figura 35-A mostra un esempio OCT di edema maculare cistoide. La normale depressione foveale viene a scomparire e nei suoi pressi lo spessore retinico ne risulta aumentato fino a circa 500 μm . Si evidenziano numerose strutture di carattere cistico.

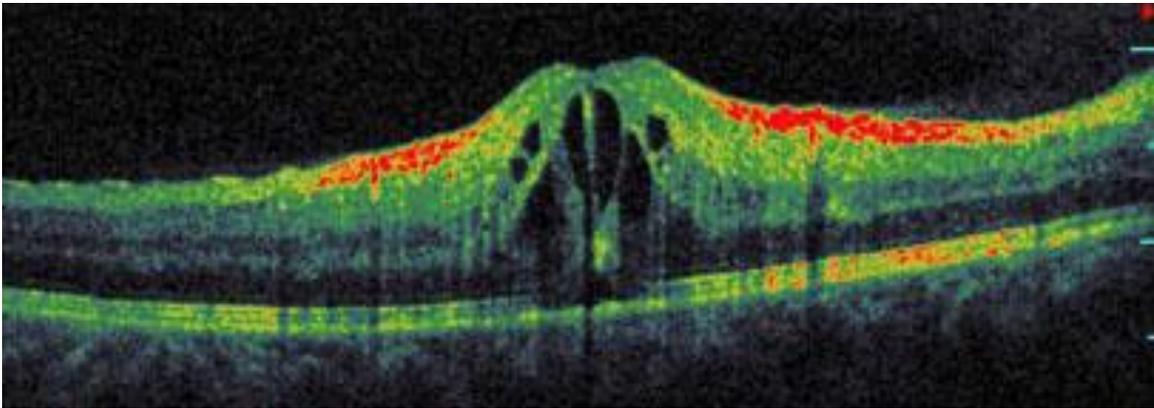


figura 35-A-edema maculare cistoide

Figura 35-B mostra un'immagine OCT raffigurante un'occlusione venosa retinica della branca temporale. Si osserva edema retinico pronunciato, temporalmente rispetto alla fovea, con alterazione della normale depressione foveale. Sono evidenti modificazioni cistiche a livello dell' SNI e dello SNE. La retina nasale rispetto alla fovea sembra essere normale.

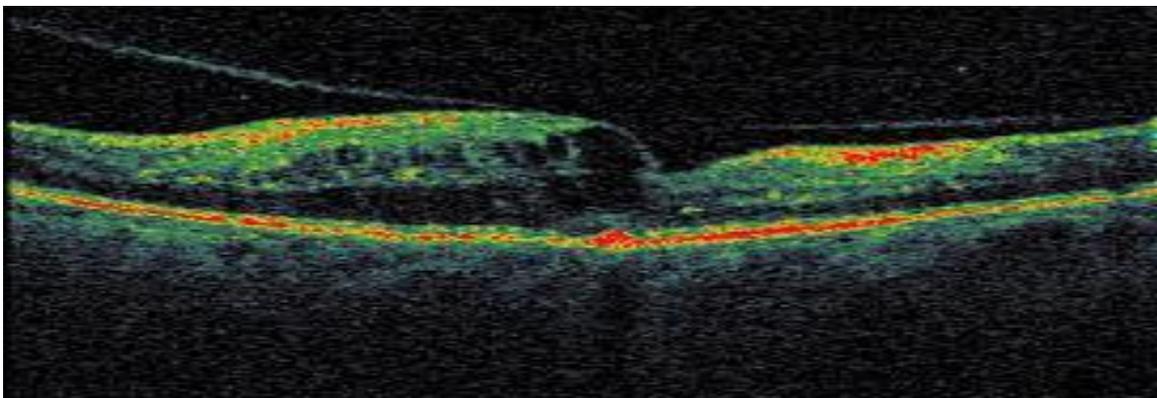


figura 35-B-occlusione venosa retinica della branca temporale

Nelle malattie venose occlusive ,l'OCT risulta utile specialmente nel monitorare quantitativamente lo sviluppo dell'edema e la risoluzione che segue al trattamento. Consente di identificare l'ispessimento maculare,la formazione di cisti,fori maculari lamellari,accumulo di liquido sottoretinico ed il papilledema. Grazie alla diagnostica OCT è possibile prevenire l'atrofia retinica causata da occlusione arteriosa degenerata in edema maculare.

4.4.6 Epitelio pigmentato retinico e coriicapillare

Nelle immagini OCT l'EPR e la coriicapillare appaiono solitamente un unico sottile strato ad elevata riflettività.La giunzione tra SI ed SE dei fotorecettori appare altamente riflettente,situata anteriormente all'EPR ed alla coroide. Le alterazioni di questa regione,che definisce il limite posteriore delle retina, sono indicatori di patologie quali la degenerazione maculare legata all'età o la neovascolarizzazione coroideale.

Un'iperpigmentazione dell'EPR comporta un aumento di riflettività e generazione di un effetto ombra sulla coroide.Al contrario un'ipopigmentazione dell'EPR comporta una riduzione di riflettività e permette al fascio OCT di penetrare più in profondità,permettendo di visualizzare meglio le strutture annesse.

Figura 36-A mostra un esempio di anomalia pigmentaria provocata da una degenerazione maculare senile non essudativa.Si possono osservare irregolarità dell'EPR ,dell'SI e dell'SE dei fotorecettori.L'EPR e la coriicapillare appaiono rugosi ed alterati,con disorganizzazione o irregolarità dei segmenti esterni dei fotorecettori.

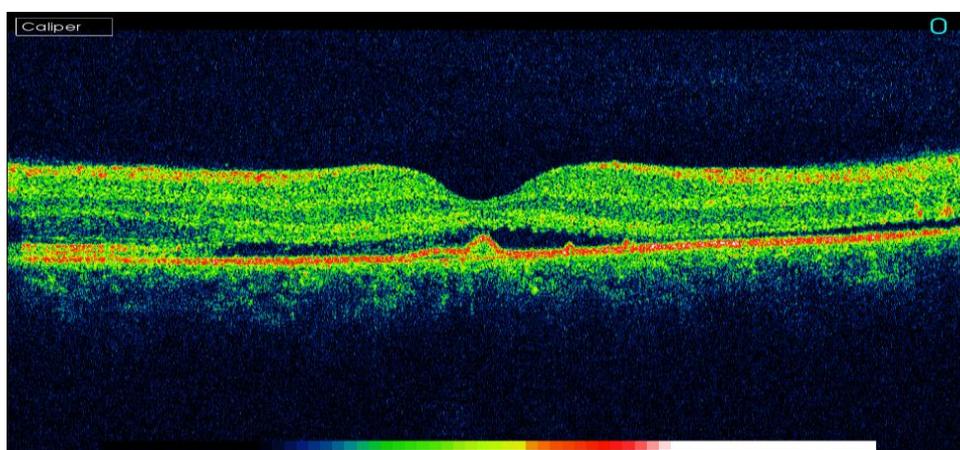


figura 36-A-degenerazione maculare non essudativa

Figura 36-B mostra un esempio di neovascolarizzazione coroideale. Si vede un'alterazione dell'EPR, della coriocapillare e dei fotorecettori SE. La crescita di nuovi vasi sanguigni attraverso la membrana di Bruch comporta un aspetto frammentario ed ispessito dell'EPR, della coriocapillare e dei fotorecettori SE. Viene evidenziato edema per la presenza di leakage di liquido retinico e sottoretinico proveniente dalla neovascolarizzazione. Tutto ciò comporta un ispessimento dello spessore retinico.

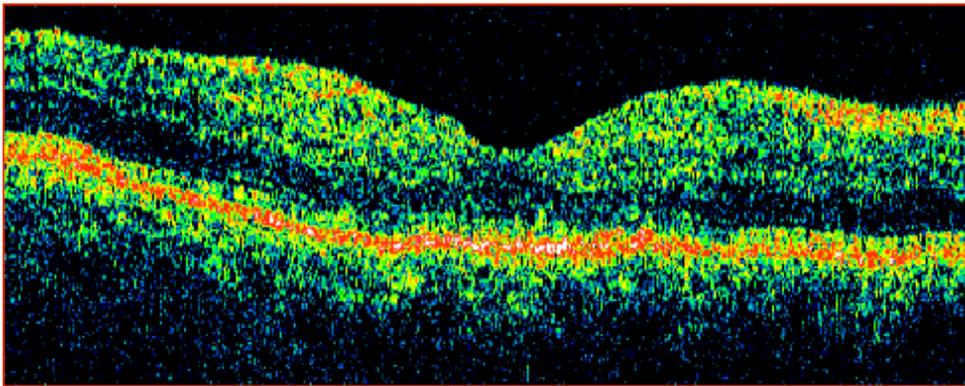


figura 36-B-neovascolarizzazione coroideale

Figura 36-C mostra un esempio OCT di soft drusen. Le soft drusen si presentano come delle evidenti modulazioni o ondulazioni delle bande sottili, altamente riflettenti. Questo si traduce in un accumulo di materiale al di sotto della membrana di Bruch. L'aspetto dell'EPR è simile ad un DEP sieroso, ma non produce ombra sulla coroide ed ha margini più piatti.

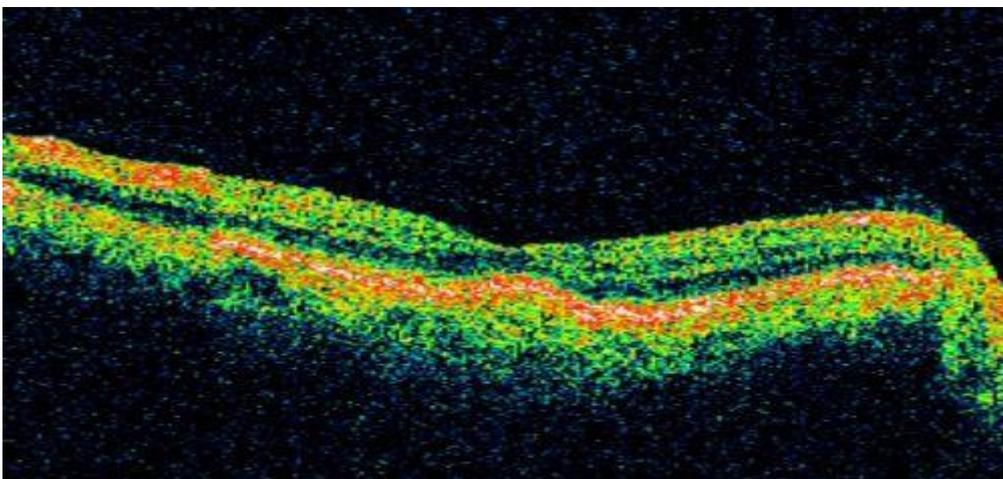


figura 36-C-soft drusen

4.4.7 Atrofia dello strato delle fibre nervose e della retina: glaucoma e distrofia

Le alterazione dello spessore dell'NFL retinico si sono dimostrate di grande rilevanza nella diagnosi del glaucoma e nella valutazione della progressione della malattia. L'NFL appare come uno strato distinto, altamente riflettente, a livello della retina superficiale. Come già sottolineato lo spessore dell'NFL può essere valutato su punti individuali di un tomogramma cilindrico o lineare nella regione peripapillare. Si possono utilizzare algoritmi di elaborazione dell'immagine per valutare sia lo spessore retinico che dell'NFL.

Figura 37 mostra un esempio di protocollo impiegato nella diagnosi del glaucoma. In un'unica schermata vengono visualizzate le mappe degli spessori in falsi colori dell'occhio destro e sinistro; le colorazioni dal blu scuro al bianco vanno verso un aumento di spessore. Nella parte sottostante vengono mostrate le immagini del fondo dell'occhio; grazie ad un opportuno software di elaborazione è possibile mettere in evidenza le zone più dense di corpi assonali, indicate in rosso. Centralmente viene mostrato attraverso un grafico l'andamento dello spessore dell'NFL lungo i vari distretti retinici. Vengono effettuate delle misurazioni precise di alcuni parametri quali lo spessore medio dell'NFL, il livello di simmetria tra i due occhi, l'area della rima retinica e del disco, il rapporto cup/disc medio e verticale e il volume dell'escavazione foveale.

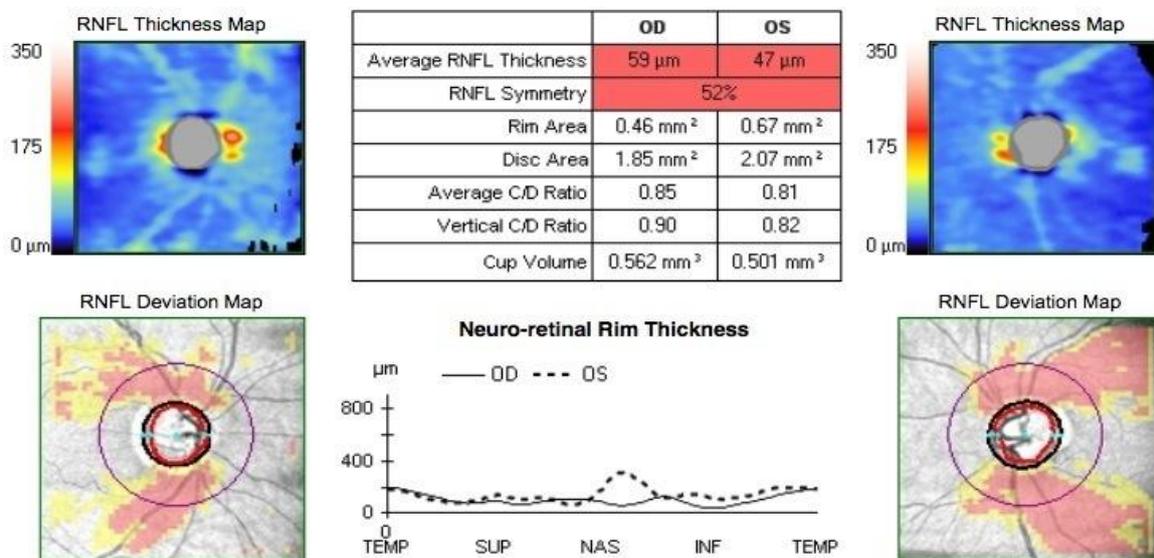


figura 37-protocollo di elaborazione impiegato nella diagnosi del glaucoma.

La retinite pigmentosa (mostrata in figura 38-B) è un anormale assottigliamento dello strato dei fotorecettori al di fuori della fovea, evidente come una riduzione del normale spessore dell'SNE.

Nella distrofia di Stargardt (mostrata in figura 38-C), l'SNE è abnormemente sottile a livello della fovea. La capacità dell'OCT di fornire misure quantitative della morfologia retinica è particolarmente utile, poiché fornisce un mezzo per confrontare le misurazioni ottenute con quelle della popolazione normale, in modo da stimare la probabilità di diagnosi.

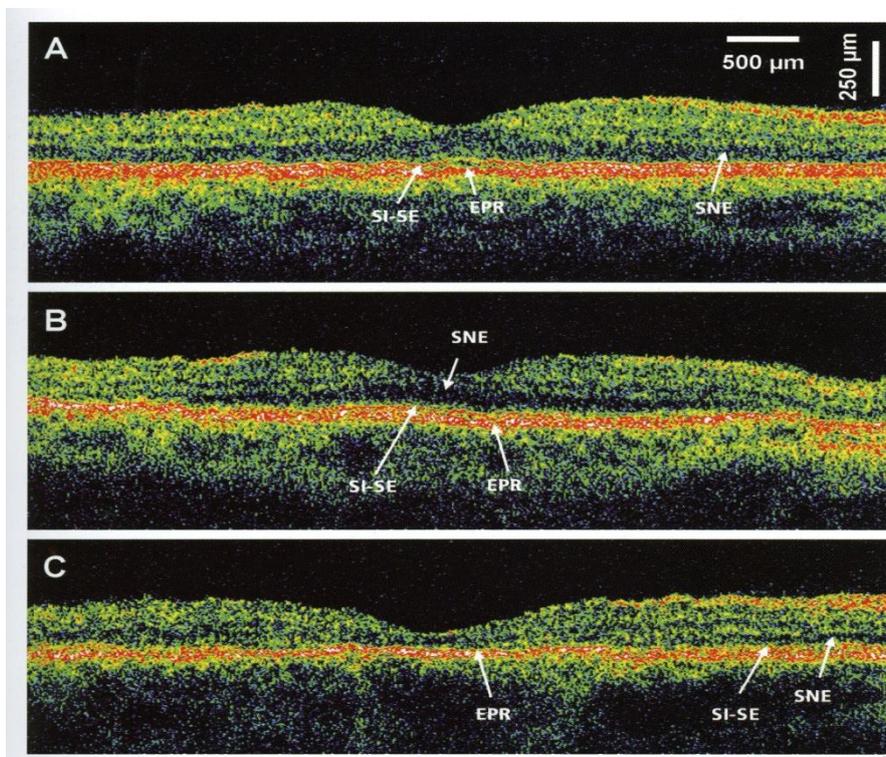


figura 38-rappresentazione di alcune malattie degenerative della macula, che portano ad atrofia. All'immagine A della macula normale si contrappone la retinite pigmentosa (B) e la distrofia di Stargardt (C), nella quale si evidenzia un anormale assottigliamento dello strato dei fotorecettori a livello della fovea.

5 PROTOCOLLI DI SCANSIONE ED ELABORAZIONE DELL'IMMAGINE OCT

5.1 Protocolli di scansione lineare

Line è un protocollo fondamentale di scansione OCT che consente di ottenere una scansione lineare. La lunghezza e l'angolazione possono essere variate. Attraverso l'esistenza di protocolli è possibile conoscere l'orientamento di ciascuna scansione lineare. La scansione reimpostata è una linea orizzontale (0°) di 5 mm di lunghezza.

Il protocollo *raster lines* è costituito da una serie di 6-25 linee parallele equidistanti su di una regione rettangolare. Il modello preimpostato è costituito da sei linee su di un rettangolo di 3mm di lato. Ogni linea si compone di 4096 A-scan. La scansione avviene in direzione nasale-temporale.

Il protocollo *cross hair* è costituito da due linee di scansione perpendicolari che si intersecano al centro a formare una croce. La linea di scansione è fissata a 3 mm, mentre la lunghezza delle linee verticale ed orizzontale può essere fatta variare.

Il protocollo *radial lines* consiste in 6-24 linee di scansione disposte radialmente ed incrociatisi in un punto. Il modello automatico ha 6 linee di 6 mm di lunghezza. E' possibile variare la lunghezza di scansione aggiustando l'altezza della mira di fissazione.

Il protocollo *optic disc* è una versione da 4mm del modello a linee radiali. Lo scopo è andare ad analizzare la testa del nervo ottico

Il protocollo *x-line* consiste di due scansioni che si incrociano al centro per formare una X. Il modello preimpostato consiste di due linee perpendicolari di 3mm di lunghezza. Altezza ed ampiezza possono essere fatte variare.

5.2 Protocolli di scansione volumetrici

Il protocollo *cubo maculare 3D 512x128* genera un cubo di dati su di una griglia quadrata di 6mm, acquisendo una serie di 128 linee di scansione

orizzontali, ciascuna composta da 512 scansioni assiali. Per prima viene acquisita una scansione ad alta definizione composta da 1024 scansioni assiali. La scansione avviene su un campo di $20^{\circ} \times 20^{\circ}$ auto centrato sulla scansione OCT del fondo.

Il tempo di acquisizione è di 1,7 secondi.

Il protocollo *cubo maculare 3D 200x200* genera un cubo di dati su di una griglia quadrata di 6mm, acquisendo una serie di 200 linee di scansione orizzontali, ciascuna composta da 200 scansioni assiali. Per prima viene acquisita una scansione ad alta definizione composta da 1000 scansioni assiali. La scansione avviene su un campo di $20^{\circ} \times 20^{\circ}$ auto centrato sulla scansione OCT del fondo.

Il tempo di acquisizione è 1,5 secondi.

La maggiore rapidità di acquisizione rende questo tipo di scansione particolarmente diffuso laddove sia necessario avere una omogeneità di scansioni al fine di avere una validità clinica sui risultati.

Il protocollo *cubo 3D 200x200 disco ottico* genera un cubo di dati su di una griglia quadrata di 6mm, acquisendo una serie di 200 linee di scansione orizzontali, ciascuna composta da 200 scansioni assiali. Rispetto alla scansione maculare mancano le scansioni ad alta definizione e la mira di fissazione è spostata per consentire di spostare al centro del pattern di scansione la testa del nervo ottico. Quest'ultimo si compone di cerchi concentrici che aiutano l'operatore ad allineare la scansione sul disco ottico. La scansione avviene su un campo di $20^{\circ} \times 20^{\circ}$ auto centrato sulla scansione OCT del fondo.

Il protocollo *cubo 3D 4mmx4mm segmento anteriore*, simile a quello maculare, genera immagini di e tri dimensionali della cornea ad angolo orientabile su di un'area pari a 4mmx4mm.

5.3 Protocolli di scansione circolare

Il protocollo *circle* è una scansione di base usata per ottenere scansioni multiple circolari. Il modello preimpostato è costituito da una circonferenza di 3,46 mm di diametro. La scansione procede in senso orario per l'occhio destro ed antiorario per quello sinistro.

Il protocollo *proportional circle* permette di eseguire una scansione circolare personalizzata, che tenga in considerazione la variabilità del diametro papillare, aggiustando le impostazioni predefinite con un fattore di moltiplicazione.

Il protocollo *concentric 3 rings* consiste di 3 scansioni circolari concentriche equidistanti con i rispettivi raggi in rapporto 1:2:3. I raggi hanno valori preimpostati di 0.9 mm, 1.81 mm e 2.71 mm. Le scansioni procedono dalla più piccola alla più grande. Il rapporto tra i raggi è modificabile e la concentricità può essere disabilitata.

Il protocollo *nerve head circle* è progettato per realizzare una singola scansione circolare intorno al disco ottico. Il modello preimpostato ha un diametro del cerchio di mira di 1.5 mm ed un diametro del cerchio di scansione di 3.46 mm.

Il protocollo *retinal nerve fiber layer (RNFL)* è usato per ottenere 3 scansioni circolari di 3.4 mm di diametro intorno al disco ottico. I parametri non sono modificabili.

Il protocollo *RNFL thickness* è utilizzato per realizzare una singola scansione circolare che è 2.27 volte il raggio del cerchio di mira. Il raggio del cerchio di mira è impostato a 1.5 mm, ma può essere variato come il fattore di moltiplicazione.

Il protocollo *RNFL map* è costituito da un set di 6 scansioni circolari concentriche di raggio prefissato. Le scansioni procedono in ordine di raggio crescente come segue, in mm, da 1.44 a 1.69 a 1.90 a 2.25 a 2.73 a 3.40. Le dimensioni preimpostate permettono la visualizzazione ottimale dello spessore delle fibre peripapillari.

5.4 Ottimizzazione temporale o scansioni veloci

Esistono protocolli a scansione rapida, progettati per semplificare l'elaborazione e ridurre il tempo di acquisizione delle scansioni usate più frequentemente per il glaucoma o altre patologie retiniche. Tutti i protocolli condividono le stesse caratteristiche:

- concentrano una serie di scansioni in un'unica scansione
- tutti i parametri sono prestabiliti
- l'allineamento ed il posizionamento della scansione è richiesto soltanto una volta
- tendono a migliorare la precisione del posizionamento relativo delle scansioni lineari e circolari rispetto ai loro protocolli non rapidi

- La risoluzione è minore ma è ridotta la probabilità di errore dovuta al movimento del paziente.

5.5 Protocolli di elaborazione dell'immagine

L'OCT è indicato principalmente per la diagnostica ed il follow up di condizioni patologiche quali l'atrofia dell'NFL retinico nel glaucoma o l'edema maculare associato a retinopatia diabetica, in quanto fornisce informazioni quantitative sulla morfologia retinica. Le immagini OCT possono essere analizzate quantitativamente ed elaborate usando algoritmi intelligenti, per ricavare informazioni particolari come lo spessore retinico o dell'NFL.

Al fine di facilitarne l'elaborazione, sono state sviluppate delle tecniche mirate a rappresentare i dati relativi all'immagine stessa in un formato alternativo, come le mappe topografiche dello spessore.

I software disponibili in commercio per l'OCT offrono algoritmi matematici per migliorare l'aspetto dell'immagine e non modificano i dati grezzi della scansione. Il protocollo *align* effettua un'elaborazione dell'immagine che corregge gli effetti dovuti al movimento del paziente nella direzione assiale. Sebbene la funzione di allineamento sia uno strumento potente per rimuovere le "scosse" oculari, esso può introdurre artefatti nell'immagine poiché il software non può distinguere piccole reali variazioni nello spessore retinico da variazioni dovute al movimento dell'occhio del paziente.

Il protocollo *normalize* è usato per eliminare il rumore di fondo, ed utilizzare al completo la scala cromatica nell'immagine elaborata della scansione. La scala in falsi colori dell'immagine ottenuta opera in un intervallo di valori del segnale compreso da 0 a 255 (8 bit di profondità), ma nei sistemi più moderni si può arrivare fino ad una rappresentazione a 16 bit. La normalizzazione mostra punti con valori minori o uguali al livello del rumore come 0 (nero) ed i punti con valori maggiori o uguali al massimo valore di segnale, meno una costante fissa, come 255 (bianco). Il protocollo ridefinisce i valori di segnale intermedi per mantenere le loro relative posizioni nel nuovo intervallo. Le immagini risultanti utilizzano l'intera scala cromatica tra i livelli di rumore e saturazione ed appaiono ugualmente vivaci e normalizzate rispetto al rumore e all'intensità del segnale. I due protocolli possono essere applicati in contemporanea.

Il protocollo *Gaussian smoothing* effettua una media del rumore e miscela i colori dell'immagine, calcolando una media mobile dei valori dei segnali in una finestra 3×3 secondo la funzione di Gauss. Siccome i punti esterni vengono meno considerati nel calcolo di quelli centrali, si può perdere del contenuto informativo. Il protocollo *median smoothing* è simile al precedente tranne per il fatto che si calcola il valore mediano nella finestra 3×3 .

Il protocollo *proportional* è usato per ottenere un'immagine nelle sue proporzioni reali orizzontale e verticale. Le immagini normalmente raffigurate sono infatti espanse nella direzione assiale (o longitudinale) per mettere meglio in evidenza lo stato e gli spessori dei vari strati retinici. Di conseguenza ciò che si ottiene è un'immagine più compressa verticalmente rispetto alla norma.

Il protocollo *scan profile* si usa per avere un profilo interattivo di tutti i valori di segnale per ogni singolo gruppo di scansione. È possibile calcolare la distanza e la differenza tra due punti in una singola A-scan.

5.5.1 Spessore retinico e mappa dello spessore retinico

Lo spessore retinico può essere analizzato attraverso vari protocolli.

Il primo passo nella misurazione quantitativa dello spessore retinico è la determinazione dei confini, nota anche come segmentazione. Gli algoritmi di determinazione dei confini consistono nelle seguenti tappe: livellamento (*smoothing*), rivelazione dei contorni (*edge detection*), e correzione degli errori. È richiesta un'attenzione particolare, ai fini dell'ottenimento di un buon risultato, in condizioni di basso rapporto segnale/rumore. Il limite superiore della retina è assunto che si trovi a livello dell'interfaccia vitreo-retinica e si evidenzia dall'aumento di riflettività del segnale che si verifica a tale livello. Il limite tra SI ed SE dello strato dei fotorecettori è identificato da un confine altamente riflettente, sottile, a livello della retina posteriore.

Dopo l'evidenziazione dei dettagli si può misurare lo spessore della retina sull'immagine a livello di ogni posizione trasversale.

La mappa topografica retinica fornisce informazioni grafiche addizionali, che possono essere comparate direttamente con quelle del fondo dell'occhio. Essa diviene fondamentale nel rilevare un ispessimento a livello della fovea. Si usa un pattern di scansione che concentri le misurazioni a livello della fovea centrale, in modo da valutare la distanza di un ispessimento dalla regione maculare. Sono disponibili due diverse modalità di visualizzazione della mappa dello spessore retinico. Una rappresentazione numerica, attraverso tre cerchi concentrici di diametro multiplo divisi in un totale di nove quadranti; all'interno di ciascun quadrante sono riportati i valori medi dello spessore a livello locale. Lo spessore retinico in ogni quadrante può essere poi convertito in una mappa topografica di spessore in falsi colori. Si effettua quindi un'interpolazione bilineare in coordinate polari per valutare lo spessore nelle regioni cuneo tra le scansioni radiali OCT. Si possono effettuare anche misurazioni più grossolane per ricavare lo spessore medio foveale al fine di determinare patologie quali edema maculare centrale in test di screening su larga scala.

Retinal thickness\volume analysis si può effettuare con i protocolli *radial lines* o *macular thickness map*. È costituito da due mappe circolari divise in nove settori centrate sulla macula. La mappa superiore rappresenta lo spessore retinico, utilizzando un codice cromatico e la mappa inferiore mostra sia lo spessore che il volume retinico in ogni area. Il diametro delle tre circonferenze di scansione può essere fatto variare. Il valore dello spessore risulta dal calcolo del valore medio con annessa deviazione standard. La deviazione standard è elevata per pazienti affetti da retinopatia diabetica.

Retinal thickness/volume tabular fornisce tutti i risultati delle analisi di spessore/volume retinico ed una tabella dati che comprende le medie di spessore e volume nei quadranti, i rapporti e le differenze tra i quadranti e gli occhi.

Retinal thickness/volume change calcola i cambiamenti di spessore o volume tra un esame e l'altro.

Retina thickness analizza una scansione alla volta. In pratica è possibile analizzare lo spessore per ciascuna scansione assiale eseguita, con annesso grafico dello spessore.

Retinal map fornisce due mappe circolari dello spessore retinico ed una scansione lineare per un solo occhio.

Retinal probability map si può usare per avere mappe che indicano la probabilità che le aree della retina abbiano uno spessore superiore alla norma. Figura 39 sotto riportata illustra un'interfaccia software di analisi dello spessore retinico per due esami effettuati ad una certa distanza di tempo. Grazie al protocollo *automatic fovea finder* è possibile realizzare il perfetto allineamento delle immagini in corrispondenza della fovea. Le immagini OCT B-scan sono corredate dalle relative mappe dello spessore numeriche ed in falsi colori; la loro sovrapposizione al fondo oculare serve ad individuare meglio le strutture esaminate.

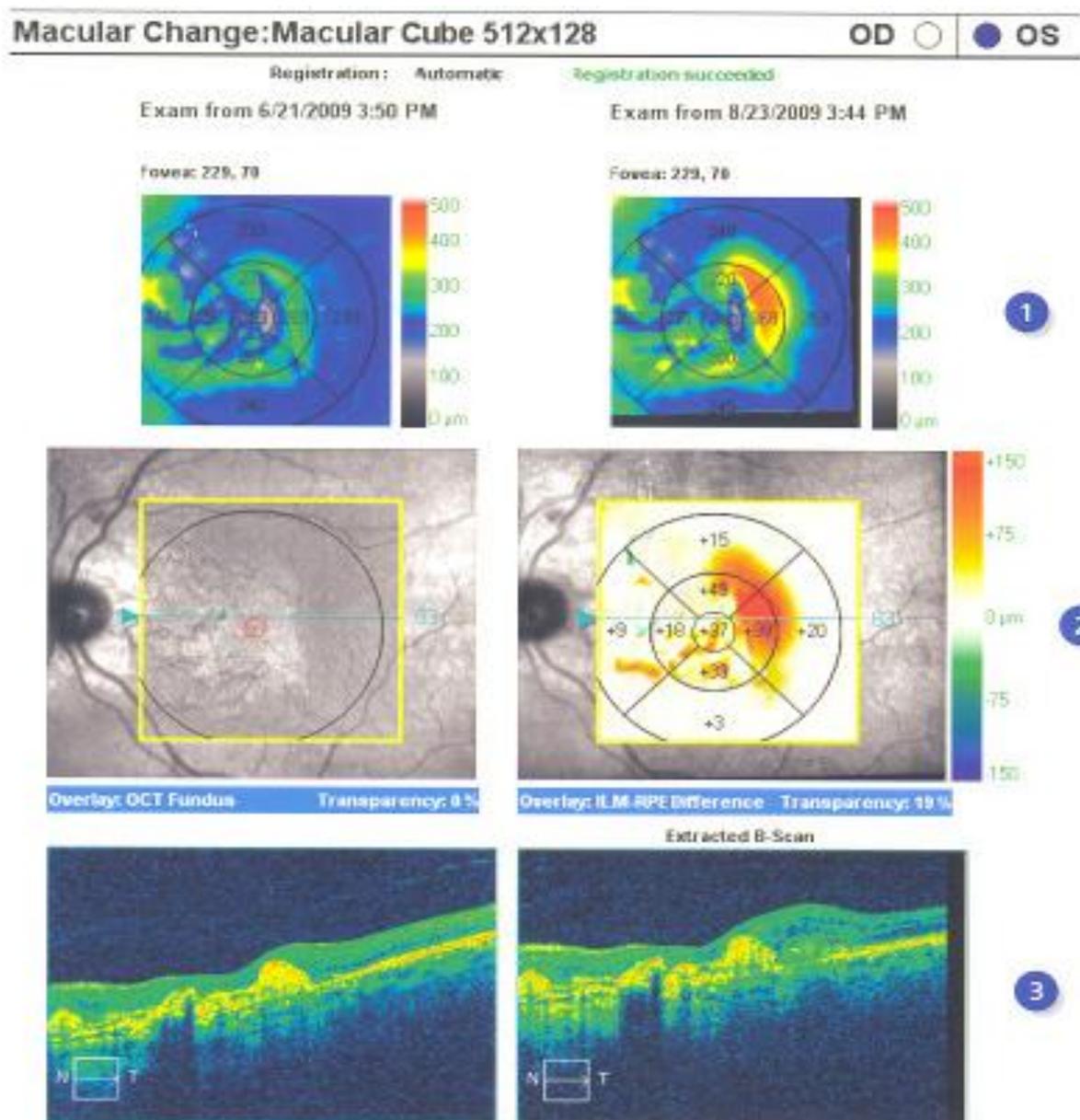


figura 39-protocollo di elaborazione che permette il follow up di un esame datato e confrontarlo con quello attuale. Vengono effettuate misure della variazione di spessore maculare attraverso mappe numeriche ed in falsi colori.

5.5.2 Strato delle fibre nervose

Lo strato delle fibre nervose appare nelle immagini OCT come uno strato estremamente riflettente a livello della porzione superficiale della retina, e mostra un' aumentata densità ottica rispetto agli strati più profondi della retina. Si assume che il limite anteriore dell' NFL sia a livello dell' interfaccia vitreoretinica. Il limite posteriore deve trovarsi tra l' interfaccia vitreoretinica ed il limite posteriore della retina. Per evidenziare il limite posteriore si analizza l' intensità del segnale luminoso retrodiffuso; una misura precisa è ottenuta imponendo un valore soglia su ciascuna A-scan che compone l' immagine.

Gli algoritmi di elaborazione dell' immagine al computer sono stati sviluppati per stimare lo spessore dell' NFL dalle immagini OCT circumpapillari, acquisite con sezioni cilindriche che circondano il disco ottico. Si usa un pattern di scansione che ha tipicamente un diametro di 3.4 mm, perché intercetta completamente tutte le fibre del nervo che fuoriescono dal disco, evitando misurazioni inadeguate che derivano dalla presenza dell' atrofia peripapillare.

Si richiede un' attenta valutazione delle scansioni circolari per identificare imperfezioni locali dell' NFL, che devono essere distinte dalle normali modificazioni della riflettività e dello spessore dell' NFL.

L' osservazione di depressioni derivanti dai margini anteriore e posteriore è un utile indicatore di effettivo assottigliamento.

I grafici di una persona normale presentano un profilo dell' NFL a doppia gobba, che è maggiore superiormente ed inferiormente. I picchi rilevati possono essere vasi sanguigni o difetti veri e propri dell' NFL.

La migliore valutazione si può ottenere confrontando i grafici con l' occhio controlaterale e la correzione clinica è essenziale per una corretta diagnosi.

Figura 40 mostra un altro esempio di interfaccia grafica per la misurazione dello strato delle fibre nervose, chiamato *RNFL Thickness Analysis*. In questo caso sono visibili entrambi i dati degli occhi sulla stessa schermata. Nella parte alta vengono presentate le mappe ottenute da scansioni di un cubo di dati 6mm×6mm. Sono inoltre indicati, all' interno di ciascun quadrante/settore i valori degli spessori dell' NFL, indicando in verde le regioni conformi alla norma, in giallo le regioni al limite della normalità ed in rosso quelle fuori norma.

Grazie ad un opportuno automatismo software è possibile centrare i calcoli dello spessore sulla testa del nervo ottico. Al centro un grafico spessore/posizione indica l'andamento dello spessore dell'NFL per entrambi gli occhi, con la finalità di mettere in evidenza le asimmetrie. Nella parte bassa è inoltre possibile visualizzare il grafico che correla l'andamento dello spessore, per ciascuno dei due occhi, con fasce di dati normalizzati, estratti da soggetti normali. In fondo vengono visualizzati i due tomogrammi OCT, elaborati secondo algoritmi di segmentazione dell'NFL.

Guided Progression Analysis confronta le misurazioni dello spessore dell'NFL nel tempo e determina se si sia verificata o meno una variazione significativa. Gli esami di follow-up sono registrati sul riferimento per consentire un confronto accurato.

In figura 41 sono mostrate quattro mappe topografiche in falsi colori centrate sulla testa del nervo ottico relative a quattro esami effettuati a distanza di tempo l'uno dall'altro. In giallo sono indicate le regioni in cui le variazioni hanno un aspetto più significativo, che compariranno rosse negli esami successivi.

Viene poi tracciato un grafico dello spessore, che mette in evidenza le variazioni significative in funzione della regione scansionata.

Sono infine riportati grafici sulla velocità di variazione di spessore, dove le bande a colori codificano sue variazioni significative.

Il tutto viene riassunto nella parte bassa, indicando una possibile perdita o incremento dello spessore.

RNFL Thickness Analysis: Optic Disc Cube 200x200

OD ● ● OS

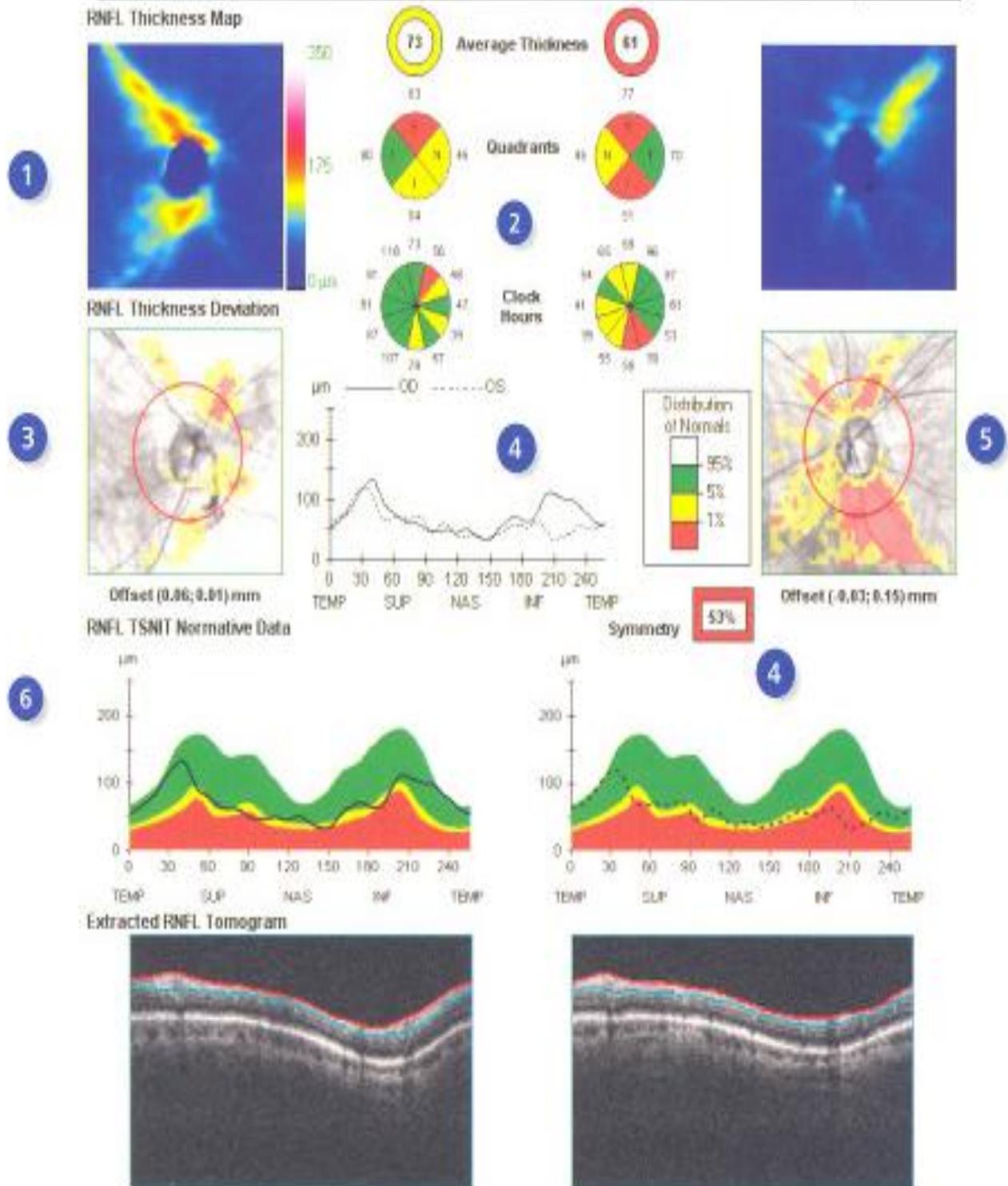
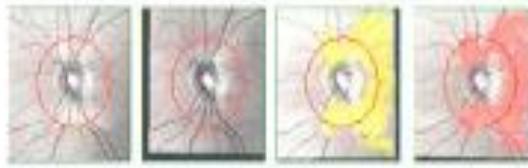
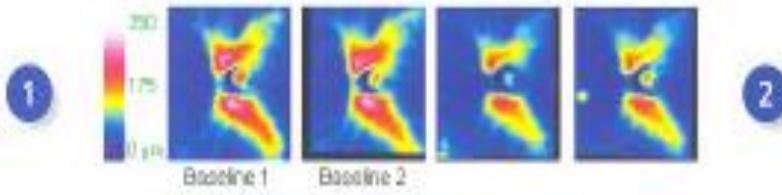


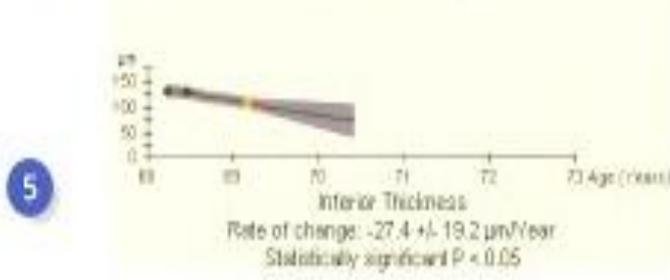
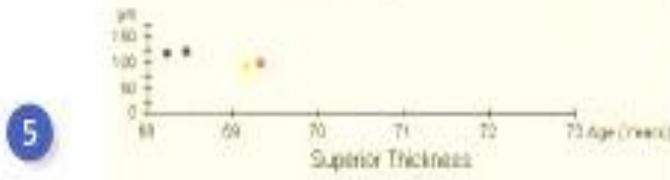
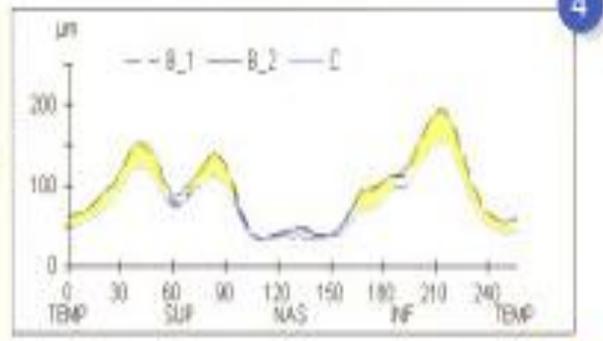
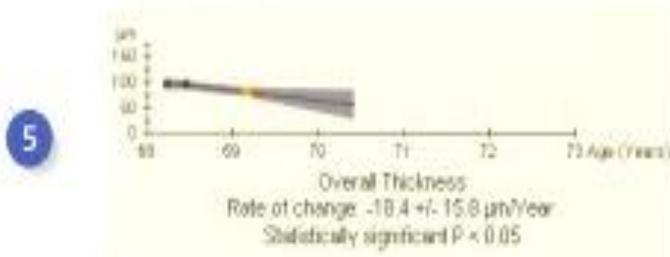
figura 40-protocollo di acquisizione per ottenere una misurazione dello spessore dello strato delle fibre nervose (NFL).I dati dello spessore sono ottenuti attraverso una scansione circolare circumpapillare.Vengono indicati i valori numerici degli spessori in quadranti e settori circolari.Inoltre i dati vengono confrontati con un database di riferimento e collocati in regioni verdi (normali),gialle(al limite) o rosse(non accettabili).

Exam 1	Exam 2	Exam 3	Exam 4
3/27/2008	6/16/2008	2/28/2009	4/00/2009
10:16:14 AM	5:36:41 PM	5:33:07 PM	9:29:45 AM
4000-0002	4000-8816	4000-0002	4000-0002
8/10	8/10	8/10	8/10
	Registered	Registered	Registered



Average RNFL Thickness

RNFL Thickness Profiles



RNFL Summary OS

- RNFL Thickness Map Progression
- RNFL Thickness Profiles Progression
- Average RNFL Thickness Progression

Possible Loss
Stable
Possible Increase

figura 41-protocollo di acquisizione che mette a confronto quattro diversi esami effettuati a distanza di tempo. Attraverso una scala cromatica dal blu scuro al bianco sarà possibile identificare le regioni atrofiche. Vengono inoltre riportati i valori medi dello spessore e la deviazione dai valori di riferimento.

5.5.3 Disco ottico

Le modificazioni della testa del nervo ottico rappresentano indicatori ben determinati della malattia glaucomatosa. Possono essere usati algoritmi avanzati per analizzare immagini OCT, in modo da valutare la testa del nervo ottico e misurare i parametri dell'escavazione e del disco. La testa del nervo ottico è tipicamente analizzata usando sei scansioni radiali OCT a varie angolazioni, come già accennato in precedenza. Dall'immagine scansionata (figura 42) è poi possibile ricavare alcuni parametri utili.

I punti nei quali l'epitelio pigmentato/coriocapillare termina nella lamina cribrosa sono usati per determinare i limiti del disco. I punti di repère del disco possono essere modificati sullo schermo. L'ampiezza delle fibre del nervo a livello del disco fino al punto più vicino a livello della superficie anteriore della retina, viene calcolata facendo la media delle ampiezze. Il diametro del disco è determinato tracciando una linea retta tra due punti di riferimento del disco. Il diametro dell'escavazione è determinato misurando la lunghezza di un segmento parallelo alla linea del disco ad una profondità di 150 μm .

I diametri del disco e dell'escavazione possono fornire una valutazione dell'area del disco, dell'escavazione e della rima. Sull'immagine vengono effettuate misurazioni complesse come l'area (volume) integrata verticale della rima, l'ampiezza (area) integrata orizzontale della rima neurale, l'area del disco, l'area dell'escavazione, l'area della rima neurale, il rapporto delle aree di escavazione, il rapporto cup/disc orizzontale e verticale.

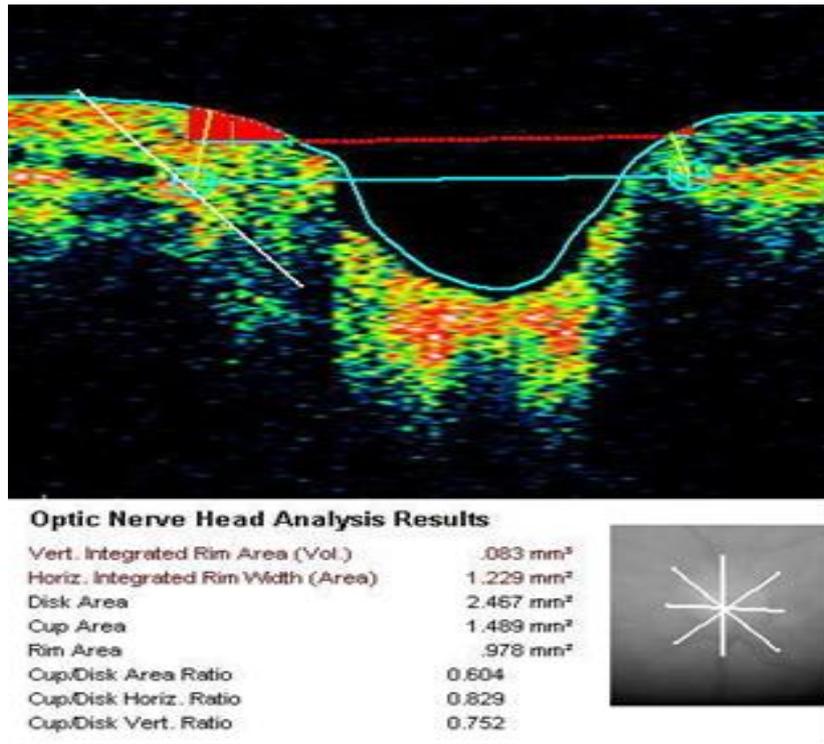


figura 42-immagine OCT del disco ottico elaborata dal software per ottenere la misurazione di alcuni suoi parametri caratteristici,come la rima neuro-retinica,il diametro esterno e quello dell'escavazione,con i relativi calcoli di volumi,aree e rapporti.

6 PARAMETRI DA CONSIDERARE NELLA SCELTA DI UN OTTIMO OCT

Sono tali e tanti i particolari svelati ed emergenti dall'indagine tomografica Spectral che anche il referto finale deve essere reimpostato rispetto alla tecnologia time domain: è necessaria una nuova terminologia, per dare il giusto risalto ai dati emersi e per le evidenze, non più morfologiche e quantitative, ma citologiche e qualitative. Dalla dimensione anatomica si scende così alla definizione istologica e cellulare.

La possibilità, infine, di avere con lo stesso strumento immagini bi e tridimensionali anche del segmento anteriore rende questi strumenti utilizzabili per molta parte della patologia bulbare, a tutto campo.

Questi nuovi OCT sono quindi una vera innovazione diagnostica, indispensabili nella diagnosi e nel follow-up di molte patologie oculari.

Per la molteplicità dell'offerta e la varietà delle possibilità d'indagine che i nuovi software offrono, è oltremodo opportuno essere in grado di discriminare i parametri che meglio identificano un buon dispositivo OCT.

Nel capitolo vengono quindi presentati i parametri su cui oggi l'industria investe per promuovere il proprio prodotto rispetto alla concorrenza.

6.1 Velocità di scansione

Tale parametro indica il numero di scansioni assiali che un OCT è in grado di effettuare nell'unità di tempo. In termini numerici questo si traduce in un valore di frequenza, espresso in A-scan/s oppure in hertz.

Una velocità di scansione elevata è un parametro altamente desiderato, in quanto permette di acquisire un maggior numero di dettagli a parità di tempo (ovvero di generare immagini a maggiore densità di pixel), oppure per acquisire immagini con maggiore velocità, riducendo la possibilità di generare artefatti da movimento oculare.

Come visto in precedenza tale parametro è dipendente dalla velocità di acquisizione del sistema, che a sua volta è composto sia da componenti hardware che software.

I primi dispositivi OCT prodotti, dotati della tecnologia TD, toccavano appena i 400 A-scans/s, mentre oggi grazie alla tecnologia Spectral si è arrivati fino a 53'000 A-scans/s. Un ulteriore passo in avanti è stato compiuto dalla tecnologia Swept Source OCT; i primi dispositivi introdotti sul mercato pochi mesi fa sono in grado di raggiungere velocità di 100'000 A-scans/s, senza sacrificare la risoluzione assiale e la qualità delle immagini ottenute. Figura 43 mostra il trend in continuo aumento del parametro a partire dai primi dispositivi commercializzati fino ad oggi.

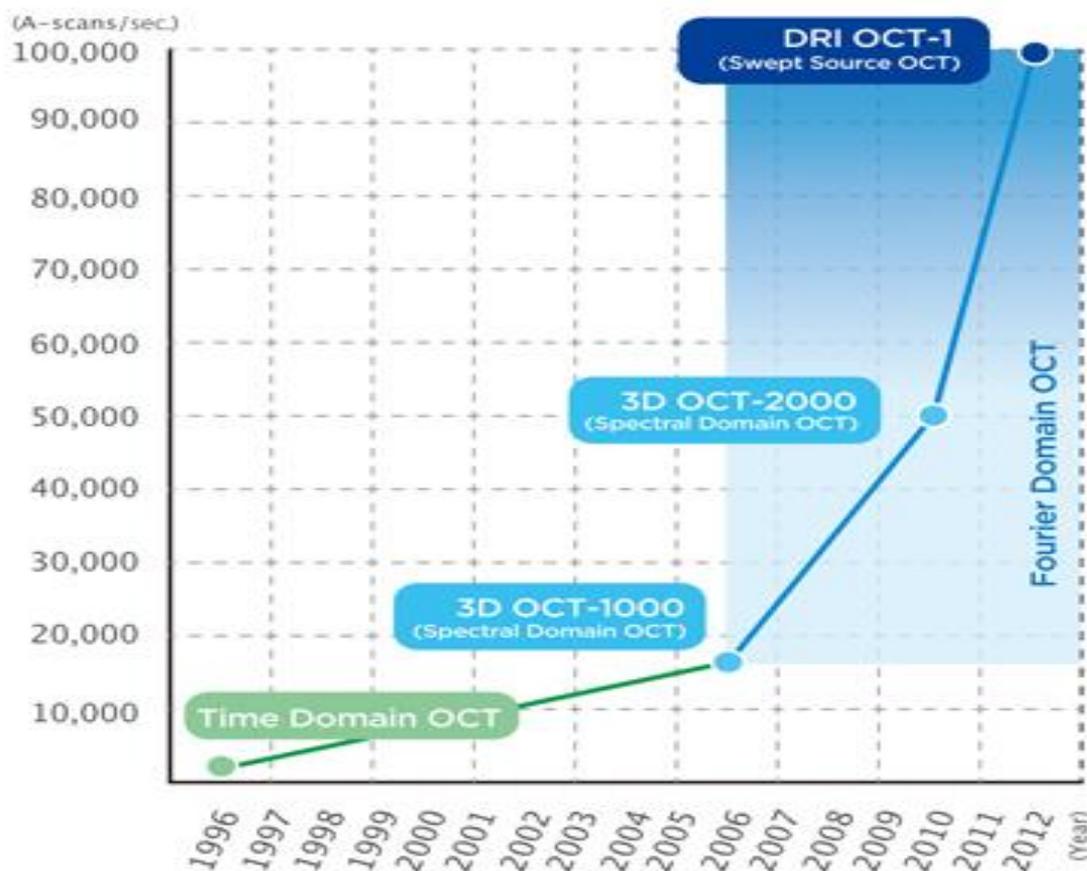


Figura 43-frequenza delle scansioni assiali OCT a partire dai primi dispositivi Time Domain fino agli attuali Spectral e Swept Source.

6.2 Eye tracker attivo

Si tratta di un componente in grado di garantire la scansione da parte del fascio OCT della stessa regione di tessuto, impostata inizialmente, al variare del movimento dell'occhio sotto esame. Una sua possibile implementazione è visualizzata in figura 44. Si dispone di due fasci di luce laser; uno è quello di un laser a scansione confocale del fondo dell'occhio e l'altro è il fascio OCT. Il laser confocale illumina costantemente la stessa zona indicata dall'operatore inizialmente ed il fascio OCT esegue la scansione sull'area illuminata al variare della posizione assunta dall'occhio durante l'esame. Sono chiaramente richieste elevata rapidità di rilevazione ed aggiustamento del fascio laser confocale in real time.

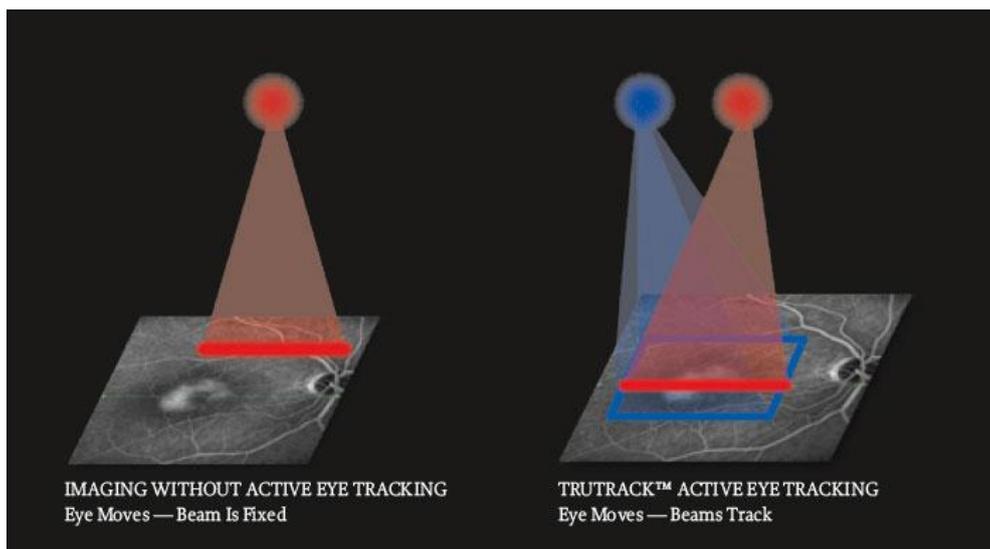


figura 44-eye tracker attivo. La regione del fondo dell'occhio di interesse viene illuminata con un fascio, che funge da riferimento, mentre con un secondo fascio si esegue la scansione.

L'eye tracker attivo è in grado di neutralizzare gli artefatti residui in aggiunta ad elevate velocità di scansione.

La certezza di produrre artefatti, in mancanza dell'eye tracker attivo, si realizza quando una singola A-scan dura più di 10 millisecondi.

Oggi questo limite è stato superato, grazie ad un avanzamento della tecnologia; tuttavia rimane il limite nella generazione di sezioni B-scan e ancor più

di immagini 3D. Infatti queste per essere prodotte, richiedono un tempo superiore a quello che occorre all'occhio per muoversi. In figura 45 è evidenziato il rischio di artefatti da movimento oculare in funzione del tempo.

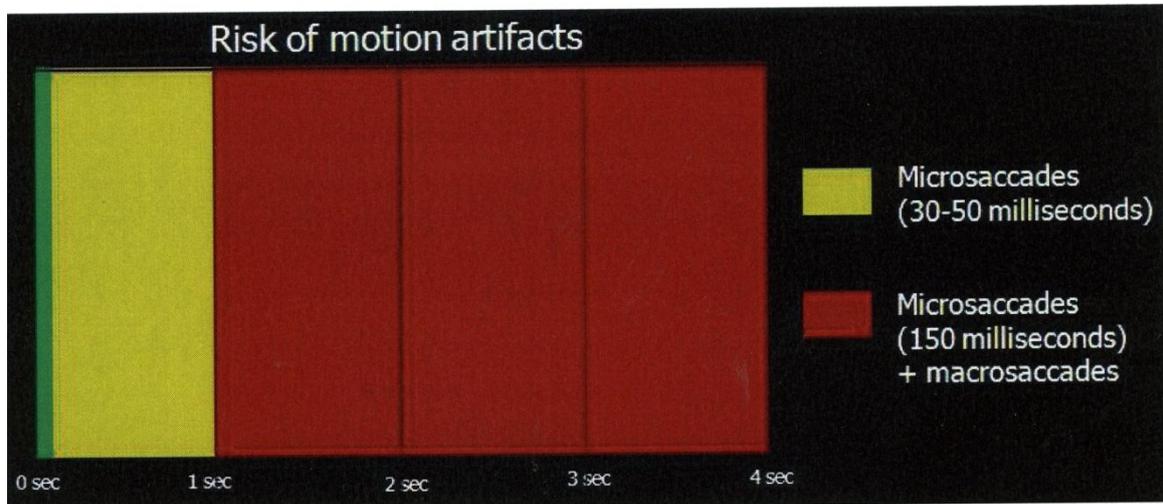


figura 45-rischio di artefatti da movimento oculare in funzione del tempo. In verde rientrano le immagini ottenute con scansioni più veloci dei movimenti dell'occhio, e quindi prive di artefatti. In giallo troviamo quelle ottenute con scansioni di tempo comparabile con i movimenti dell'occhio, e quindi aventi un discreto numero di artefatti. In rosso le scansioni che impiegano un tempo superiore, e quindi inaccettabili senza l'utilizzo dell'eye tracker.

Dall'immagine si evince che per produrre un immagine B-scan (corrispondente a 1600 A-scan), saranno necessari circa 0.04 secondi ad una velocità di scansione media di 27'000 A-scan/s (figura 46). Con un numero di B-scan superiori a tre è quindi inevitabile la produzione di artefatti da movimento oculare.

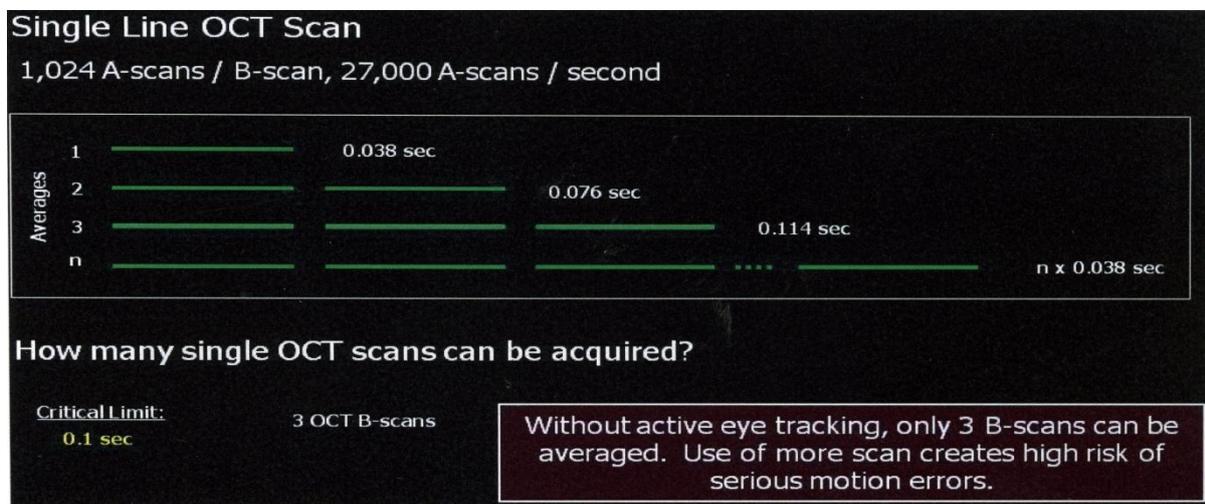


Figura 46-numero massimo di B-scan da effettuare al fine di ottenere immagini con un ridotto contenuto di artefatti, senza l'utilizzo dell'eye tracker.

Nelle figure 47 A-B-C vengono mostrati i tempi impiegati da diversi protocolli di scansione per realizzare un'immagine, al variare di alcuni parametri quali il numero di bit trasversali (o scansioni assiali) per B-scan ed il numero di B-scan acquisite.

Si nota una netta differenza tra i primi dispositivi Time Domain, in cui per acquisire una semplice scansione lineare a 512 bit/B-scan erano necessari 1.28 s, un tempo inaccettabile.

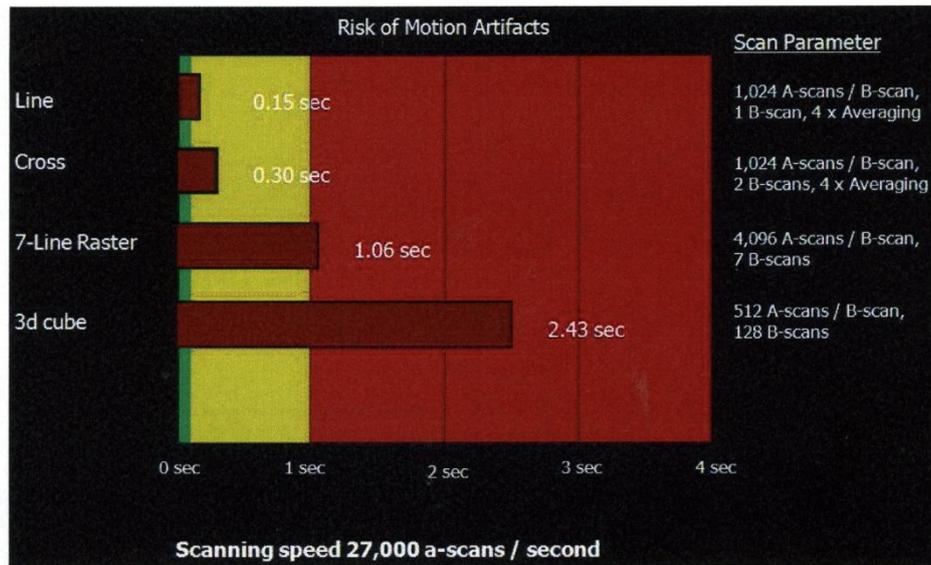


figura 47-A-tempi di scansione per parametri di scansione di alcuni protocolli standardizzati

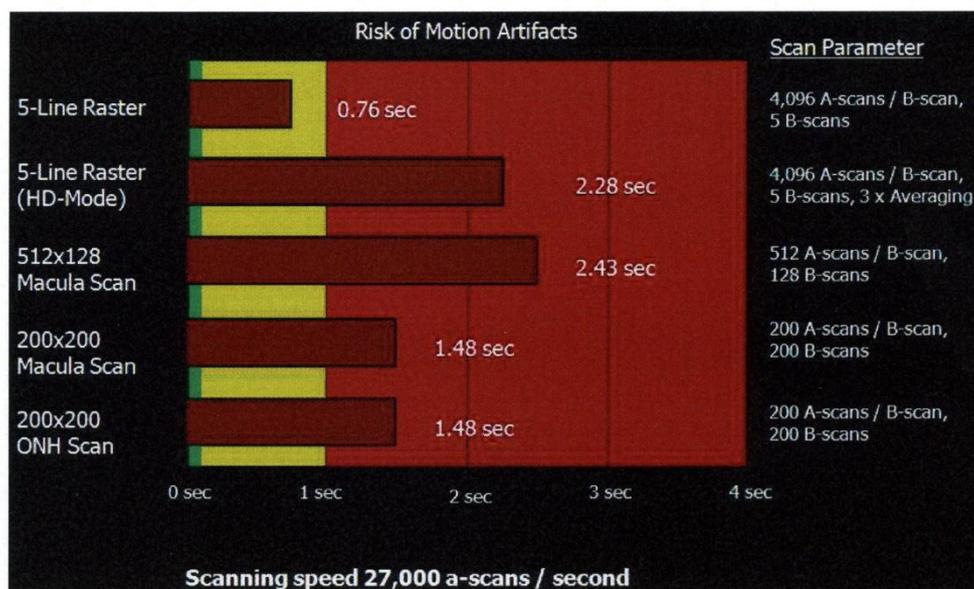


figura 47-B-tempi di scansione per parametri di scansione di alcuni protocolli standardizzati. Si nota che per scansioni volumetriche il tempo di acquisizione è inaccettabile senza eye tracker.

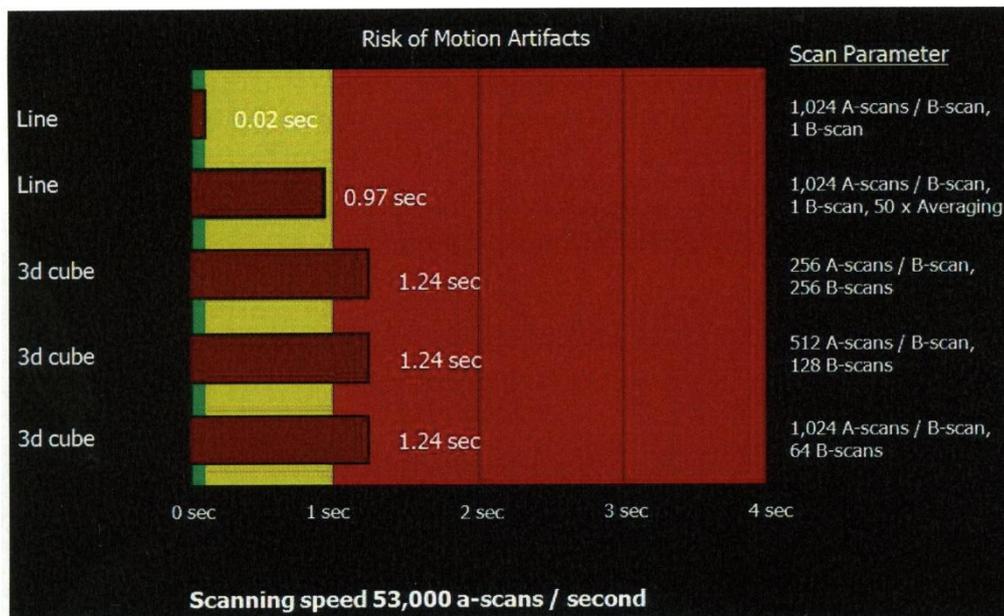


figura 47-C-tempistiche di parametri di scansione per alcuni protocolli standardizzati. Aumentando il numero di scansioni assiali per secondo si riducono sensibilmente i tempi di acquisizione,ma non abbastanza per quanto riguarda le scansioni volumetriche.

Con i moderni Spectral, grazie ad un incremento della velocità di produzione di scansioni assiali, è stato possibile ridurre notevolmente i tempi, ma ancora è richiesto troppo tempo per la produzione di immagini 3D. Questo limite può essere aggirato grazie all'impiego dell'eye tracker attivo che, mantenendo inalterati i tempi di produzione delle immagini, le rende più nitide e libere da artefatti. Il risultato è un'immagine ad elevato valore diagnostico.

6.3 Sistema di riduzione del rumore

Un dispositivo OCT dovrebbe equipaggiare questo protocollo. Si tratta di un dispositivo in grado di eliminare frequenti e fastidiosi disallineamenti assiali in fase di scansione. Non si riescono tuttavia ad eliminare scosse in senso trasversale. Tale sistema permette inoltre di ridistribuire i bit sui livelli cromatici disponibili, che numericamente vanno da 0 a 255 (nel caso di 8 bit di profondità), ottenendo immagini a maggiore contrasto e luminosità.

6.4 Sistema di allineamento automatico

Si tratta di un dispositivo in grado di riposizionare una nuova scansione esattamente nella stessa regione su cui sono stati effettuati esami precedenti, garantendo un perfetto confronto con questi. E' inoltre possibile andare ad investigare un punto nella stessa posizione geografica per due esami differenti. Tutto ciò permette di poter monitorare l'effetto prodotto da terapie curative nel tempo o l'evolversi di una specifica patologia oculare (come il glaucoma).

Alcuni dispositivi OCT di ultima generazione sono in grado di allineare l'asse fovea-disco ottico, permettendo di correggere artefatti dovuti al movimento del capo o alla rotazione degli occhi da parte del paziente.

6.5 Capacità di penetrazione del fascio

Tale proprietà dipende fundamentalmente dalla lunghezza d'onda associata al fascio di luce laser che investe il tessuto. I dispositivi OCT utilizzano un fascio laser prodotto da un diodo superluminescente (SLD) nella lunghezza d'onda di 820-840 nm per investigare le varie strutture retiniche. Tale valore di lunghezza d'onda non reagisce col tessuto chimicamente, ma genera solamente un suo leggero surriscaldamento (per effetto Joule). Maggiore è la lunghezza d'onda, tanto più elevata sarà la profondità alla quale sarà possibile spingersi. Questo principio fisico è descritto dalla legge dell'assorbimento:

$$I = I_0 e^{-2\alpha x}, \text{dove}$$

I è l'intensità del fascio emesso, I_0 è l'intensità del fascio incidente, α è un parametro strettamente correlato alla frequenza ed x è lo spessore del tessuto incidente.

Da tale equazione si comprende che un segnale arriverà tanto più in profondità quanto più il tessuto è sottile e quanto meno intensa sarà la frequenza associata al fascio incidente.

Con le ultime tecnologie introdotte sul mercato (Swept Source OCT) si è arrivati a lunghezze d'onda di 1050 nm, permettendo di ottenere la visualizzazione di tessuti in profondità con elevato livello di dettaglio.

Disporre di un'elevata lunghezza d'onda permette inoltre di visualizzare parti di tessuto anche in occhi di pazienti miopi, aventi camera oculare particolarmente lunga.

6.6 Capacità nel discriminare i vari piani retinici

E' un protocollo di elaborazione in grado di separare i singoli strati retinici. Grazie a questa separazione automatica risulta semplice il calcolo degli spessori relativi alle diverse sezioni e la visualizzazione morfologica tridimensionale dei diversi piani. La separazione automatica risulta utile anche nella visualizzazione della mappa degli spessori maculari in relazione alle diverse segmentazioni (figura 48).

Advanced layer detection algorithms and noise reduction software enables the ability to detect 7 different layers of the retina. Thickness map and caliper functions allow for detailed analysis of the desired layer.

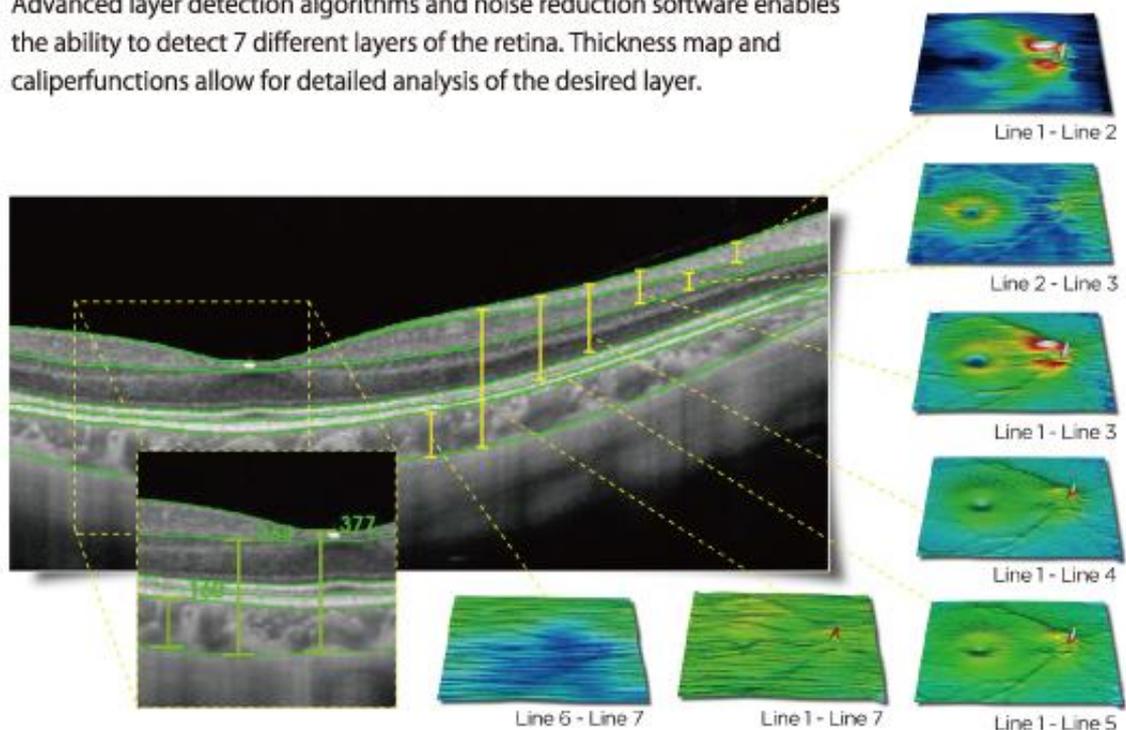


figura 48-visualizzazione di sette strati retinici,ottenuti tramite ricostruzione software a seguito di una segmentazione dello spessore maculare.

L'ausilio della parte tridimensionale risulta particolarmente efficace nel caso di valutazione pre operatoria,in modo particolare per gli interventi di chirurgia vitreo-retinica.La morfologia dei parametri di acquisizione (dimensioni e risoluzione) permette un'analisi ad ampio raggio,piuttosto che in una regione limitata ,entrando nella patologia.Le patologie sottoretiniche sono visualizzate eseguendo operazioni di taglio lungo gli assi cartesiani (cropping) o per strati (peeling).La funzione di peeling permette di suddividere lo spessore retinico in due regioni:superiore ed inferiore ed eventualmente sfogliare il volume a strati. Acquisendo in 3D sono disponibili altre due ricostruzioni:projection image e shadowgram.Entrambe si basano sui valori di riflettività media punto a punto della regione acquisita;la projection a tutto volume,mentre lo shadowgram esclude la parte di retina superiore.Tali ricostruzioni possono risultare utili nel caso di diagnosi di patologie degli strati superiori (projection) o inferiori (shadowgram).

6.7 Sistema di messa a fuoco automatica

Questa funzionalità è disponibile soltanto per OCT dotati di cSLO per ricostruire l'immagine del fondo dell'occhio.

E' una funzionalità che rende semplice l'esecuzione dell'esame per l'operatore. Basta mettere grossolanamente a fuoco l'immagine della pupilla mediante l'utilizzo del joystick. Dopodichè,premendo un singolo pulsante,la macchina automaticamente ricerca il fuoco ottimale dell'immagine SLO del fondo retinico e posiziona al centro della finestra di acquisizione l'immagine OCT,garantendo la sua corretta focalizzazione.

6.8 Elevata risoluzione spaziale

Come già detto in precedenza,per aumentare la risoluzione assiale è necessario diminuire la lunghezza di coerenza della sorgente luminosa o equivalentemente aumentare la sua ampiezza di banda,come mostrato in figura 49.In figura viene inoltre mostrato quale sia il limite teorico della larghezza di banda spettrale affinché si ottenga il valore ideale della risoluzione assiale.

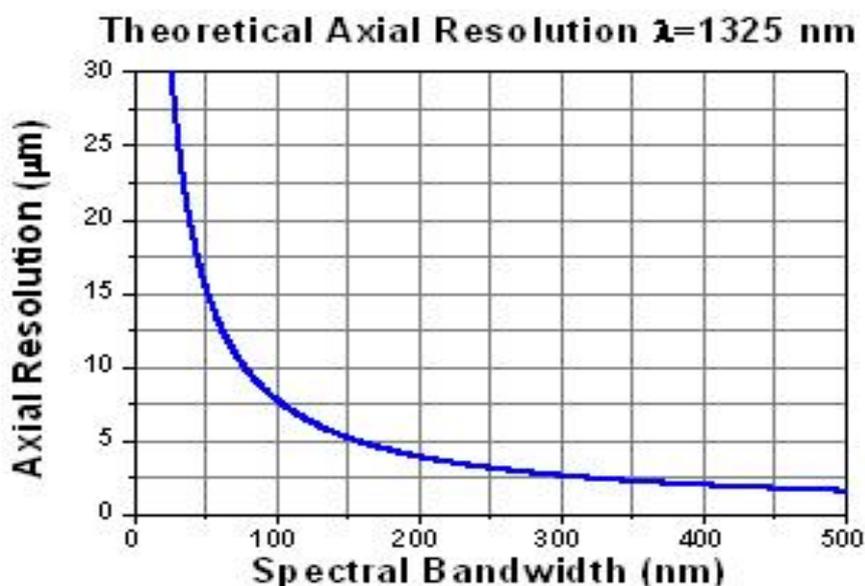


figura 49-andamento della risoluzione assiale OCT in funzione dell'ampiezza della banda spettrale della sorgente.

Valori attuali tipici di risoluzione assiale sono 5 micron per quanto riguarda quella ottica e 2.5 o per quella digitale (ottenuta mediante ricostruzione da scansione laser).

La risoluzione trasversale, invece, dipende dalle dimensioni dello spot di focalizzazione. Si ottiene un suo incremento aumentando il diametro dello spot o diminuendo la lunghezza focale. Valori attuali tipici di risoluzione trasversale sono 12-20 micron.

6.9 Immagine del fondo

Per operare una corretta diagnosi della patologia, si rende necessario acquisire in simultanea al tomogramma OCT l'immagine del fondo. Questo permette all'operatore di capire quale sia la specifica regione del fondo oculare scansionata, potendo posizionarsi, tramite cursore, su una specifica A-scan. L'immagine del fondo può essere prodotta mediante retinografo non midriatico o tramite oftalmoscopio a scansione laser confocale (figura 51). Nel primo caso si dispone di una normalissima fotocamera digitale ad elevata risoluzione di pixel, che mediante flash è in grado di catturare l'immagine del fondo a colori e creare una perfetta corrispondenza con la sezione tomografica prodotta dall'OCT. Il vantaggio nell'impiego di questa tecnica è che si ottiene un'immagine vera del fondo oculare, a differenza di un'immagine digitale, prodotta da una scansione laser.

Nel secondo caso si dispone di un fascio di luce laser, che viene focalizzato tramite un sistema di lenti verso il tessuto da esaminare; la componente retrodiffusa viene raccolta da una fessura, e poi fatta convogliare tramite una lente al detector. Il vantaggio dell'utilizzo di questa tecnica di imaging, attraverso opportuna taratura, è che si raccoglie la sola componente di luce riflessa dal piano focale. Ciò evita di acquisire anche i raggi scatterati, che contribuirebbero solamente a creare un'immagine poco nitida e sfuocata.

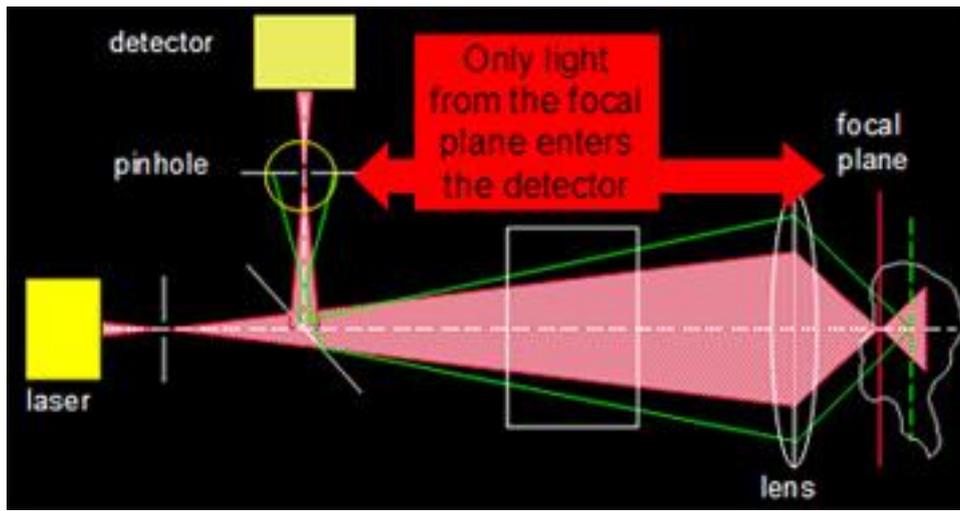


figura 50-schema di funzionamento di un oftalmoscopio laser a scansione confocale.

7 IL FUTURO DEGLI OCT E GLI SPECTRAL ATTUALI

7.1 Ottica adattativa

Il futuro degli OCT va verso un ulteriore miglioramento della definizione dei particolari strutturali, con possibilità di scansioni coroideali e con la possibilità di un'indagine vascolare non invasiva, tramite l'ausilio dell'ottica adattativa.

L'Ottica Adattiva o Adattativa (AO) è una tecnologia che consente di migliorare la qualità di un sistema ottico, agendo attivamente sul fronte d'onda del fascio luminoso, con la correzione dei disturbi indotti dal sistema stesso a causa, per esempio di disallineamenti, microvibrazioni trasmesse all'apparato, ottiche non perfette, effetti di calore, o turbolenze atmosferiche.

L'ottica adattativa, introdotta per la prima volta nel 1953, usata in molti campi, dalle macchine industriali agli apparati medicali, è stata sviluppata originariamente in astronomia, per rimuovere l'effetto delle turbolenze atmosferiche dalle lenti telescopiche, migliorando la qualità delle immagini stellari. Lo sviluppo tecnologico e la sua estensione verso altre applicazioni, tra cui l'Oftalmologia, è dipeso soprattutto dagli investimenti militari e dalla "declassificazione" di gran parte delle informazioni segrete in materia di difesa, avvenuta nel 1992.

In questo momento la tecnologia dell'ottica adattiva è in fase di sviluppo e di standardizzazione commerciale, con un ampio margine di miglioramento, soprattutto per quanto riguarda l'adattabilità agli strumenti medicali, anche dal punto di vista economico.

La storia dell'ottica adattiva in Oftalmologia è abbastanza recente: il primo sistema è stato progettato all'Università di Rochester (USA) nel 1996, con la chiara dimostrazione delle potenzialità di tali sistemi nel correggere non solo le aberrazioni di basso, ma anche quelle di alto ordine. Le immagini del fondo oculare fornite dai primi strumenti dotati di ottica adattiva hanno mostrato una risoluzione straordinaria, mai raggiunta prima: è stato, infatti, possibile osservare il mosaico fotorecettoriale foveale, con la chiara distinzione della superficie dei segmenti esterni dei coni (Fig.51).

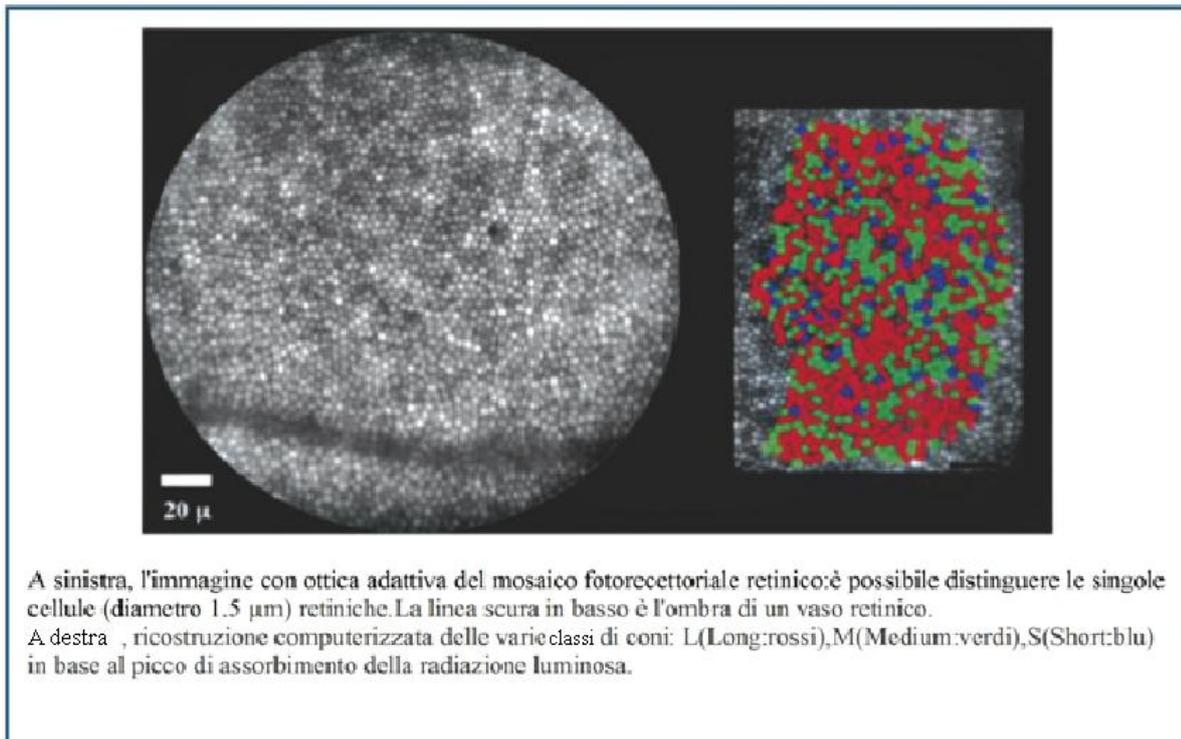


figura 51-immagine prodotta con OCT supportato di ottica adattativa

Con un miglioramento della qualità delle ottiche, che azzereranno ogni aberrazione luminosa nel percorso all'interno del bulbo oculare, sarà possibile ottenere maggiore qualità e dinamicità dei risultati ed una visione quasi citologica della struttura corioretinica; inoltre, non è azzardato prevedere la possibilità di una valutazione anche emoreologica. L'aumentata qualità di risoluzione di questa nuova generazione di OCT consentirà, in un futuro prossimo, di varcare il limite dell'EPR ed arrivare alla corioide, segmento anatomico poco conosciuto, indagato solo in parte dall'esame ICG e dall'ecografia B-Scan. La qualità migliorata delle ottiche adattive sarà inoltre capace di risolvere anche il limite attuale della risoluzione laterale o trasversale degli OCT Spectral. La risoluzione assiale in profondità nel tessuto è infatti arrivata ad una soglia di 2- 3 micron, sufficiente per una discriminazione cellulare della maggior parte delle strutture retiniche, mentre, si dovrà lavorare ancora molto sulla risoluzione trasversale, invariata attualmente e molto meno soddisfacente, con valori tra 12 e 20 micron, che escludono la possibilità di individuare le singole cellule.

L'EPR è a stretto contatto con i segmenti esterni dei fotorecettori, tanto che insieme costituiscono un'unica unità morfo-funzionale. E' stato ampiamente

dimostrato come senza le cellule dell'EPR, il fotorecettore non possa sopravvivere, e cada velocemente nel processo degenerativo dell'apoptosi. La funzione dell'EPR è principalmente quella di regolare il normale turnover dei segmenti esterni dei fotorecettori, fagocitandoli se invecchiati o non funzionanti.

La diagnosi precoce ed il trattamento dei disturbi retinici sono stati, fino a pochi anni fa, in gran parte ostacolati dall'impossibilità di visualizzare le strutture microscopiche nell'occhio umano vivente. In molti casi la patologia retinica è diagnosticata solo dopo la comparsa di danni ormai irreversibili. La diagnosi precoce e l'appropriato trattamento sono fondamentali per ottenere i massimi risultati; ciò comporta la necessità di sviluppare strumenti sensibili ai cambiamenti specifici, proprio come la perdita dei fotorecettori e le modifiche dell'EPR. L'aumento del contrasto e del potere di risoluzione offerto dalle ottiche adattive agli OCT Spectral è in grado di raggiungere questo scopo.

Gli Spectral già ora s'inoltrano nella coroide, evidenziando, in modo preciso i vasi di Haller e Sattler e lo spazio supracoroideale fino alla sclera. La possibilità di superare con migliore risoluzione l'EPR, utilizzando le ottiche adattive, permetterà in modo più dettagliato lo studio della coroide, con la possibilità di avere risposte più precise sulle membrane neovascolari in formazione, oltre che sulle alterazioni vascolari retiniche per patologie sistemiche.

Il tessuto coroideale presenta la più estesa vascolarizzazione per millimetro quadrato di tessuto dell'intero corpo umano, superando notevolmente sia il muscolo cardiaco sia ogni altro distretto, compreso quello retinico. La possibilità di indagare in modo non invasivo tale distretto, anche dal punto di vista emodinamico, aprirà quindi sicuramente la strada verso nuove frontiere di conoscenza.

Probabilmente l'uso delle ottiche adattive sarà attuato in modo complementare all'indagine tomografica Spectral Domain, come possibilità aggiuntiva per sezioni ponderate di tessuto topograficamente già indagato, come indagine suppletiva d'approfondimento morfofunzionale. La possibilità futura di avere dei data base di riferimento permetterà confronti morfologici più serrati tra il normale ed il patologico, anche per lo studio della coroide, capitolo in parte nuovo per questa metodica. Con gli OCT Spectral Domain si riapre, ancora una volta, il confronto culturale sulla validità clinico-diagnostica tra il dato strutturale e quello funzionale, tra il rilievo morfologico e quello fisiologico, tra il dato oggettivo e

quello soggettivo, nell'indagine precoce e nel follow-up delle affezioni oculari con mezzi strumentali. Con gli OCT Spectral forniti di ottiche adattive questo confronto potrà forse finalmente trovare una risoluzione unitaria, con l'armonizzazione tra i dati funzionali ed emodinamici, quelli istologici e ultrastrutturali.

7.2 Conclusioni

La strumentazione OCT Spectral Domain attuale permette una qualità d'immagine molto elevata ed iconograficamente molto avvincente, con un livello diagnostico di tutto rilievo e di alta risoluzione. L'avvento dell'ottica adattiva permetterà altre straordinarie possibilità di immagini, rendendo ancora più affascinante e futuristica la disciplina, e l'indagine tomografica ancor più in primo piano, nel panorama strumentale oftalmologico. Il problema sarà il costo delle ottiche adattive. Indiscrezioni indicano costi tra i 15 e i 25 mila dollari, in aggiunta naturalmente al prezzo base dello strumento. Si spera che la diffusione e la concorrenza industriale possano mitigare tali costi, per poter usufruire presto e diffusamente di tale affascinante novità tecnologica nei nuovi OCT.

BIBLIOGRAFIA

Schuman J.S.-Puliafito C.A.-Fujimoto J.C. “*Tomografia a coerenza ottica delle patologie oculari*”. Verduci Editore,2006.

Mark E. Brezinski. “*Optical coherence tomography: principles and applications*”. Elsevier , 2006

John G. Webster. “*Strumentazione Biomedica. Progetto ed applicazioni*”. EdiSES, 2010

Optical Coherence Tomography For the Proseminar Informatik in der Medizin,
Lorenz Diener, Yaokun Zhang,January 26, 2011

Relazione 3D-OCT versione 2.1, marzo 2012

Topcon brochure DRI-OCT,settembre 2012

SITOGRAFIA

http://en.wikipedia.org/wiki/Optical_coherence_tomography

<http://www.heidelbergengineering.com/>

<http://www.topcon-medical.it/it/categories/27-diagnostics/#products/it/categories/27-diagnostics/28-tomografo-a-coerenza-ottica/>

[http://www.meditec.zeiss.com/C125679E00525939/ContainerTitel/CirrusOCT/\\$File/software-upgrades-60.html](http://www.meditec.zeiss.com/C125679E00525939/ContainerTitel/CirrusOCT/$File/software-upgrades-60.html)

<http://it.wikipedia.org/wiki/Laser>

[http://it.wikipedia.org/wiki/Coerenza_\(fisica\)](http://it.wikipedia.org/wiki/Coerenza_(fisica))

[http://it.wikipedia.org/wiki/Interferenza_\(fisica\)](http://it.wikipedia.org/wiki/Interferenza_(fisica))

http://www.biophot.caltech.edu/publications/pdf/Yaqoob_Dec2005_BioTechniques.pdf

<http://www.amedeolucente.it/pdf/evoluzioneOCT.pdf>

<http://www.fondazionemacula.it/pagine/tomografiaacoerenzaottica.php>

<http://www.aldovarotto.org/occhio/oct.htm>

