

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
CAMPUS DI CESENA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA

CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

TOMOGRAFIA A COERENZA OTTICA:
PRINCIPI E APPLICAZIONI

Elaborato in
Ingegneria clinica

Relatore

Dott. Claudio Lamberti

Presentato da

Giacomo Nanni

Anno Accademico 2015-2016

*Ai miei genitori,
per tutto quello che sono.*

Sommario

INTRODUZIONE.....	4
PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO.....	5
INTERFEROMETRIA.....	5
INTERFEROMETRIA A BASSA COERENZA.....	8
GENERAZIONE DELLE IMMAGINI E PROPRIETA' OTTICHE DEL TESSUTO.....	11
SENSIBILITA'.....	15
RISOLUZIONE SPAZIALE.....	16
DENSITA' DEI PIXEL E TEMPO DI ACQUISIZIONE DELL'IMMAGINE.....	18
FUNZIONAMENTO.....	20
TIME-DOMAIN OCT.....	21
FREQUENCY DOMAIN OCT.....	22
CONFRONTO TRA LE DIVERSE MODALITA'.....	25
CONFRONTO CON ALTRE TECNICHE DI IMAGING.....	27
APPLICAZIONI CLINICHE.....	29
OFTALMOLOGIA.....	30
INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI OCT DELLA RETINA NORMALE.....	31
INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI DI OCT DELLE PATOLOGIE RETINICHE.....	32
CARATTERI ASSOCIATI ALLA PATOLOGIA.....	33
CARDIOLOGIA.....	35
LIMITI.....	36
RILEVAZIONE DI PLACCHE VULNERABILI.....	36
GUIDA DURANTE L'INTERVENTO ALLE CORONARIE.....	37
VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA VASCOLARE DOPO L'IMPIANTO DI STENT CORONARICO.....	38
COPERTURA DELLO STENT.....	38
VALUTAZIONE DI TROMBOSI DELLO STENT.....	39
VALUTAZIONE DI RESTENOSI DELLO STENT.....	40
NEOATEROSCLEROSI.....	40

ONCOLOGIA.....	41
CANCRO DELLA PELLE NON MELANOMA	42
MELANOMA MALIGNO.....	42
CANCRO ESOFAGEO.....	43
CANCRO CERVICALE.....	44
CANCRO AL SENO	45
CANCRO AL POLMONE	46
INNOVAZIONI TECNOLOGICHE E SVILUPPI FUTURI.....	48
CONCLUSIONI	49
BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	50
ARTICOLI DI RIFERIMENTO	50

INTRODUZIONE

La tomografia a coerenza ottica (Optical Coherence Tomography, OCT) rappresenta fondamentalmente una nuova modalità di diagnostica per immagini non invasiva e ad alta risoluzione. L'OCT fornisce immagini, sotto forma di sezioni trasversali o tomografiche, delle microstrutture dei tessuti biologici tramite la misura del ritardo dell'eco e dell'intensità della luce retrodiffusa o riflessa dal campione in analisi.

L'OCT è una potente tecnica poiché fornisce in tempo reale immagini in situ delle strutture tissutali normali o patologiche, con una risoluzione da 1 a 15 micron, che è da uno a due ordini di grandezza maggiore rispetto alle tecniche per immagini convenzionali come ultrasuoni, risonanza magnetica o tomografia computerizzata. Tutto questo senza la necessità di ottenere e analizzare un campione tramite biopsia e studio istopatologico. Sin dall'inizio della sua utilizzazione nel 1991, l'OCT è stata impiegata in un vasto spettro di applicazioni cliniche. Tuttavia fino ad oggi l'OCT ha avuto il suo più ampio impatto clinico in oftalmologia, nell'ambito della diagnostica retinica per immagini. In strutture non trasparenti, diverse da quelle oculari, la profondità massima esplorabile è limitata a 2-3 mm a causa dei fenomeni di attenuazione secondari e alla dispersione della luce. La "biopsia ottica" non escissionale tramite OCT e la possibilità di visualizzare la morfologia tissutale in tempo reale sotto la guida dell'operatore può essere sfruttata sia per ottenere immagini diagnostiche sia come guida all'intervento. Inoltre, i numerosi sviluppi fatti dalla tecnologia OCT hanno portato ad alte velocità di acquisizione e, grazie all'utilizzo di sorgenti laser di ultima generazione, risoluzioni assiali dell'ordine di 1 micrometro.

Dunque, la tomografia a coerenza ottica può essere sfruttata:

- Quando la biopsia escissionale è pericolosa o impossibile, come nel caso dell'occhio, delle arterie coronarie o del tessuto nervoso.
- Quando si rischiano errori di campionamento. La biopsia seguita dall'esame istopatologico è la procedura standard nella diagnosi tumorale: tuttavia, se la biopsia manca la lesione, si ottiene un risultato falso negativo. La tomografia a coerenza ottica può essere usata come guida alla biopsia in modo da ridurre errori nel prelievo del campione.
- Come guida alla procedura d'intervento, in associazione alle procedure di cateterismo, endoscopia e laparoscopia. La capacità di vedere al di sotto della superficie dei tessuti permette una corretta valutazione durante le procedure chirurgiche.

PRINCIPI DI FUNZIONAMENTO

La tomografia a coerenza ottica può essere pensata essenzialmente come una sorta di “ecografia con la luce”. Un raggio di luce alle lunghezze d’onda prossime all’infrarosso è inviato nel tessuto o campione per essere riflesso. La struttura interna viene valutata non invasivamente attraverso la misurazione del ritardo dell’eco e dell’intensità della luce riflessa o retrodiffusa a seconda delle caratteristiche della microstruttura alle differenti profondità. Le immagini bidimensionali sono realizzate elaborando scansioni longitudinali seriate e il risultato è visualizzato come una sezione trasversale in due dimensioni. Dal momento che la luce viaggia molto più veloce del suono, non è possibile eseguire una misura diretta degli echi ottici. La misurazione è realizzata sfruttando l’interferometria a bassa coerenza.

INTERFEROMETRIA

L’interferometria fa uso del principio di sovrapposizione, per il quale l’onda risultante dalla combinazione di onde separate ha proprietà legate a quelle dello stato originale delle onde.

La luce è un’onda elettromagnetica formata da campi elettrici e magnetici che oscillano o variano periodicamente nel tempo e nello spazio. Nel vuoto sappiamo che la sua velocità è pari a $c = 3 \cdot 10^8$ m/s. In mezzi di propagazione differenti, quali l’acqua, il vitreo o il vetro, la velocità di propagazione della luce si riduce. In particolare tale velocità è pari a c/n , dove n è l’indice di rifrazione del mezzo.

Poiché la luce è un’onda composta da campi magnetici ed elettrici oscillanti, quando due raggi di luce sono combinati, si realizza un fenomeno conosciuto come interferenza. I campi possono interferire in maniera sia costruttiva sia distruttiva a seconda della fase relativa delle loro oscillazioni. Quando due raggi di luce si sovrappongono in modo tale che i loro campi sono in fase, interviene un’interferenza costruttiva e la luce risultante è più intensa. Al contrario, quando i raggi di luce si sovrappongono in modo tale che i campi non sono in fase, interviene un’interferenza distruttiva, per cui i campi tendono ad annullarsi e la luce risultante è meno intensa.

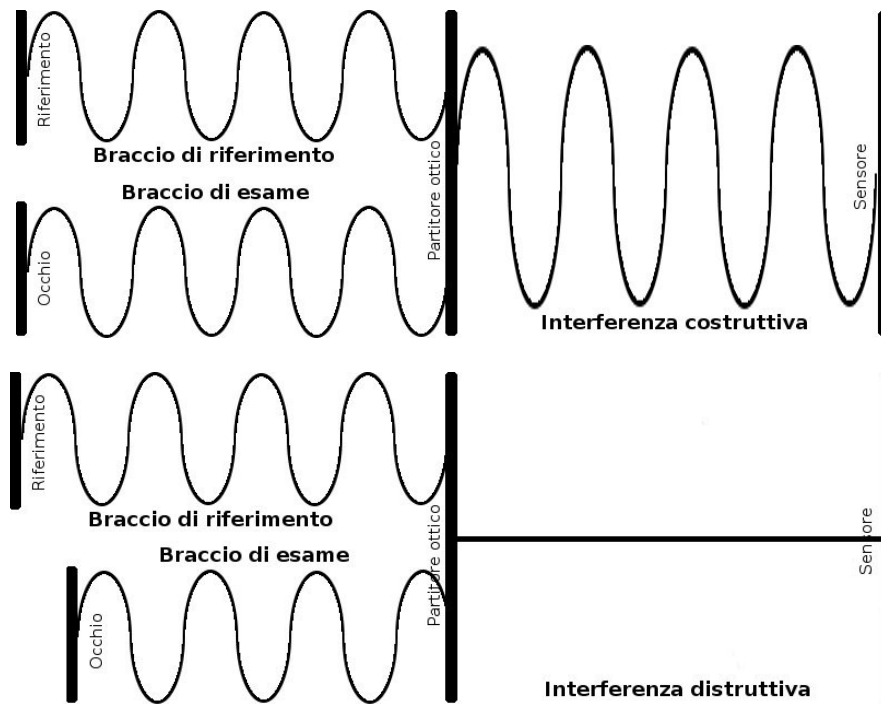


Figura 1

Due onde generate da sorgenti a frequenza differente non danno luogo ad interferenza, perché oscillazioni con periodo diverso sono disaccoppiate in potenza. Consideriamo allora il caso di due onde che si sovrappongono con la medesima lunghezza d'onda.

Un interferometro ottico funziona facendo sovrapporre o interferire le onde che compongono due raggi luminosi. La figura 2 mostra un interferometro semplice di tipo Michelson.

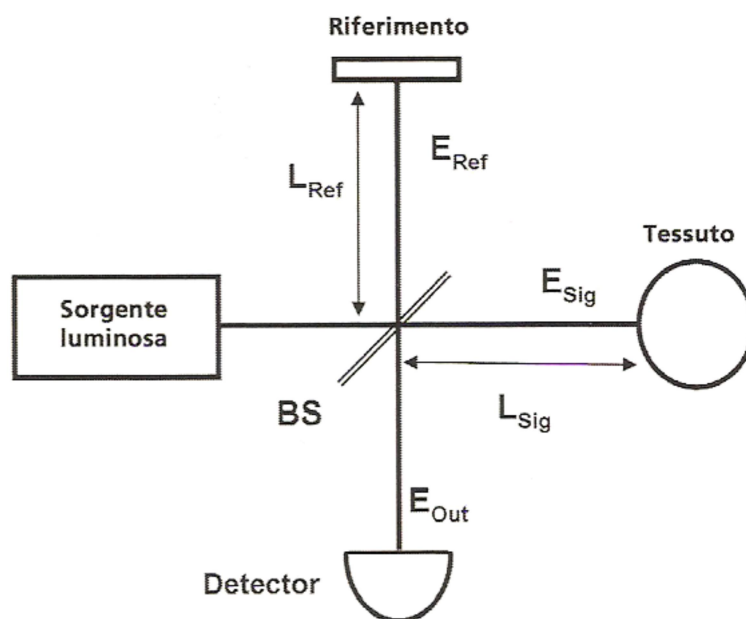


Figura 2

Un'onda luminosa incide su uno specchio semiriflettente o su un prisma parzialmente riflettente che divide la luce in due raggi: uno funziona come raggio di riferimento, l'altro come raggio di misurazione o raggio di segnale. I raggi percorrono determinate distanze, detti cammini ottici, nelle due vie o bracci dell'interferometro. La differenza di cammino ottico crea una differenza di fase tra i due segnali.

La differenza di fase, che può essere accuratamente misurata in termini di interferenza costruttiva o distruttiva, può essere dovuta alla diversa lunghezza della traiettoria stessa o un cambiamento nell'indice di rifrazione lungo il percorso, potendo quindi risalire ad ognuno di questi parametri. Le differenze di fase tra i due raggi danno luogo ad una variazione dell'intensità della luce su un rivelatore. La misura dell'intensità risultante della luce dopo il mescolarsi di questi due raggi è nota come rilevamento omodino. Il raggio di misurazione è riflesso o diffuso dal tessuto e viene rappresentato da un raggio di segnale $E_{sig}(t)$, mentre il raggio di riferimento $E_{ref}(t)$ è riflesso da uno specchio di riferimento. I raggi di segnale e di riferimento interferiscono a livello di uno specchio parzialmente riflettente (prisma) e l'intensità del raggio di emissione risultante nell'interferometro è misurata da un rivelatore. L'emissione risultante nell'interferometro è costituita da un raggio luminoso con un campo elettrico $E_{out}(t)$ che è la somma dei campi derivanti dai raggi di segnale e di riferimento. L'equazione seguente fornisce la formula matematica del campo elettrico risultante a livello dell'interferometro:

$$E_{out}(t) \sim E_{ref}(t) + E_{sig}(t) \quad (1)$$

Il rivelatore misura l'intensità dell'emissione luminosa nell'interferometro. L'intensità è proporzionale al quadrato del campo elettrico. Ai fini di questa analisi supponiamo che il raggio di segnale consista di una singola riflessione ad una data distanza piuttosto che di echi multipli, come nel caso di una misurazione reale. Se la lunghezza della traiettoria di segnale è L_{sig} e la lunghezza della traiettoria di riferimento L_{ref} , la differenza tra le traiettorie sarà $\Delta L = L_{sig} - L_{ref}$. L'intensità di emissione dell'interferometro oscillerà come una funzione della differenza ΔL delle traiettorie per effetto dell'interferenza. La funzione che fornisce l'intensità di emissione dell'interferometro è la seguente:

$$I_{out}(t) \sim \frac{1}{4} |E_{ref}|^2 + \frac{1}{4} |E_{sig}|^2 + \frac{1}{2} E_{ref} \cdot E_{sig} \cdot \cos \left[2 \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \Delta L \right] \quad (2)$$

Se la posizione dello specchio di riferimento viene variata, la lunghezza della traiettoria che percorre la luce in un braccio di riferimento cambierà e la luce di riferimento avrà un ritardo variabile. Il raggio di riferimento può interferire con il raggio di misurazione proveniente dal campione in maniera distruttiva o costruttiva. Si osserveranno gli effetti dell'interferenza sull'intensità di emissione in funzione della variazione della traiettoria di riferimento ottenuta con la traslazione dello specchio di riferimento. Il segnale di emissione oscilla tra un massimo e un minimo ogni volta che la differenza di traiettoria totale delle onde propagatesi varia di una lunghezza d'onda, oppure quando la posizione dello specchio di riferimento cambia di mezza lunghezza d'onda.

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 la luce che viaggia su un percorso di riferimento noto.

Se il raggio di luce è coerente ed ha una lunghezza di coerenza elevata, si osserveranno oscillazioni d'interferenza per un ampio intervallo tra le relative differenze di lunghezza di traiettoria ΔL , cioè delle traiettorie di riferimento e di segnale. Per le applicazioni in ambito ottico o OCT, è necessario misurare con precisione la posizione di una struttura in un tessuto. In questo caso è utilizzata la luce con una lunghezza di coerenze breve, o luce a bassa coerenza. La proprietà della coerenza è una proprietà statistica della luce, che indica la capacità di mantenere una certa relazione di fase con se stessa durante la sua propagazione. Questo concetto è stato generalizzato a tutti i fenomeni ondulatori, dall'acustica alla meccanica quantistica. Il fenomeno macroscopico più noto dovuto alla coerenza di fase è quello dell'interferenza. Infatti mentre fasci di luce coerenti (come quelli prodotti da un laser) possono produrre facilmente fenomeni di interferenza, con la normale luce prodotta dal sole o da una lampadina, bianca o resa monocromatica con un opportuno filtro, l'interferenza si vede solo in casi particolari. La coerenza della luce può essere caratterizzata da una distanza, la lunghezza di coerenza, oltre la quale la luce è coerente e non ha discontinuità statistica della fase. La lunghezza di coerenza è inversamente proporzionale alla sua frequenza o ampiezza di banda. Si può inoltre definire come tempo di coerenza, l'intervallo medio di tempo nel quale l'onda oscilla in un modo prevedibile. Durante questo intervallo essa compirà un certo numero di oscillazioni prima di cambiare fase. Il prodotto tra il tempo di coerenza e la velocità della luce è pari alla lunghezza di coerenza. Un'onda perfettamente monocromatica sarebbe descrivibile come una perfetta sinusoidale,

la cui lunghezza di coerenza sarebbe infinita. Una lampada comune ha una lunghezza di coerenza di frazioni di millimetro, mentre alcuni laser arrivano anche a qualche decina di chilometri. La differenza di lunghezza tollerabile tra i bracci di un interferometro dà una misura del tempo di coerenza della sorgente usata.

La luce a bassa coerenza è composta da oscillazioni del campo elettrico che presentano modificazioni statistiche della fase in funzione del tempo e dello spazio. La luce a bassa coerenza non è costituita da un'unica frequenza o lunghezza d'onda, ma è composta da una dispersione di differenti frequenze e lunghezze d'onda, cioè presenta un'ampiezza di banda. Concettualmente, è anche possibile pensare alla luce a bassa coerenza come composta da una serie continua di piccole oscillazioni che hanno durata uguale alla lunghezza di coerenza. Questa lunghezza di coerenza determina la risoluzione assiale dell'OCT.

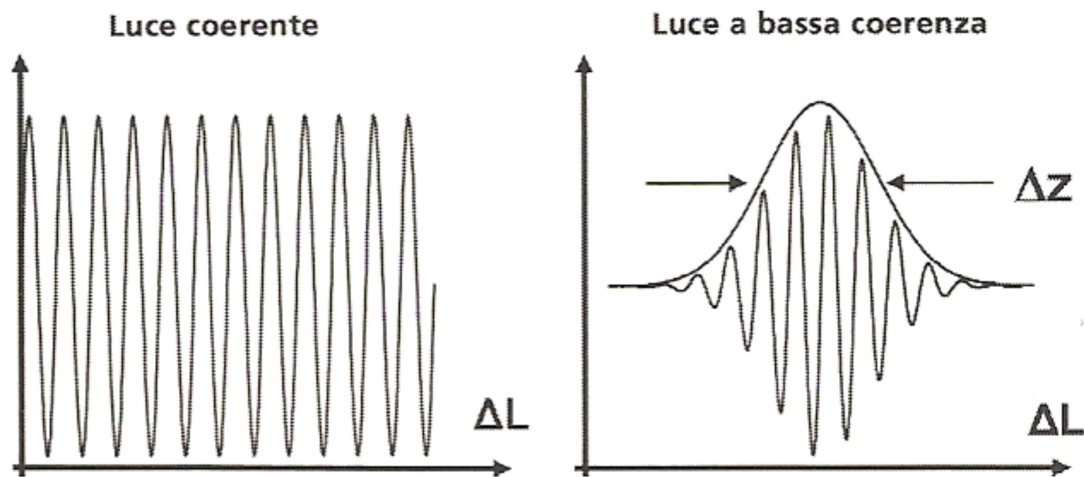


Figura 3

Utilizzando una luce a bassa coerenza, quando le traiettorie dell'interferometro sono strettamente corrispondenti alla lunghezza di coerenza della luce (ΔL minore della lunghezza di coerenza), si può rilevare interferenza. Tuttavia, se le lunghezze delle traiettorie differiscono di molto, allora i campi che provengono dai due raggi non sono coerenti o correlati e non c'è interferenza. La lunghezza Δz oltre la quale non è presente interferenza, viene determinata dalla lunghezza di coerenza della luce. Di conseguenza, il ritardo dell'eco può essere determinato valutando l'interferenza a livello del rilevatore quando viene variata la lunghezza della traiettoria del braccio di riferimento. L'interferometro misura il ritardo dell'eco e l'intensità della luce correlando il raggio riflesso o diffuso con quello di riferimento che ha un ritardo noto.

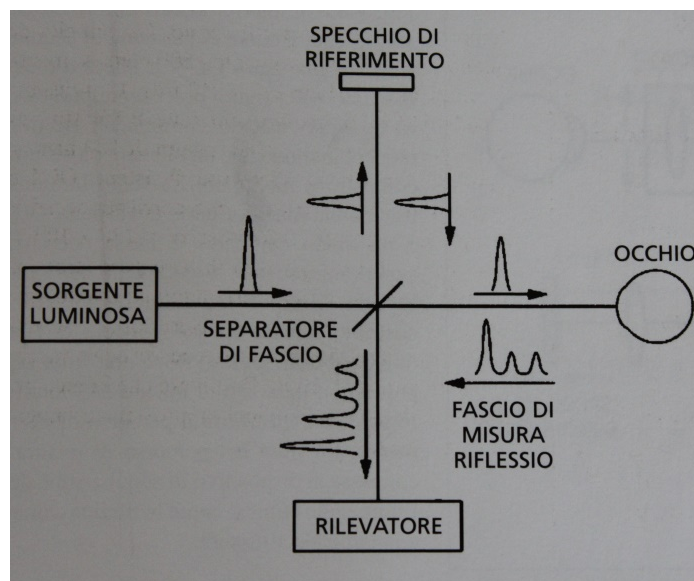


Figura 4

I progressi tecnologici nell'ambito delle fibre ottiche e delle tecnologie di comunicazione fotonica hanno reso possibile la progettazione di un sistema di misura estremamente compatto, robusto ed a basso costo che usa fibre ottiche e fonti luminose a diodo superluminescente. La figura 5 mostra una rappresentazione schematica della versione a fibre ottiche dell'interferometro.

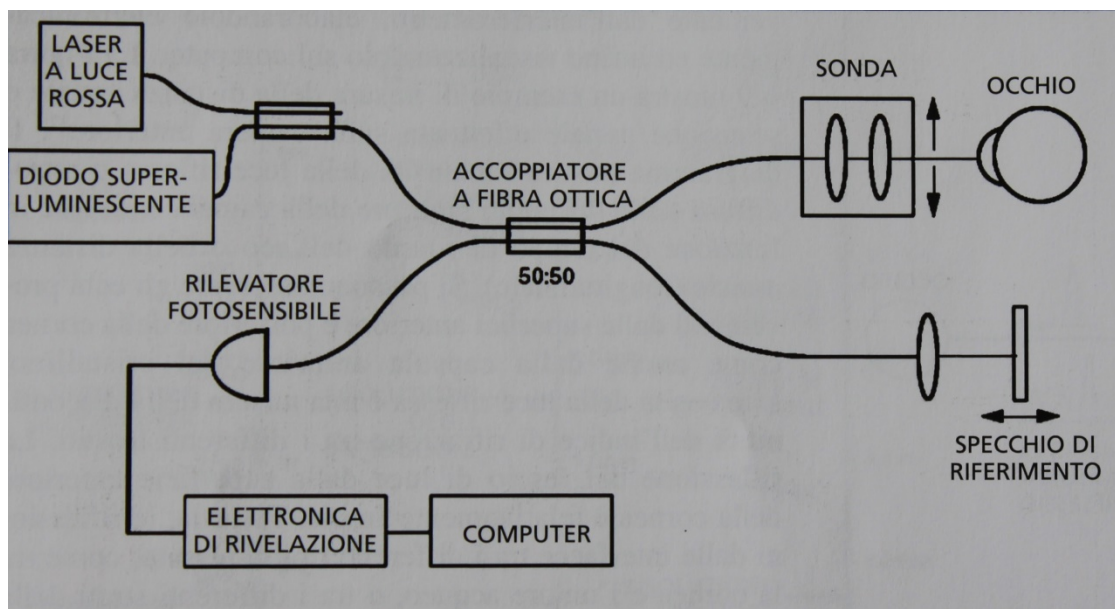


Figura 5

GENERAZIONE DELLE IMMAGINI E PROPRIETA' OTTICHE DEL TESSUTO

L'OCT genera immagini del tessuto sotto forma di sezione trasversale, che dipendono dalla riflessione o diffusione della luce proveniente da strutture a differenti profondità. Dal momento che la luce che raggiunge gli strati più profondi deve passare attraverso quelli più superficiali, si possono verificare effetti di ombreggiamento.

La luce incidente sul tessuto 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, in contrasto con le lunghezze d'onda nello spettro visibile che producono effetti fotochimici. La potenza ottica media incidente usata nella diagnostica OCT è estremamente bassa, per cui le variazioni locali di temperatura sono trascurabili ed ampiamente comprese entro i limiti di sicurezza. La diffusione ottica è una proprietà dei mezzi eterogenei e si verifica a causa delle variazioni spaziali nell'indice di rifrazione all'interno del tessuto. Infine, la diffusione ottica comporta che la luce incidente sia proiettata in direzioni multiple. La luce che inverte completamente la direzione quando è diffusa è chiamata retrodiffusa. La riflessione della luce si può verificare anche quando essa incide sull'interfaccia tra due materiali omogenei con indice di rifrazione differente. Nei tessuti che assorbono fortemente o che diffondono, l'intensità del fascio incidente decresce esponenzialmente con la profondità, ad un tasso che dipende dal coefficiente di assorbimento o di diffusione.

L'acquisizione OCT si realizza rivelando il ritardo dell'eco e l'intensità della luce retrodiffusa e riflessa. Quando un fascio di luce incide sul 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 rivelato dallo strumento OCT. L'acquisizione tramite OCT dipende dalla capacità di misurare il tempo di percorrenza della luce rivelata, in modo da distinguere gli echi riflessi, provenienti dalle strutture tissutali a differenti profondità. Inoltre l'OCT sfrutta anche le proprietà spaziali del fascio focalizzato, per eliminare la luce diffusa non voluta. Come risultato, l'immagine OCT si può considerare composta da una "singola luce retrodiffusa". La potenza del segnale OCT proveniente da una particolare struttura tissutale ad una determinata profondità è definita dalla quantità di luce incidente che viene trasmessa senza essere

assorbita o diffusa, dalla percentuale di questa luce che è direttamente retrodiffusa e dalla frazione di luce direttamente retrodiffusa che torna al rivelatore. Quando avviene un forte assorbimento o diffusione, la luce è fortemente attenuata e può verificarsi ombreggiamento delle strutture più profonde. È importante sottolineare che, sebbene le immagini OCT riportino le dimensioni reali delle strutture esaminate, il contrasto nelle immagini risulta da meccanismi differenti rispetto all'istopatologia.

Il più semplice tipo di misura che può essere compiuto con OCT è analogo alla misura di lunghezze assiali o distanze effettuate con il sistema di scansione ad ultrasuoni A-mode. I dati inerenti alle distanze o allo spessore dei tessuti sono ottenuti rivelando il segnale in uscita proveniente dall'interferometro, elaborandolo elettronicamente ed infine visualizzandolo sul computer. Il diagramma mostra l'intensità della luce riflessa o retrodiffusa in funzione del tempo di ritardo dell'eco o della distanza assiale. L'intensità della luce riflessa è una misura della discontinuità dell'indice di rifrazione tra i differenti tessuti. Lo spessore del tessuto è calcolato misurando il ritardo dell'eco ottico e moltiplicandolo per la velocità della luce nel tessuto. La velocità della luce nel tessuto è data dalla velocità della luce nel vuoto, moltiplicata per l'indice di rifrazione del tessuto.

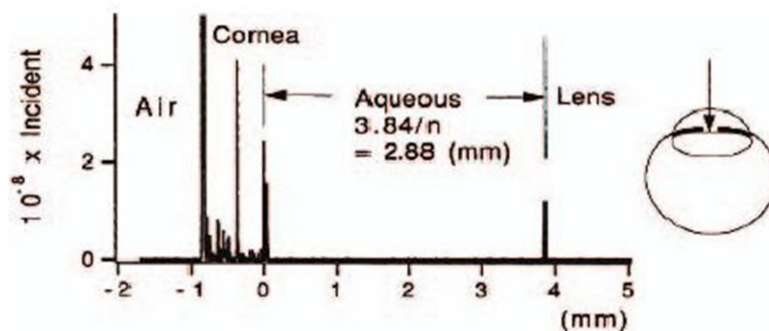


Figura 6. Esempio di A-scan

L'acquisizione delle immagini a sezione tramite OCT si ottiene effettuando misurazioni assiali successive o scansioni A-mode del tessuto, a differenti posizioni trasversali, con metodo analogo all'acquisizione d'immagini con ultrasuoni B-mode. Si eseguono successive, rapide scansioni A-mode, mentre il fascio ottico si sposta in direzione trasversale. Il risultato è un insieme di molte scansioni assiali, dove ogni scansione rappresenta la riflessione o retrodiffusione della luce in funzione della profondità all'interno del tessuto.

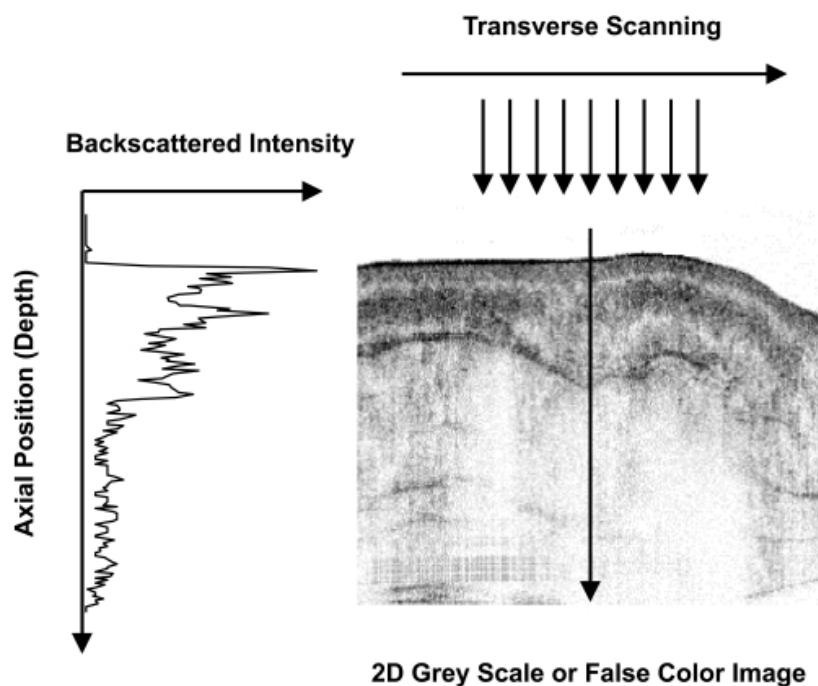


Figura 7

Le differenti scansioni descrivono l'informazione assiale ad una determinata posizione trasversale. Per ottenere la visualizzazione, quest'insieme di dati bidimensionali viene elaborato al computer e visualizzato come immagine in scala di grigi o a falsi colori. La rappresentazione dell'immagine in scala di grigi è diffusamente utilizzata nella diagnostica per immagini tramite ultrasuoni ed ha il vantaggio di dare una buona interpretazione intuitiva dell'immagine. Il bianco e il nero corrispondono rispettivamente alle intensità più forti e più deboli del segnale ottico riflesso o retrodiffuso. Lo svantaggio è che la capacità di differenziare le variazioni d'intensità è molto limitata, sia dai livelli di grigio del computer (8 bit, dunque 256 livelli), sia dall'occhio umano, che ha una capacità limitata di distinzione tra i diversi livelli di grigio. Al contrario, rispetto ai livelli di grigio, i monitor dei computer tipicamente hanno 24 bit o più di livelli di colore, e l'occhio umano riesce a differenziare tra milioni di colori distinti. Per questo, per aumentare la capacità di differenziare tra strutture impercettibili nell'ambito della stessa immagine, l'OCT spesso utilizza la rappresentazione nei falsi colori. Le strutture tissutali che hanno differenti proprietà di riflessione ottica o di diffusione saranno rappresentate con colori differenti. Tuttavia è importante sottolineare che, sebbene l'immagine OCT rappresenti le dimensioni reali, la colorazione delle differenti strutture in un'immagine in falsi colori rappresenta le differenti proprietà ottiche e non necessariamente una diversa morfologia tissutale.

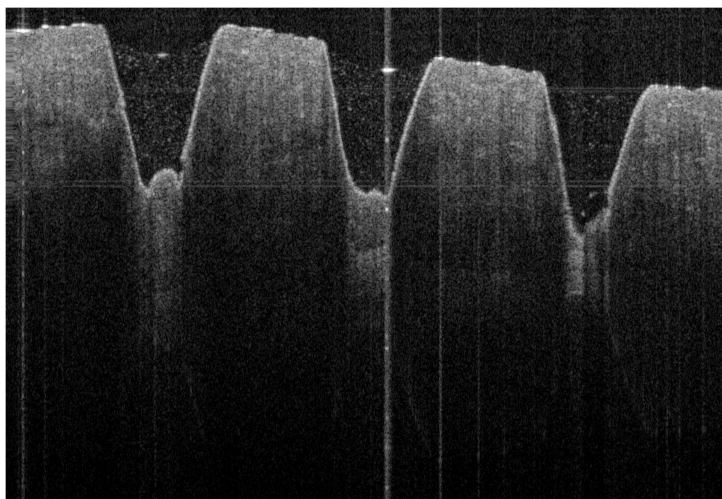
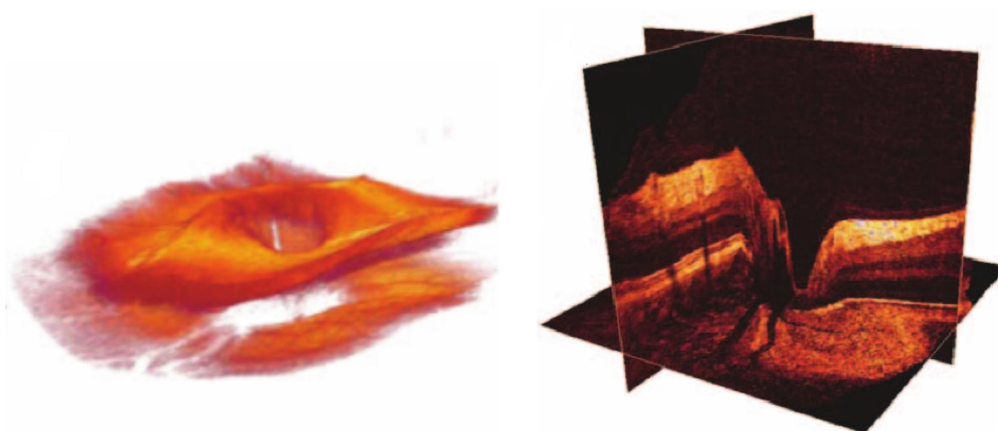


Figura 8. Esempio di B-scan. Ogni colonna di pixel rappresenta un A-scan.

Infine è possibile acquisire tracciati tridimensionali, detti 3D-OCT. In questo caso la visualizzazione è molto più complessa. È possibile rappresentare i dati acquisiti come un insieme di voxels 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, perciò per la ricostruzione sono utilizzate sistemi impiegati in altre tecniche di imaging, come quelle usate nella risonanza magnetica. Un metodo possibile è semplicemente visualizzare le sezioni lungo un asse e permettere all'operatore di scegliere la profondità da visualizzare, oppure permettere all'operatore di scegliere un altro piano di sezione. Un'altra possibilità è mostrare una sezione d'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.



3D Volume rendering of an OCT data set.

Three cross-sections of a 3D-OCT data set.

Figura 9

SENSIBILITA'

Per ottenere immagini OCT di alta qualità, è necessario raggiungere sensibilità di rilevazione estremamente alte. Ad esempio, per la produzione di immagini delle strutture oculari, è richiesta un'alta sensibilità poiché la retina è praticamente trasparente e l'intensità delle riflessioni e delle retrodiffusioni è molto bassa. Per realizzare immagini di altri tessuti che sono otticamente più riflettenti, la sensibilità determina la profondità esplorabile perché la luce incidente è attenuata dall'assorbimento e dalla dispersione nei tessuti. L'OCT può raggiungere un'elevata sensibilità di rilevazione con la luce debolmente riflessa o retrodiffusa, avvicinandosi al limite di rilevazione imposto dalla meccanica quantistica. Il processo interferometrico amplifica i segnali ottici deboli. Questo si può rilevare dall'equazione (2), che mostra come l'intervallo d'interferenza del segnale di emissione è proporzionale a $E_{ref} \cdot E_{sig}$. Il segnale derivante dal tessuto E_{sig} può essere debole, ma viene moltiplicato per il campo elettrico forte E_{ref} proveniente dal raggio di riferimento, aumentando così la grandezza del termine d'interferenza oscillatoria che viene misurato dal rivelatore.

La specifica sulla sensibilità è rappresentata dal rapporto segnale rumore. Il rapporto segnale-rumore (SNR) di un segnale rilevato è dato da:

$$SNR = 10\log\left(\frac{\eta P}{2h\nu NEB}\right) \quad (3)$$

In questa equazione, 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 dell'OCT è proporzionale alla potenza del segnale totale disponibile ed è inversamente proporzionale all'ampiezza di banda del sistema di rilevazione. Un'acquisizione d'immagini più veloce o una risoluzione maggiore richiede un'ampiezza di banda di rilevazione più estesa dal momento che ci sono più dati. Si verifica perciò una relazione inversa tra le prestazioni e il rapporto segnale-rumore. Per i parametri di misurazione tipici, i sistemi OCT raggiungono una prestazione segnale-rumore di circa 95 dB, il che significa che possono essere rilevate intensità di luce riflessa o retrodiffusa fino a 95 dB più piccole dell'intensità della luce incidente.

RISOLUZIONE SPAZIALE

La risoluzione dell'immagine è un altro importante parametro che determina le prestazioni dei sistemi OCT. Nella tomografia a coerenza ottica, la risoluzione assiale e trasversale sono determinate da meccanismi fisici completamente differenti. La risoluzione assiale è subordinata alla lunghezza di coerenza della fonte luminosa, che determina la risoluzione o la precisione Δz con cui può essere misurata la distanza. Siccome la lunghezza d'onda della luce a bassa coerenza contiene una serie di frequenze o lunghezze d'onda, questa può anche essere caratterizzata in base alla sua frequenza o all'ampiezza di banda della sua lunghezza d'onda. Calcoli teorici mostrano che la risoluzione assiale Δz è messa in relazione all'ampiezza di banda della lunghezza d'onda $\Delta\lambda$ dalla formula:

$$\Delta z = \frac{2 \ln 2}{\pi} \cdot \frac{\lambda^2}{\Delta\lambda} \quad (4)$$

L'equazione mostra che la risoluzione assiale Δz è inversamente proporzionale all'ampiezza di banda della lunghezza d'onda della fonte luminosa $\Delta\lambda$. Una tipica fonte luminosa per OCT a diodo superluminescente lavora a lunghezze d'onda prossime all'infrarosso a circa 800 nm ed ha un'ampiezza di banda della lunghezza d'onda di 20 nm. Questo comporta risoluzioni assiali nell'aria di circa 15 μm . Dato che la velocità della luce è minore nei tessuti, la dimensione assiale è divisa per l'indice di rifrazione del tessuto nel quale risulta quindi una risoluzione assiale di circa 10 μm .

La risoluzione trasversale nell'OCT è determinata dagli stessi principi che la regolano nella microscopia ottica convenzionale. La risoluzione trasversale è determinata dall'ampiezza dello spot luminoso risultante dalla focalizzazione del raggio esplorante. L'ampiezza minima di uno spot luminoso focalizzato Δx di un raggio di luce è determinata dalle proprietà di diffrazione della luce e dai parametri di messa a fuoco utilizzati. L'equazione seguente fornisce un'espressione in termini di diametro d di un raggio ottico incidente su una lente di lunghezza focale f per spot luminosi focalizzati Δx :

$$\Delta x = \frac{4\lambda}{\pi} \cdot \frac{f}{d} \quad (5)$$

Questo risultato deriva dalla teoria di diffrazione della luce ed è ben conosciuto in microscopia. Lo spot luminoso focalizzato è proporzionale alla lunghezza focale della lente focalizzante e

inversamente proporzionale al diametro del raggio incidente. In altre parole, lo spot luminoso focalizzato è inversamente proporzionale all'apertura numerica del raggio. Questo significa che per ottenere spot luminosi estremamente piccoli, è necessario avere un grande diametro radiale ed una lente a breve lunghezza focale o con un'alta apertura numerica. La figura 10 mostra due condizioni differenti di focalizzazione con spot luminosi di diametro grande e piccolo, che corrispondono a condizioni focali rispettivamente di bassa ed alta apertura numerica.

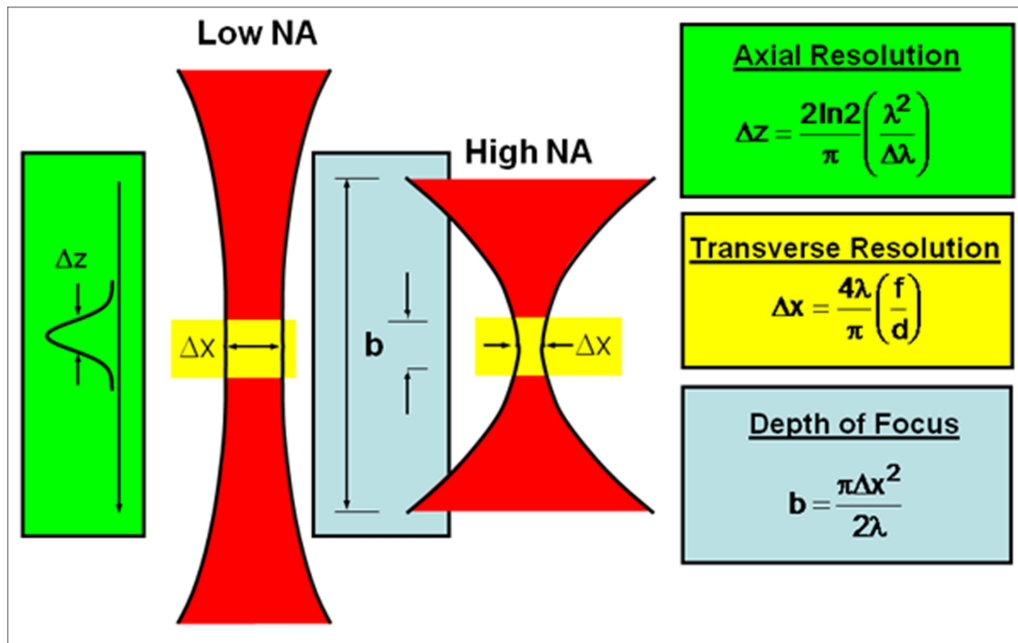


Figura 10

C'è una relazione inversa tra risoluzione trasversale e profondità di campo nell'OCT. La profondità di campo è caratterizzata da un parametro conosciuto come parametro confocale b :

$$b = \pi \frac{\Delta x^2}{2\lambda} \quad (6)$$

Più piccoli sono gli spot luminosi, che migliorano la risoluzione trasversale, più ridotta risulta la profondità del fuoco. La profondità di campo diminuisce con il quadrato del diametro dello spot focalizzato. Le condizioni di messa a fuoco definiscono due casi limite per l'OCT. Generalmente, la OCT è eseguita con basse aperture numeriche focalizzanti perché è preferibile avere una grande profondità di campo ed utilizzare un interferometro a bassa coerenza per realizzare riduzioni assiali. All'interno di questo limite, la profondità di campo è maggiore della lunghezza di coerenza.

In contrasto con la microscopia convenzionale, l'OCT può realizzare un'elevata risoluzione assiale indipendentemente dalle condizioni di messa a fuoco e dalla profondità di campo. Questa caratteristica è particolarmente efficace nelle applicazioni oftalmiche, dove l'apertura numerica

disponibile è limitata dal diametro pupillare. In altre applicazioni è possibile focalizzare anche con un'elevata apertura numerica e realizzare alte risoluzioni trasversali a spese di una ridotta profondità focale. Comunque, è possibile migliorare la risoluzione assiale dell'OCT usando nuove fonti luminose che hanno ampiezza di banda maggiore e lunghezze di coerenza inferiori. Risoluzioni assiali da 1 a 3 μm sono state ottenute con sistemi OCT utilizzando fonti luminose laser a impulso rapido con ampiezze di banda da 100 a 200 nm.

DENSITA' DEI PIXEL E TEMPO DI ACQUISIZIONE DELL'IMMAGINE

È importante notare come la risoluzione fondamentale di uno strumento OCT sia differente dalla grandezza e dalla densità dei pixel di un'immagine OCT. La densità dei pixel di un'immagine OCT è analoga alla densità di pixel nella fotografia digitale. L'immagine deve avere un numero sufficiente di pixel per riuscire a visualizzare piccole caratteristiche con una data risoluzione. La figura 11 mostra una descrizione schematica della densità e della grandezza dei pixel nelle direzioni assiale e trasversale. Le immagini OCT sono generate tramite misurazioni assiali contigue di riflessione o retrodiffusione rispetto alla profondità a differenti posizioni trasversali. Ne consegue che il numero di pixel nella direzione trasversale è uguale al numero di scansioni assiali. Se l'immagine OCT ha N_x pixel trasversali ed è L_x larga nella direzione trasversale, la misura dei pixel nella direzione trasversale è L_x/N_x . Per usare appieno la risoluzione strumentale, la misura dei pixel deve essere più piccola della risoluzione strumentale. La densità dei pixel nella direzione assiale è controllata da un meccanismo differente da quello nella direzione trasversale. In questo caso il numero di pixel N_z è determinato dalla velocità con la quale in computer può registrare il segnale elettronico di retrodiffusione o riflessione rispetto alla profondità proveniente dalla scansione assiale. Questa velocità è controllata dal tasso di conversione analogico-digitale e può essere molto rapida. Se l'immagine OCT ha N_z pixel assiali ed è L_z la profondità nella direzione assiale, la misura dei pixel è L_z/N_z nella direzione assiale.

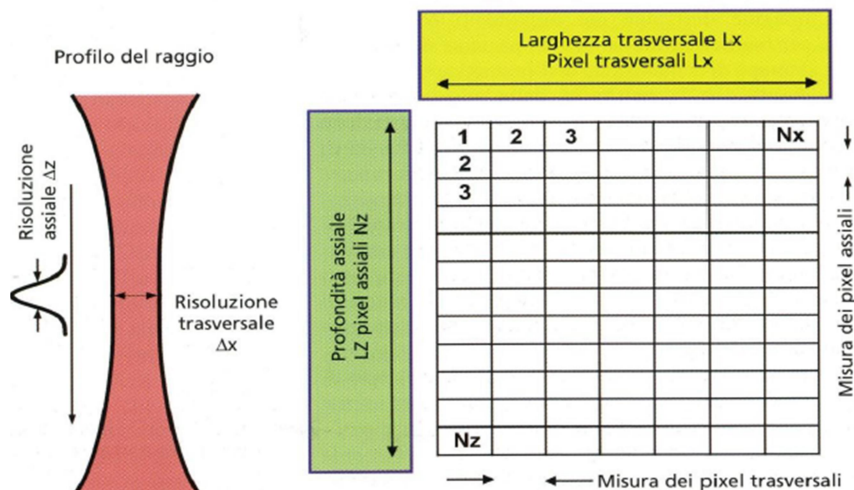


Figura 11

Avere un tempo di acquisizione d'immagine rapido è importante per le applicazioni cliniche. Il tempo di acquisizione dell'immagine ha una relazione diretta con la sensibilità della misurazione, dal momento che si riduce molto rapidamente la prestazione segnale-rumore (aumentando l'ampiezza della banda di rivelazione corrispondente al rumore). La performance segnale-rumore potrebbe in teoria essere migliorata usando una luce incidente più elevata, come mostrato nell'equazione 3. La massima esposizione alla luce consentita è comunque determinata da norme di sicurezza per l'esposizione al laser. Il tempo di acquisizione è così determinato da una combinazione d'intensità luminosa incidente sicura ed esigenze di segnale-rumore che sono necessarie per realizzare immagini di qualità sufficiente per le applicazioni cliniche. Il tempo di acquisizione dell'immagine aumenta anche in proporzione al numero dei pixel trasversali in un'immagine. Se lo strumento produce misurazioni assiali con scansioni a frequenza R , il tempo di acquisizione dell'immagine T è dato da $T=N_x/R$, cioè il tempo di acquisizione è il numero di scansioni assiali o pixel trasversali N_x in un'immagine diviso per la frequenza di ripetizione R delle scansioni assiali. Se si desidera una risoluzione trasversale più alta, sono necessarie più scansioni assiali e il tempo di acquisizione dell'immagine aumenta proporzionalmente. Viceversa, se sono necessarie solo immagini a bassa risoluzione trasversale, il numero di pixel trasversali può essere ridotto ed il tempo di acquisizione dell'immagine sarà proporzionalmente più rapido. I tomografi a coerenza ottica hanno un numero massimo di scansioni assiali al secondo, per cui il rapporto tra la densità dei pixel e la velocità di acquisizione rappresenta un importante fattore nella determinazione

dei protocolli per la produzione di immagini. La figura 12 mostra immagini ad alta densità di pixel trasversali rispetto a immagini a bassa densità con, rispettivamente, 512 pixel trasversali contro 128.

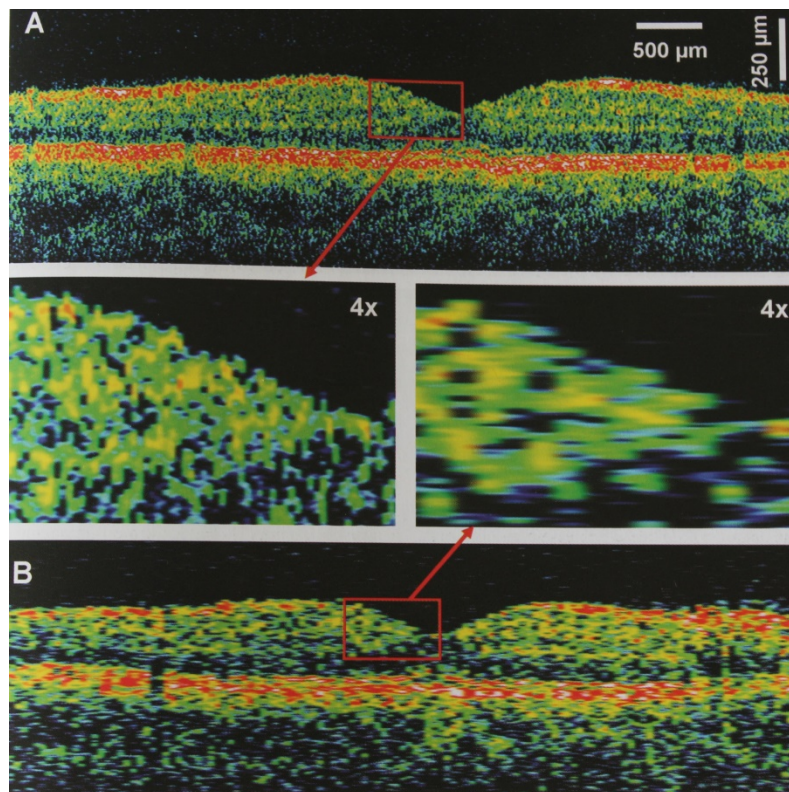


Figura 12

Da notare l'aspetto più granulare dell'immagine a bassa densità di pixel trasversali. Possono essere realizzate anche immagini con un più elevato o un più basso numero di pixel trasversali ed il tempo di acquisizione varierà di conseguenza. Questi esempi illustrano un'importante e fondamentale relazione tra la densità di pixel trasversali dell'immagine e la rapidità di acquisizione.

FUNZIONAMENTO

Ci sono principalmente due metodi OCT: Time-Domain (TD-OCT) e Frequency-Domain (FD-OCT). Questa seconda modalità d'acquisizione si suddivide a sua volta in Spectral-Domain (SD-OCT), in cui la sorgente utilizzata è ancora a banda larga, e Swept-source (SS-OCT), in cui la sorgente è un laser, a banda molto stretta, la cui lunghezza d'onda di lavoro viene variata linearmente in un intervallo predefinito.

TIME-DOMAIN OCT

Basata sull'interferometria a bassa coerenza, è possibile misurare la quantità di luce riflessa dal campione ad una specifica profondità traslando opportunamente lo specchio di riferimento. Il segnale di riflettività è campionato nel tempo e solo la luce che proviene da una distanza specifica crea interferenza a livello del rilevatore, grazie alla piccola lunghezza di coerenza. Il setup di una TD-OCT, oltre che dalla sorgente e dall'interferometro, è formato da una Processing Unit, che processa il segnale d'interferenza e lo analizza. Il fotorilevatore rileva variazioni nel risultato d'interferenza finché la differenza di cammino ottico non è minore della lunghezza di coerenza. Possiamo dire che l'oggetto da analizzare è formato da una struttura a più livelli a diverse profondità. Ciascuno strato genera una replica dell'onda entrante, ma ritardata. Muovendo lo specchio di riferimento è possibile scegliere lo strato che soddisfa la condizione di coerenza (differenza di cammino ottico < lunghezza di coerenza). Il massimo d'interferenza è ottenuto per ciascuna superficie quando la differenza di cammino ottico è uguale a 0. Col movimento dello specchio, un sistema TD-OCT genera in uscita un profilo della riflettività in funzione della profondità (A-scan). Finora questa configurazione è quella di un semplice interferometro. L'OCT aggiunge uno scanner trasversale al braccio oggetto, per scansionare il raggio lateralmente sull'oggetto. In questo modo si raccolgono A-scan adiacenti lungo una stessa coordinata trasversale, generando così l'immagine della sezione trasversale (B-scan). Un'altra versione del TD-OCT è l'en face-OCT, basato su profili monodimensionali di riflettività detti T-scans, raccolti scorrendo l'oggetto trasversalmente, mantenendo la coordinata assiale fissa (specchio di riferimento a riposo). In questo caso un'immagine B-scan è costruita da tanti T-scans ripetuti per pixels successivi in profondità; in altre parole, scansionando velocemente lateralmente e lentamente assialmente usando lo specchio di riferimento. Un sistema en-face OCT presenta il vantaggio che esso può raccogliere una C-scan (a profondità costante) in tempo reale, ripetendo le T-scans per valori adiacenti della coordinata laterale.

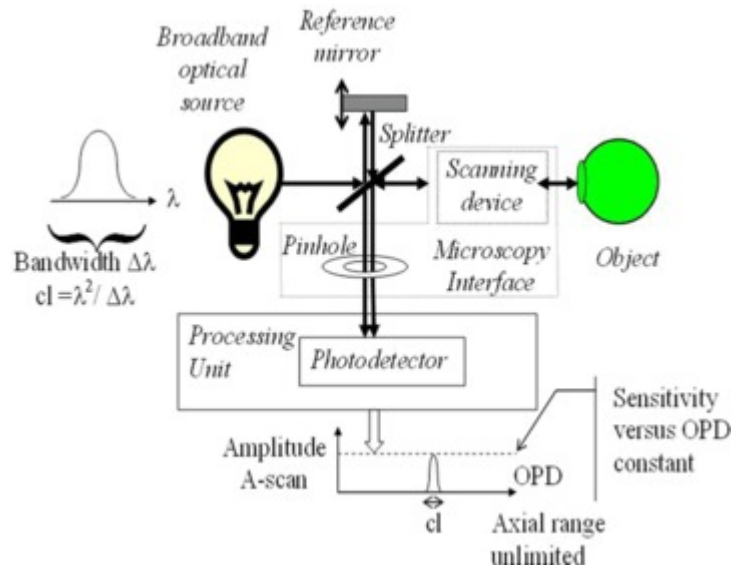


Figura 13. Schema di una TD-OCT

FREQUENCY DOMAIN OCT

Essa sfrutta il fatto che un segnale è completamente definito non solo da come il suo valore cambia nel tempo, ma anche dalla sua informazione spettrale. Così, la riflettività del campione può essere misurata per tutte le profondità in una volta sola, misurando l'interferenza non più nel dominio del tempo, ma in quello della frequenza, applicando poi la Fast Fourier Transform, così da avere dallo spettro informazioni di nuovo nel dominio dei tempi, ottenendo dunque lo stesso risultato della TD-OCT per quanto riguarda l'ampiezza degli echi e il loro ritardo. Usando queste tecniche è stato possibile raggiungere velocità di acquisizione fino a 20 000 scansioni per secondo con buona risoluzione, rispetto alle circa 4 000 nelle TD-OCT veramente veloci, che però devono sacrificare un po' di risoluzione. Dunque, è possibile scansionare grandi aree di tessuto in real-time.

- SPECTRAL-DOMAIN OCT (SD-OCT)

Invece di usare un singolo fotorilevatore, la luce che interferisce è separata in raggi differenti in base alla lunghezza d'onda da un elemento dispersivo come un prisma, e poi è rilevata usando un array lineare di fotorilevatori, che 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 ri-campionati

prima dell'esecuzione della trasformata di Fourier, eseguita dal software, che permette di ottenere una rappresentazione in A-mode dell'intensità degli echi retrodiffusi.

Questo metodo ha un vantaggio aggiuntivo rispetto alle tecniche che usano un singolo fotorilevatore. Poiché una quantità minore di luce non interferente raggiunge ciascuna parte dell'array, il rapporto segnale-rumore migliora di centinaia di volte. Il funzionamento di questo sistema è basato sulla demodulazione dello spettro ottico in uscita dall'interferometro. Lo spettro mostra picchi e depressioni e il periodo di questa modulazione è proporzionale alla differenza di cammino ottico a livello dell'interferometro. La camera lineare necessita di pixel sufficientemente piccoli per essere in grado di campionare la successione di picchi e depressioni nello spettro. Se oggetti multistrato sono colpiti, ciascuno strato imprime la propria periodicità nella modulazione dello spettro. Una Fast Fourier Transform del segnale traduce la periodicità dello spettro in picchi a frequenza differente, che dipende dalla diversa profondità.

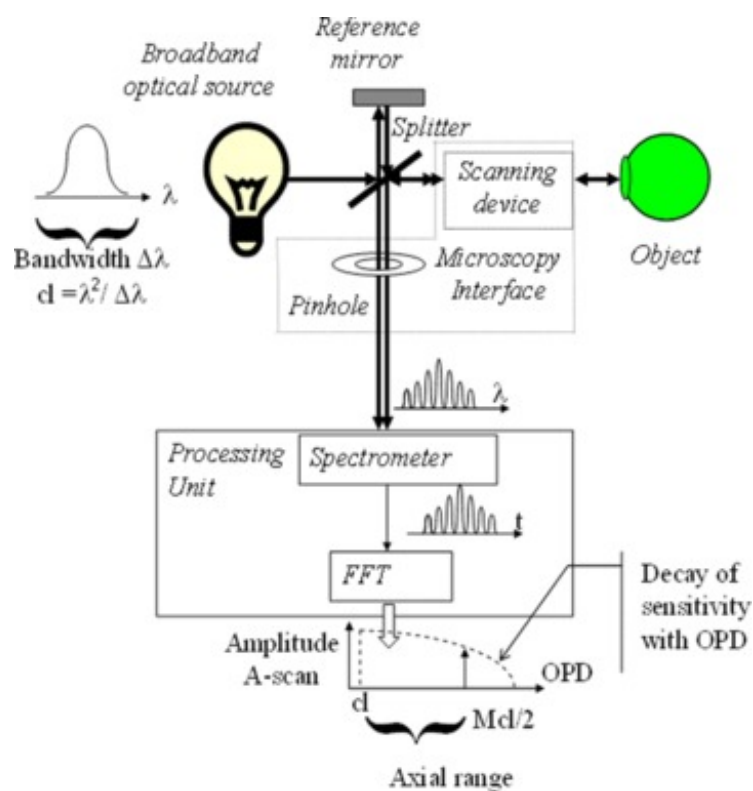


Figura 14. Schema di uno SD-OCT.

- SWEPT-SOURCE OCT

In questo caso l'informazione spettrale non è estratta usando la spettroscopia, bensì è codificata nel tempo 'spazzolando' la frequenza di una sorgente luminosa con uno spettro molto stretto, come un laser regolabile. La modalità SS-OCT cerca di unire la sensibilità raggiunta dalla SD-OCT, alla

semplicità hardware dei TD-OCT. Infatti, mentre nella SD-OCT la ricezione è affidata ad un array di sensori CCD e ad uno spettrometro, seguita da elaborazioni numeriche; negli apparecchi SS-OCT avviene tramite un singolo fotorivelatore, trasferendo la complessità del sistema alla sorgente laser che deve spazzolare un ampio intervallo di frequenze. Il segnale laser deve essere più stretto della distanza spettrale tra picchi adiacenti. Se, nel caso ideale, il segnale laser fosse approssimabile ad una delta di Dirac, allora il segnale rilevato prenderebbe la forma esatta dello spettro raccolto. Una Fast Fourier Transform di questo segnale genera picchi alle diverse frequenze che sono legati alla differenza di cammino ottico. Il tempo richiesto per regolare la lunghezza d'onda determina il tempo per produrre una A-scan. Una velocità di messa a punto sopra i 5 MHz rende la SS-OCT il più veloce metodo di analisi OCT che abbia portato ad una qualità sufficiente nelle immagini dei tessuti in vivo, fino ad oggi. Il vantaggio di usare questo metodo rispetto all'impiego di un array lineare, come in una tipica camera a scansione lineare in silicio, è che la luce nelle lunghezze d'onda da 1000 nm a 1300 nm può essere usata; queste sono più indicate per acquisire tessuti ad elevata dispersione, poiché meno attenuata rispetto a lunghezze d'onda inferiori usate altrimenti. I rilevatori basati sul silicio mancano di sensibilità negli alti intervalli di frequenze, quindi non doverli usare in questo caso è un vantaggio.

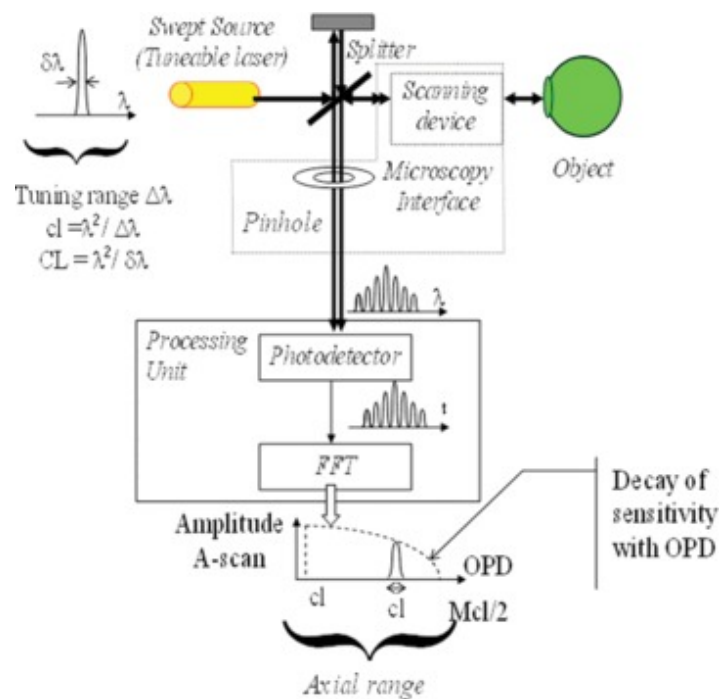


Figura 15. Schema di un SS-OCT.

CONFRONTO TRA LE DIVERSE MODALITA'

C'è una differenza fondamentale tra TD-OCT e FD-OCT. Il primo riporta la riflettività di un punto in profondità, mentre il secondo riporta i valori di riflettività per tutti i punti lungo la linea di scansione in una volta sola. Questo conferisce al metodo spettrale una superiorità in termini di velocità di acquisizione. Infatti, gli strumenti TD-OCT, contrariamente agli FD-OCT, richiedono parti meccaniche in movimento, suscettibili di guasto, e dunque le scansioni sono piuttosto lente e per questo influenzate dai movimenti del tessuto da analizzare. I nuovi apparecchi FD-OCT hanno consentito di ridurre enormemente i tempi di acquisizione delle immagini:

- Da 400 a 20 000 A-scan al secondo.
- Da una B-scan in 1,6 s a bassa risoluzione, a una B-scan ad alta risoluzione in 0,04 s.

La maggiore velocità di acquisizione ha permesso di:

- Ridurre di 1/30 gli artefatti da movimento.
- Ripetere più volte la stessa scansione, per eseguire una sommatoria dei valori misurati in ogni punto esaminato, ed ottenere delle immagini con un migliore rapporto segnale rumore.
- Ricostruire tridimensionalmente i tessuti con tante B-scan affiancate.

In figura 16 è mostrata la differenza nell'interpretazione diagnostica di un'immagine relativa allo stesso paziente prodotta con un TD-OCT (A) e con uno SD-OCT (B). In entrambe le immagini è visibile un accumulo di liquido intraretinico, che nel TD si miscela al rumore di fondo, mentre nello 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.

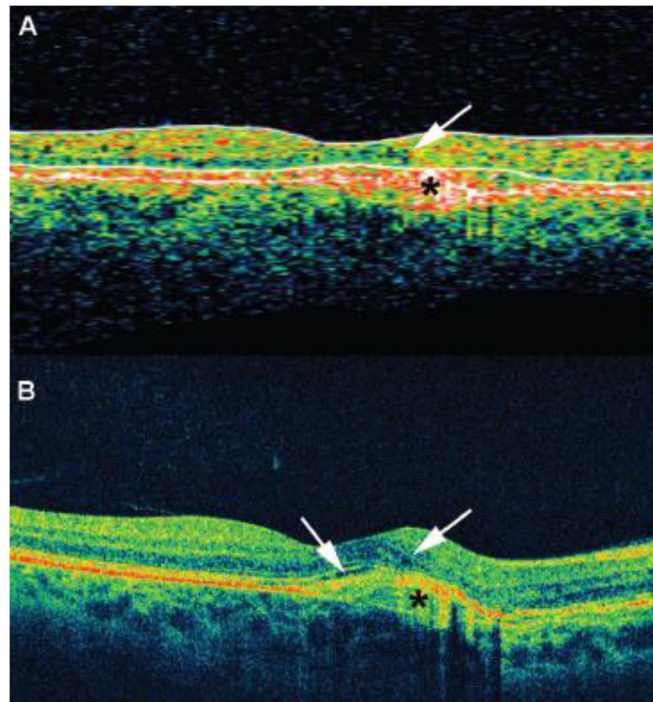


Figura 16. immagine OCT ottenuta con tecnologia Time-Domain (in alto) e Spectral-Domain (in basso).

Spesso la risoluzione assiale è 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, in altre parole 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.

Gli apparecchi SS-OCT migliorano ulteriormente la velocità di scansione, fino a 80.000/100.000 A-scan/sec, con la possibilità di acquisire una B-scan in 0,01 sec invece di 0,02/sec, ed immagini 3D in 0,9 sec contro 1,9 sec degli SD-OCT. Altro vantaggio degli SS-OCT è che, non usando per la rivelazione del tessuto un array CCD, non si ha il drop-off (riduzione della potenza) del segnale all'aumentare della profondità di scansione, essendo svincolati dalla dimensione finita dei pixel del CCD. Per completare il quadro, nei sistemi SS-OCT la riduzione del segnale all'aumentare della

profondità d'indagine è molto meno evidente, per l'utilizzo di una sorgente luminosa laser a banda stretta, vero motivo della migliore Depth Resolution rispetto agli SD-OCT.

CONFRONTO CON ALTRE TECNICHE DI IMAGING

L'OCT ha molto in comune con altre due tecniche di imaging, riempiendo in un certo modo lo spazio tra queste: gli ultrasuoni e la microscopia confocale.

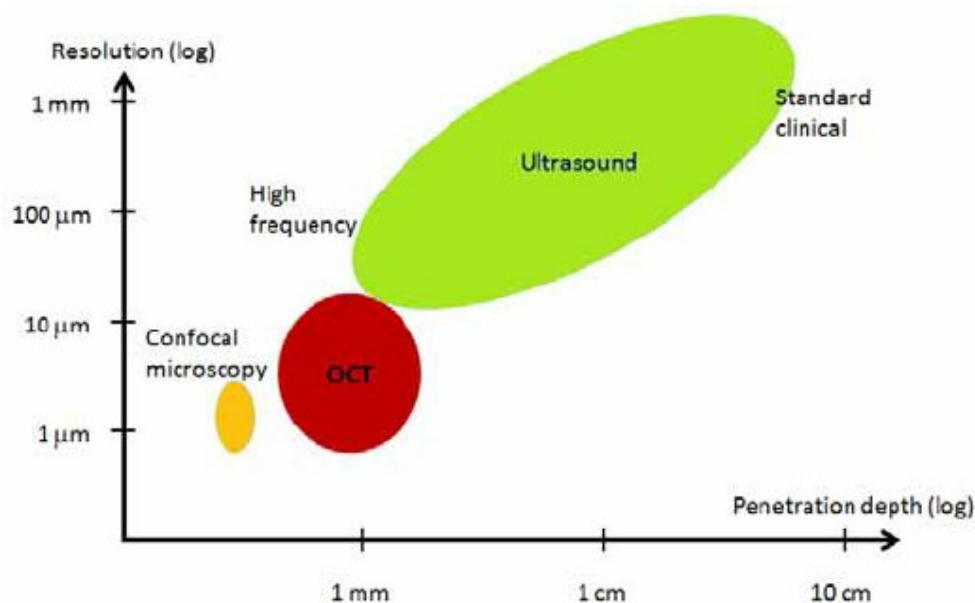


Figura 17

La microscopia confocale è un metodo ottico di imaging con alta risoluzione, fino a 1 μm , limitato tuttavia dalla diffrazione della luce. Inoltre, a causa della diffusione ottica, la penetrazione è molto piccola. Nella maggior parte dei campioni biologici solo poche centinaia di micrometri di profondità sono raggiungibili, il che rende la microscopia confocale non adatta ad applicazioni in cui è richiesta una profondità d'indagine significativa. Dall'altro lato, gli ultrasuoni possono raggiungere grandi profondità di indagine, fino a 10 cm, grazie alla bassa attenuazione delle onde sonore alle frequenze tipicamente usate nelle applicazioni cliniche (3-40 MHz). Le immagini ad ultrasuoni inoltre hanno il vantaggio che le onde sonore sono facilmente trasmesse nella maggior parte dei tessuti biologici. Tuttavia queste frequenze limitano la risoluzione che può essere raggiunta a circa 0,1-1 mm. Frequenze maggiori, di circa 100 MHz sono state usate per raggiungere risoluzioni di 15-20 μm , ma la forte attenuazione delle onde sonore a queste frequenze nei tessuti

biologici limita la profondità a 15 mm in questo caso. L'OCT, allora, riempie il vuoto tra queste due tecniche. È un metodo di imaging ottico, con risoluzione limitata dall'ampiezza di banda della fonte luminosa usata e una penetrazione di circa 2-3 mm, migliore nei tessuti trasparenti. Inoltre l'OCT può essere facilmente integrata con endoscopi, cateteri o strumenti simili e fornire immagini dall'interno del corpo. Lo svantaggio principale della tecnica ottica è che la luce è fortemente diffusa o assorbita dalla maggior parte dei tessuti biologici, perciò l'immagine ottica è confinata ai tessuti che siano otticamente accessibili sia direttamente che tramite dispositivi come endoscopi e cateteri appunto. Però, l'acquisizione di immagini usando onde luminose piuttosto che sonore fornisce una risoluzione spaziale significativamente maggiore (10 o 20 volte) rispetto a quella ottenuta con ultrasuoni. Un'altra differenza tra ultrasuoni e OCT sta nel sistema di acquisizione. Infatti la luce viaggia almeno un milione di volte più veloce del suono. Dal momento che le distanze all'interno dei tessuti biologici sono misurate sfruttando i ritardi relativi agli echi delle onde sonore o luminose riflesse, la misurazione tramite sistema ottico richiederà maggiori risoluzioni temporali rispetto a quella effettuata con sistema sonoro. La distanza o il range d'informazione può essere determinata dal ritardo degli echi tramite la formula $\Delta T = \frac{\Delta z}{v}$, dove Δz è la distanza che l'eco percorre e v la velocità dell'onda sonora o luminosa. Perciò, la misura delle distanze o delle strutture con una risoluzione di circa 100 μm , che sarebbe tipica degli ultrasuoni, richiede una risoluzione temporale di approssimativamente 100 nanosecondi. Viceversa, la misurazione di strutture con risoluzione di circa 10 μm , che è raggiunta con OCT, richiede una risoluzione temporale di circa 30 femtosecondi. Fortunatamente è possibile ottenere misure di tempo e distanza a queste alte risoluzioni proprio con l'interferometria a bassa coerenza.

APPLICAZIONI CLINICHE

L'OCT è stata usata per la prima volta nel 1991. Da allora si è sviluppata rapidamente come metodo di acquisizione di immagini non invasivo, che permette la visualizzazione di sezioni trasversali di tessuto in vivo. Abbiamo visto come la risoluzione sia di 1-2 ordini di grandezza maggiore rispetto agli ultrasuoni convenzionali, raggiungendo quella dell'istopatologia e permettendo la visualizzazione della morfologia strutturale in situ ed in tempo reale. Per effettuare acquisizione d'immagini OCT in vivo è stato necessario sviluppare sistemi di trasporto dell'immagine dai tessuti interni. E, poiché la tecnologia OCT è basata sulle fibre ottiche, questo è stato fatto integrandola con molti strumenti di diagnostica medica già utilizzati. Così, laparoscopi e sonde chirurgiche sono state recentemente messe a punto; inoltre sono stati sviluppati cateteri ed endoscopi a scansione trasversale di piccolo diametro. Il catetere consiste di una fibra ottica a modalità singola, rivestita da un cavo rotante. All'estremità distale del catetere, la fibra è accoppiata ad una lente e a un microprisma per dirigere il raggio OCT radialmente, perpendicolare all'asse del catetere. La scansione è effettuata ruotando il cavo, in modo da permettere l'acquisizione di una sezione trasversale transluminale nei vasi sanguigni o negli organi cavi. Il catetere ha un diametro di 1 mm, comparabile con la dimensione di un catetere intravascolare ad ultrasuoni. Questo è abbastanza piccolo da permettere l'acquisizione d'immagini in un'arteria coronaria o l'inserimento attraverso l'apertura accessoria di un endoscopio o broncoscopio standard. La figura 18 mostra lo schema di uno strumento OCT ad alta velocità d'acquisizione basato su un'implementazione a fibre ottiche dell'interferometro. Un braccio è interfacciato allo strumento di misura, mentre l'altro è il braccio di riferimento con una linea di scansione del ritardo. Lo sviluppo di questi apparecchi ha facilitato il passaggio della tomografia a coerenza ottica all'uso clinico, permettendo così di sfruttare le aumentate capacità di questa tecnica per migliorare il trattamento dei pazienti. In particolare la tomografia a coerenza ottica è sempre più usata in vari campi: dall'oftalmologia alla cardiologia, dalla gastroenterologia alla dermatologia, dall'urologia alla ginecologia. In particolare ci concentreremo su quelle che ad oggi sono le applicazioni più avanzate: l'oftalmologia, la cardiologia e l'oncologia.

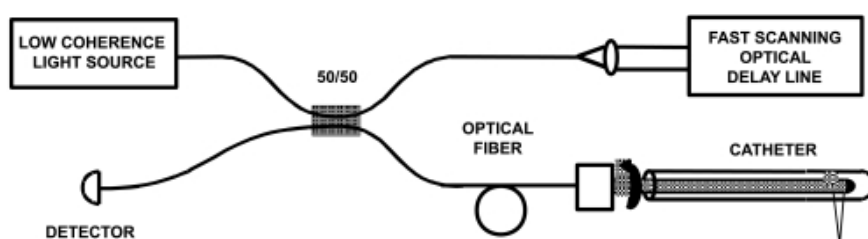


Figura 18

OFTALMOLOGIA

Essendo un metodo di acquisizione d'immagini ottico, l'OCT è particolarmente indicata per tessuti trasparenti. Il più ovvio di questi è l'occhio, e l'oftalmologia è l'area in cui l'OCT è stata, ed è attualmente usata in gran parte. La prima immagine in vivo della retina umana è stata acquisita nel 1993, e da allora c'è stato un enorme progresso. Senza un esame OCT ormai nessuna patologia retinica è affrontabile in fase sia diagnostica sia prognostica, per non parlare delle indicazioni alla chirurgia retinica in generale e vitreoretinica in particolare, che vede oggi l'esame tomografico al primo posto nelle richieste d'accertamento strumentale. L'interpretazione delle immagini OCT è intuitiva e fornisce informazioni diagnostiche importanti in un vasto spettro di patologie, inclusi l'edema maculare, il distacco di retina, le alterazioni dell'interfaccia vitreoretinica, i fori maculari, la degenerazione maculare legata all'età, la retinopatia diabetica ed il glaucoma. In aggiunta, l'abilità dell'OCT nel realizzare acquisizioni in tempo reale è stata utilizzata anche per studiare le risposte dinamiche della retina, incluse lesioni laser della retina. Oltre a consentire una visualizzazione diretta di sezioni trasversali di retina, con conseguente identificazione delle alterazioni presenti nella morfologia retinica, le immagini possono essere analizzate quantitativamente e processate usando algoritmi intelligenti per estrarre aspetti come lo spessore retinico o lo strato delle fibre del nervo ottico. Sono state sviluppate tecniche di mappatura e visualizzazione per rappresentare i dati tomografici in diverse forme, come ad esempio mappe di spessore, per aiutare l'interpretazione. Si possono utilizzare numerosi protocolli di scansione per ottenere informazioni diagnostiche ottimali su strutture specifiche, come la macula o il disco ottico. La capacità dell'OCT di fornire una visualizzazione diretta ed insieme informazioni di tipo quantitativo la rende utile per evidenziare longitudinalmente piccole alterazioni nelle strutture retiniche, associate alla progressione o alla risoluzione della malattia. L'OCT ha l'enorme potenziale di poter rilevare e diagnosticare i primi stadi di alcune patologie retiniche, prima che si presentino sintomi fisici e danni irreparabili alla vista.

INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI OCT DELLA RETINA NORMALE

L'OCT permette di visualizzare sezioni trasversali di retina e del polo posteriore dell'occhio. La figura 18 mostra un tomogramma OCT ad ampio campo della retina normale, incluse la regione maculare e peripapillare.

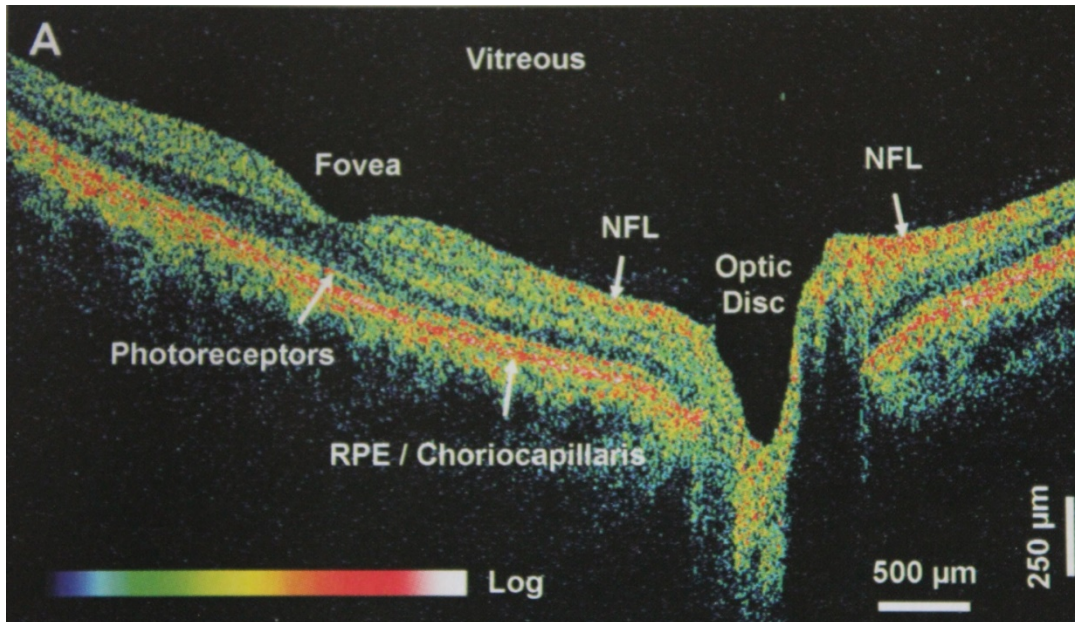
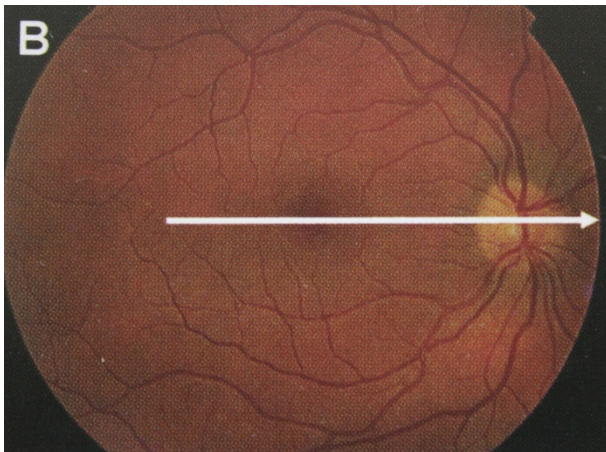


Figura 19



Tomogramma OCT (A) della fovea normale e del disco ottico preso a livello dell'asse papillomaculare. La scansione OCT è lunga 10 mm e la sua posizione è mostrata nella corrispondente fotografia del fondo (B).

Poiché la retina è molto sottile, ma il campo di visione trasversale è largo, l'immagine OCT viene espansa nella direzione assiale in modo da visualizzare meglio le microstrutture della retina. I caratteri anatomici della retina su grande scala, come la fovea, il disco ottico, il profilo retinico e la curvatura, sono evidenti e possono essere identificati tramite le loro caratteristiche morfologiche. L'interfaccia vitreoretinica è identificata dall'incremento nella retrodiffusione tra il vitreo trasparente e la superficie della retina interna. La fovea appare come una depressione caratteristica

della retina, con assenza degli strati retinici interni ed aumento nello spessore dello strato fotorecettoriale. Il disco ottico appare con il caratteristico profilo del nervo ottico. Uno strato altamente riflettente, che è visibile come rosso nell'immagine a falsi colori, delinea, nel tomogramma, il limite posteriore della retina, e corrisponde all'epitelio pigmentato retinico ed alla coriocalpillare. Un secondo strato immediatamente anteriore, posto molto vicino e altamente riflettente, deriva dalla riflessione tra segmenti interni ed esterni dei fotorecettori. Posteriormente alla coriocalpillare, si evidenziano segnali relativamente deboli provenienti dalla coroide profonda e dalla sclera, dovuti all'attenuazione del fascio ottico dopo il passaggio attraverso la retina e l'epitelio pigmentato retinico. Uno strato di spessore variabile, altamente riflettente, al margine più interno della retina, visibile come rosso nell'immagine a falsi colori, corrisponde allo strato delle fibre nervose. Questo strato nella regione del disco ottico è più spesso e diviene più sottile verso la macula. Anche gli altri strati retinici interni divengono più sottili avvicinandosi alla fovea, con la presenza del solo strato nucleare esterno e dello strato fotorecettoriale a livello della fovea, in accordo con la morfologia retinica. Le immagini OCT permettono anche di visualizzare l'anatomia microscopica della retina e la loro interpretazione è supportata da studi che mettono a confronto l'OCT con l'istologia e da studi sull'acquisizione d'immagini ad altissima risoluzione. L'interpretazione delle strutture presenti nelle immagini OCT è anche confermata dall'elaborazione d'immagini di patologie che comportano alterazioni note dell'architettura retinica.

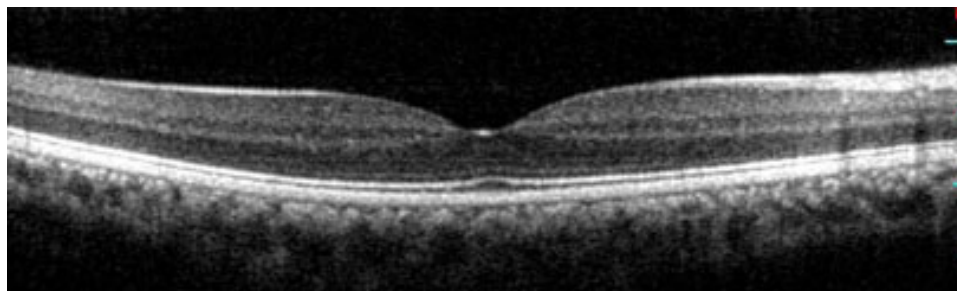


Figura 20. Immagine OCT spectral domain ad alta risoluzione di retina normale in bianco e nero.

INTERPRETAZIONE DELLE IMMAGINI DI OCT DELLE PATOLOGIE RETINICHE

L'OCT consente l'acquisizione d'immagini sotto forma di sezione della retina con risoluzione mai ottenuta prima e fornisce una visualizzazione diretta della patologia retinica. Su un'immagine OCT, patologie come il foro maculare, la trazione vitreomaculare o l'accumulo di liquido sottoretinico (distacco della retina) possono essere evidenti come un'alterazione strutturale considerevole. La malattia maculare può anche causare anomalie che modificano le proprietà ottiche della retina,

come edema o emorragia. Come già detto, l'acquisizione d'immagini OCT può essere utilizzata insieme ad algoritmi di elaborazione dell'immagine per ottenere misurazioni quantitative dell'architettura retinica. Quest'approccio, chiamato morfometria, fornisce una misurazione obiettiva per effettuare diagnosi di malattia, seguirne la progressione e valutarne la risposta alla terapia. La risoluzione senza precedenti e la velocità di acquisizione dell'OCT consentono un'eccellente riproducibilità delle misure morfometriche e sensibilità alle piccole modifiche nell'architettura retinica.

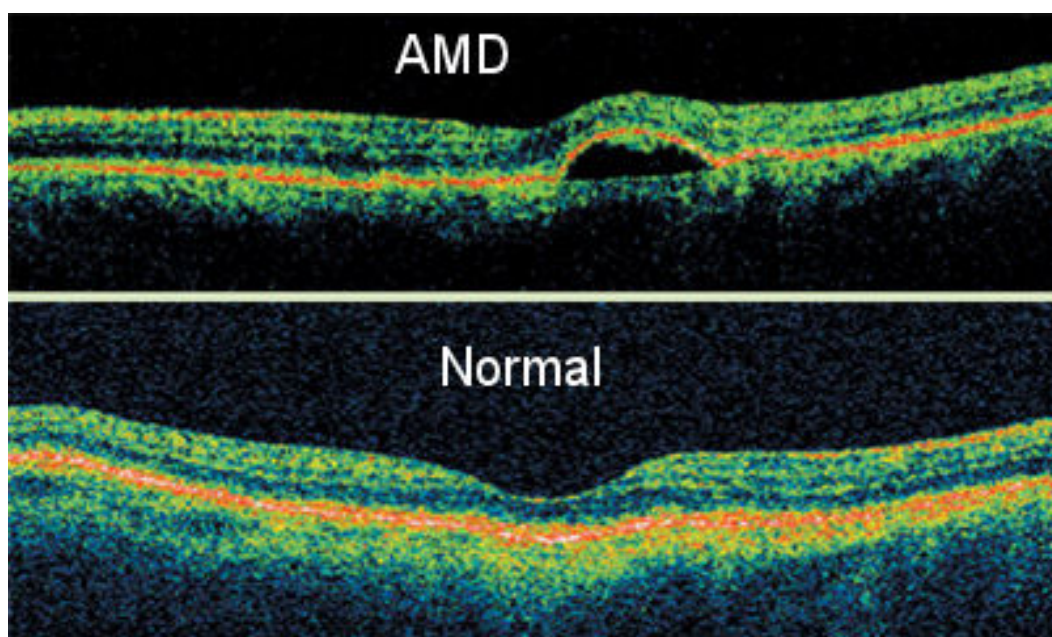


Figura 21. Confronto tra occhio sano e uno affetto da degenerazione maculare legata all'età.

CARATTERI ASSOCIATI ALLA PATOLOGIA

Molte malattie retiniche si manifestano come importanti alterazioni strutturali della normale architettura retinica. Per esempio, le modificazioni nella morfologia della fovea nel foro maculare e nel distacco della retina, sono spesso indicative della malattia. La perdita o l'appiattimento della depressione foveale si può verificare nei fori maculari in formazione, nell'edema foveale o del distacco retinico foveale. L'OCT consente anche di visualizzare i vari stadi nella formazione del foro maculare. I fori maculari in formazione, per esempio, possono essere identificati dall'ispessimento della fovea, con la formazione di spazi cistici e la disorganizzazione tra la retina interna e lo strato dei fotorecettori.

Lo spessore retinico è un parametro importante nella valutazione di molte malattie maculari. Può incrementarsi nell'edema, nella trazione vitreomaculare, nel distacco di retina e nell'occlusione vascolare retinica. L'accumulo di liquido intraretinico comporta sia incremento dello spessore retinico che modificazioni nelle proprietà di diffusione del tessuto. È importante specialmente determinare lo spessore retinico a livello della fovea, dove l'edema può avere effetti profondi sull'acuità visiva. L'alta risoluzione assiale delle immagini OCT, combinata alla capacità di identificare chiaramente i limiti anteriori e posteriori della retina, rende l'OCT adatta alla misura quantitativa dello spessore retinico. Le anomalie retiniche si possono associare a modificazioni nelle proprietà ottiche, che possono essere rivelate nelle immagini OCT. La diffusione si può incrementare con l'infiammazione, o l'infiltrazione degli strati retinici o della coroide. Sia gli essudati duri sia le emorragie sono altamente riflettenti e causano effetto ombra sulle strutture retiniche più profonde. I vasi sanguigni, per esempio, sono identificati proprio dall'effetto ombra che creano. L'intensità dell'immagine OCT dipende sia dai dettagli esaminati, che dalle caratteristiche di riflettività e assorbimento dei tessuti sovrastanti. Quindi deve essere posta attenzione nell'interpretazione dell'immagine OCT poiché la luminosità dei vari particolari può essere viziata da anomalie di cornea, acqueo, cristallino, vitreo e degli strati retinici anteriori che possono produrre ombra. Le cause morfologiche di ridotta riflettività devono essere distinte dalle alterazioni della luce incidente causate da cataratte dense, opacità dei mezzi, astigmatismo o scarso allineamento dello strumento OCT mentre si acquisisce l'immagine. Le anomalie delle strutture che si interpongono tipicamente causano una diminuzione diffusa nell'intensità dell'immagine OCT a livello di tutti gli strati retinici.

CARDIOLOGIA

In cardiologia l'OCT è stato sviluppato in particolare per ottenere immagini 3D ad alta risoluzione per esaminare la struttura dell'arteria coronaria, sia in condizioni normali che patologiche. Oggi questa tecnica sostituisce in molti casi l'ultrasonografia intravascolare e ha una risoluzione 10 volte maggiore. Sindromi coronariche acute dovute a disturbi aterosclerotici vascolari sono la causa principale di mortalità nei paesi sviluppati. Di conseguenza, i sistemi d'imaging intravascolare sono diventati un'importante area di ricerca. Così, l'OCT viene sempre più usato nella pratica clinica come guida durante gli interventi chirurgici alle coronarie e nella valutazione della risposta all'impianto di stent.

L'OCT ha aperto le porte ad un nuovo modo di valutare le lesioni alle coronarie, permettendo di visualizzare in maniera diretta i vasi, la morfologia della placca, la trombosi coronarica, oltre alla risposta vascolare all'impianto di stent. Cosa può offrire l'OCT che altri sistemi non possano? Mentre si esaminano immagini OCT, è facile rimanere colpiti dal grado di dettaglio e risoluzione, ma senza dubbio il futuro di questa tecnica si basa sulla capacità nel rilevare efficacemente ed accuratamente placche aterosclerotiche, identificando la loro composizione. È risaputo che l'OCT permette di ottenere altissime risoluzioni che si avvicinano a quelle dell'istologia. A questo proposito, la tomografia a coerenza ottica è stata proposta in aggiunta all'osservazione del tessuto istologico quando non è pratico prelevare campioni o quando un'ampia zona deve essere indagata. La tecnologia OCT ha già un ruolo importante nella ricerca e in applicazioni cliniche specifiche della cardiologia invasiva; tuttavia per definire il suo uso ottimo e il suo impatto clinico ci devono essere ulteriori ricerche.

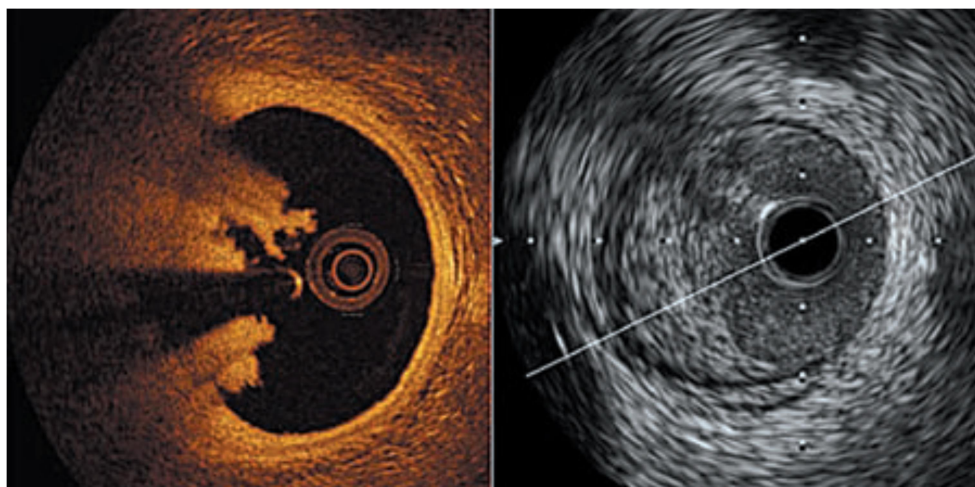


Figura 22. Confronto fra sezioni corrispondenti ottenute con tecnica ecografica ultrasonografica (a destra) e tomografica a coerenza ottica (a sinistra). La tecnica tomografica a coerenza ottica consente un'ottima visualizzazione della deposizione trombotica.

LIMITI

L'esecuzione dell'OCT in ambito cardiovascolare presenta alcune problematiche di tipo tecnico. Il primo limite dell'OCT, come abbiamo visto, è la sua scarsa capacità di penetrazione. Per questo motivo, in diversi casi gli ultrasuoni potrebbero risultare un'opzione migliore, in quanto permettono di visualizzare l'intera struttura coronarica e distinguere meglio tra le varie strutture. Inoltre, diversamente dagli ultrasuoni, l'OCT è ostacolato dal sangue. L'elevata riflettanza dei globuli rossi nel sangue impedisce lo studio delle pareti vasali. Inizialmente, per superare questo problema, si ricorse ad un rimedio che prevedeva iniezioni intermittenti di soluzione salina (per allontanare la parte corpuscolare del sangue). In questo modo però era possibile visualizzare solamente la lesione in esame, in pratica un segmento coronarico limitato.

In seguito fu introdotta una tecnica occlusiva per l'acquisizione delle immagini che prevedeva l'introduzione della sonda OCT in un palloncino. Durante il gonfiaggio del pallone a bassa pressione veniva iniettata ancora una soluzione salina. Questa tecnica presenta delle notevoli limitazioni dal momento che sia l'infusione di soluzione salina che il gonfiaggio del palloncino, a seguito dell'occlusione del vaso, possono provocare significativi periodi d'ischemia nella zona del vaso in esame. Inoltre con l'uso del palloncino si rischia di modificare l'anatomia della parete vasale. Riguardo invece la qualità delle immagini, questa può essere compromessa nei casi in cui il palloncino sia sottodimensionato e non blocchi in modo completo il passaggio del sangue. Recentemente alcuni studi hanno permesso lo sviluppo di una tecnica non occlusiva.

RILEVAZIONE DI PLACCHE VULNERABILI

Uno dei campi principali della ricerca OCT è quello della rilevazione di placche vulnerabili. L'OCT offre immagini chiare del lume dei vasi coronarici, permettendo misure di riferimento per l'area minima del lume, oltre all'identificazione di gruppi di lipidi e degli strati del vaso. Diversamente dagli ultrasuoni intravascolari, in cui sono presenti effetti d'ombra significativi, possono essere riconosciuti depositi di calcio. Il limite principale risiede nella scarsa penetrazione assiale rispetto agli ultrasuoni; e questa potrebbe compromettere l'osservazione e l'accurata misura della stenosi. Tale informazione è vitale per decidere quale terapia è più appropriata, oltre ad essere decisiva nella scelta del palloncino, delle dimensioni dello stent e del luogo ottimo in cui impiantarli. Inoltre, è necessario aggiungere che le placche vulnerabili sono definite come placche che potrebbero causare

un evento cardiaco nel futuro e non ci sono attualmente studi che dimostrino il valore dell'OCT nell'identificare queste lesioni prima che si presentino.

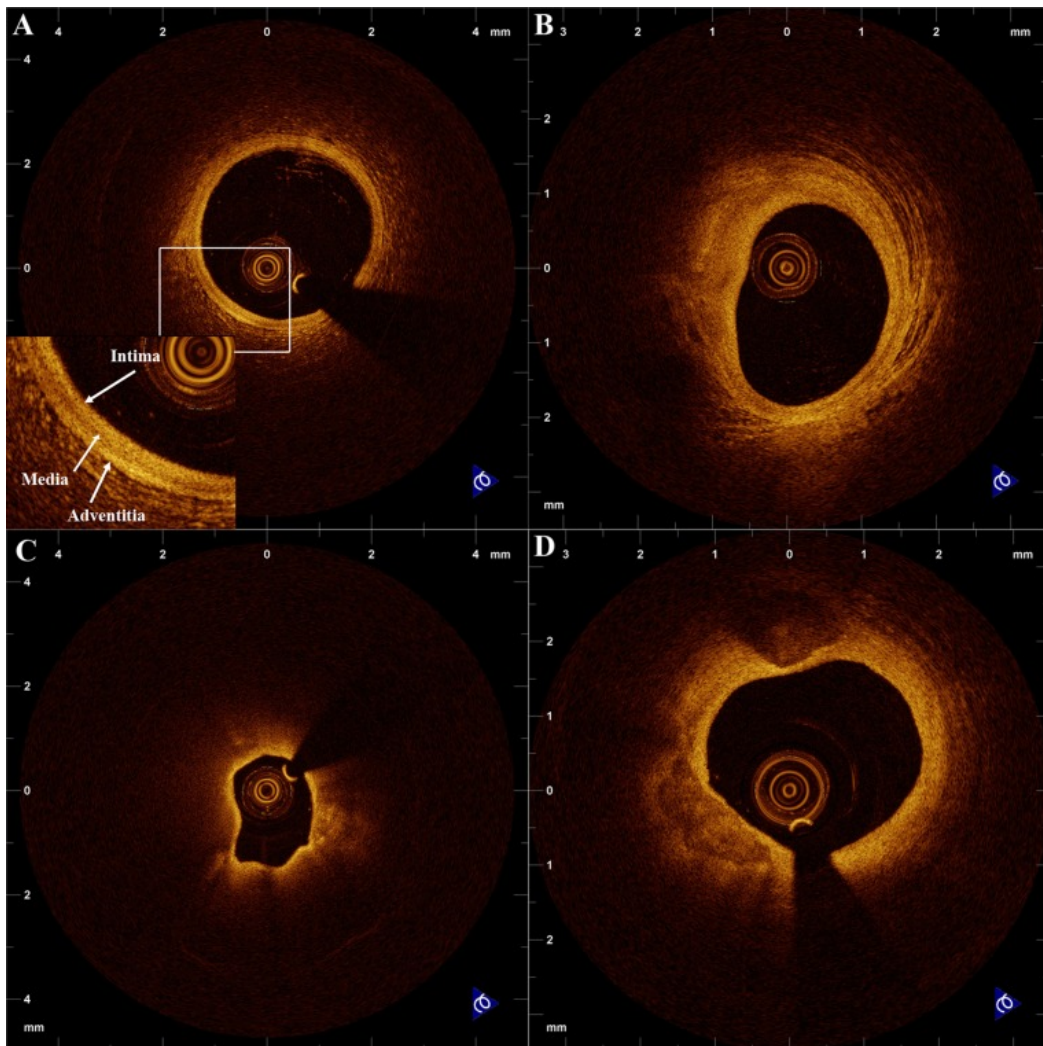


Figura 23. Immagini ottenute con tomografia ottica: A) vaso normale in cui sono evidenziati i 3 strati che formano la parete, B) placca fibrosa, C) placca ricca di lipidi, D) placca fibrocalcifica.

GUIDA DURANTE L'INTERVENTO ALLE CORONARIE

Grazie ai suoi vantaggi tecnici, l'OCT è sempre più usata nell'ambito clinico. A questo proposito, l'OCT è stata usata con successo durante interventi coronarici percutanei, come guida per l'intervento. Questa tecnica è particolarmente utile durante procedure impegnative, come occlusioni croniche totali o impianto di stent per biforcazioni e potrebbe ridurre la mortalità in seguito all'intervento. Durante occlusioni croniche totali, l'OCT è usata per verificare che il catetere-guida sia sistemato nel vaso corretto. In caso d'intervento per l'impianto di stent per biforcazioni, con la

ricostruzione 3D delle immagini OCT è possibile determinare la posizione del vaso principale e la relativa posizione del vaso laterale, che è essenziale per stabilire la strategia migliore per condurre l'intervento.

VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA VASCOLARE DOPO L'IMPIANTO DI STENT CORONARICO

Un'altra importante applicazione dell'OCT riguarda la valutazione delle possibili complicazioni in seguito all'impianto di uno stent, inclusa la valutazione della copertura incompleta della struttura, nelle restenosi, nelle trombosi e nelle neoaterosclerosi. Informazioni fondamentali possono essere ottenute con l'OCT anche riguardo al progresso e alla guarigione dell'area sottoposta a stent. Studi comparativi tra ultrasuoni intravascolari e OCT danno grande merito all'OCT nel rilevare qualsiasi complicazione dopo interventi coronarici percutanei. I report, infatti, hanno mostrato che l'OCT può trovare più casi di mal apposizione o apposizione incompleta di stent o sporgenze di placche rispetto agli ultrasuoni.

COPERTURA DELLO STENT

Diversi studi sono stati eseguiti per valutare la sicurezza degli stent usando l'OCT, in particolare per determinare l'estensione dell'apposizione dello stent e la copertura neointimale. Questa informazione è vitale per capire come procede la guarigione e per definire il trattamento migliore cui sottoporre i pazienti, specialmente per rilevare quelli che potrebbero essere a rischio di restenosi e/o trombosi, che è legata alla copertura incompleta della struttura. L'OCT è in grado di rilevare persino uno strato di copertura neointimale di soli 10 μm , diversamente da altre tecniche. Tuttavia potrebbe non essere in grado di differenziare una copertura da endotelizzazione da depositi di fibrina. Negli ultimi anni c'è stata un'intensa ricerca nel valutare come la copertura della struttura sia influenzata dal tipo di stent impiantato.

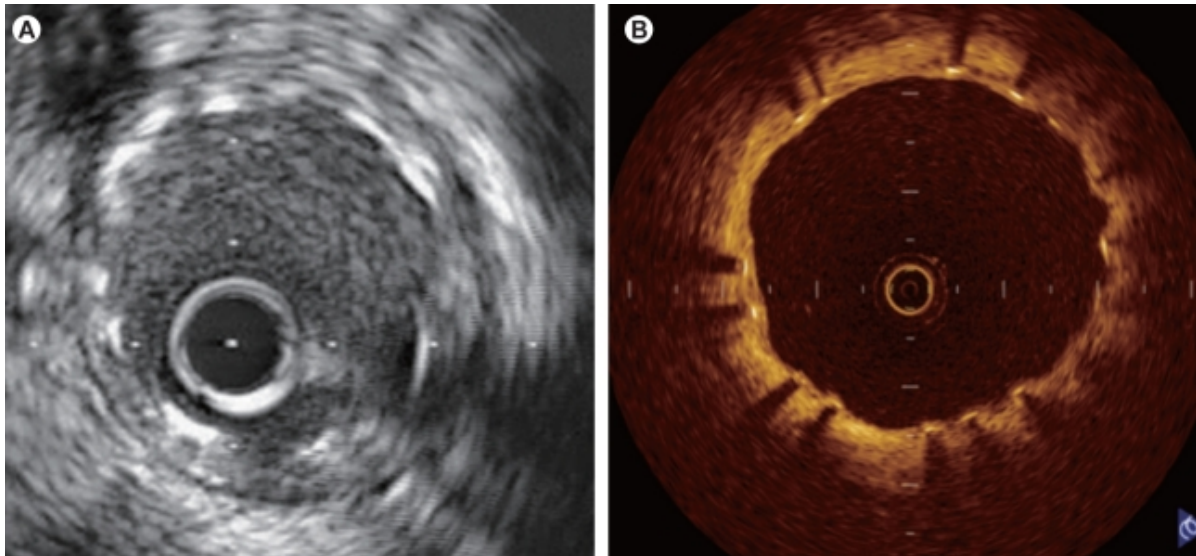


Figura 24. Immagini da ultrasuoni intravascolari (A) e da OCT (B) effettuate 7 mesi dopo l’impianto di uno stent. Mentre l’immagine ad ultrasuoni non mostra crescita della parete intima, l’immagine OCT mostra un sottile stato di copertura neointima (-100 μm).

VALUTAZIONE DI TROMBOSI DELLO STENT

Lo sviluppo di stent a rilascio di farmaco ha portato efficaci miglioramenti e riduzione di restenosi dopo le procedure d’intervento. Tuttavia, altri problemi sono sorti, in quanto le trombosi tardive da stent e le restenosi causate da mal apposizione sono diventate più comuni. In particolare, due meccanismi sono stati suggeriti per spiegare le trombosi da stent. Un meccanismo coinvolge i cambi morfologici durante la guarigione dei vasi dopo l’impianto, come conseguenza della mal apposizione e della copertura incompleta; mentre la seconda ipotesi è associata con la rottura del tessuto neoaterosclerotico. Differenti tipi di trombo raccolto sembrano supportare questa teoria, ma ulteriori studi sono richiesti per spiegare appieno le trombosi tardive e le loro implicazioni cliniche. È stato condotto uno studio nella rilevazione di trombi da stent attraverso OCT ed è stato dimostrato come questa tecnica sia in grado di identificare tutti i trombi presenti e, nonostante la loro presenza stendesse un’ombra sullo stent, riconosca le mal apposizioni, le coperture incomplete e le restenosi dello stent. Al contrario gli ultrasuoni falliscono completamente nell’identificare strutture non ricoperte e neoaterosclerosi.

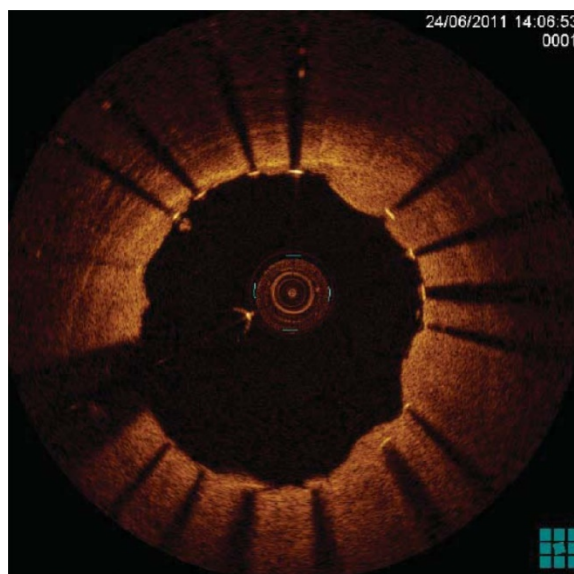


Figura 25. Immagine OCT di uno stent subito dopo l'impianto. Da notare la protrusione del materiale trombotico attraverso la struttura dello stent.

VALUTAZIONE DI RESTENOSI DELLO STENT

Restenosi interne allo stent sono definite un eccesso di proliferazione neointima che avviene dopo l'impianto di stent. Questa condizione può progredire in aterosclerosi e restenosi eterogenea accompagnata da calcificazioni e accumulo di grassi, che potenzialmente potrebbero causare interruzione del lume vascolare. È comunemente considerato che la restenosi sia una condizione comune nei pazienti con stent in metallo nudo e raro in quelli con stent a rilascio di farmaco, ma studi recenti hanno mostrato altre importanti differenze morfologiche e strutturali tra le restenosi sviluppate con l'uno e con l'altro. La restenosi dello stent in metallo nudo è caratterizzata principalmente da un rapido accumulo di cellule muscolari lisce, che appaiono come aree omogenee nelle immagini OCT. Invece, la restenosi che si sviluppa con stent a rilascio di farmaco, comporta un lento accumulo di tessuto ricco di proteoglicani, che si manifesta nell'immagine OCT a strati o comunque eterogeneo.

NEOATEROSCLEROSI

Lo sviluppo di neoaterosclerosi diversi anni dopo l'impianto è stato identificato usando l'OCT. Diversi fattori sono legati a questa condizione, non solo il tipo di stent e l'età, ma anche il fumo e disturbi renali cronici, ad esempio. I risultati positivi ottenuti con OCT nel rilevare questo disturbo significano che presto questa tecnica diverrà indispensabile per l'uso clinico.

ONCOLOGIA

Più dell'80% di tutti i tumori si origina a partire dall'epitelio e mostra un disturbo della normale morfologia dei tessuti. Gli attuali metodi di diagnosi di questi tumori si basano sull'esame istologico e citologico del tessuto o dei fluidi corporei. A questo proposito sono raccolte biopsie, ma il procedimento di analisi è piuttosto lungo. Per evitare questa lunga procedura, al momento sono studiate nuove modalità d'imaging ottico che permettano di rilevare lesioni maligne in tempo reale ed in vivo. Per questo motivo c'è un interesse considerevole nei confronti della tomografia a coerenza ottica, che ha mostrato un grande potenziale nella diagnosi di tumori epiteliali poiché non invasiva e real-time; oltre a ciò possono essere estratte informazioni funzionali quantitative. Da sottolineare poi il fatto che in molti casi sia stato dimostrato l'accordo tra le immagini OCT e l'istologia nei tessuti epiteliali; questo fa sì che l'OCT possa giocare un ruolo di primo piano nella diagnosi delle lesioni cancerose. Si può così dire che l'OCT rappresenta un metodo per una "biopsia ottica" del tessuto in situ, che può guidare la biopsia per migliorare l'accuratezza nell'escissione del campione.

In particolare, l'imaging strutturale è usato per misurare il volume del tumore. Poiché la diffusione ottica è più varia attraverso i tessuti molli rispetto alla diffusione acustica o all'assorbimento dei raggi X, le immagini OCT forniscono un maggior contrasto. Questo migliora l'abilità nel rilevare i margini dei tumori e mostra più chiaramente il microambiente del sito canceroso. Oltre a ciò, l'OCT può discriminare tra compartimenti vitali e non vitali del tumore attraverso i relativi cambi nella diffusione ottica. Mentre i cambiamenti nella struttura dei tessuti che sono alla base della diversa diffusione non sono stati identificati, una correlazione tra un'alta diffusione e una perdita di vitalità è stata confermata dall'istologia. Tuttavia ci vuole cautela nell'associare cambi nella diffusione allo stato di vitalità, poiché altri processi potrebbero manifestare cambi nella diffusione simili.

La tomografia a coerenza ottica ha mostrato potenzialità le rilevare presenze cancerose a livello del seno, della vescica, del tratto gastrointestinale, del tratto riproduttivo, dell'apparato respiratorio e della pelle.

CANCRO DELLA PELLE NON MELANOMA

Il tumore della pelle non melanoma una tipologia tumorale prevalentemente diffusa nelle popolazioni dalla pelle chiara. La tomografia a coerenza ottica può aiutare nella sua gestione, specialmente in pazienti con lesioni multiple o lesioni localizzate. In generale l'OCT è in grado di mostrare i diversi strati di pelle ed è in grado di misurare lo spessore del tumore.

MELANOMA MALIGNO

Nel caso di melanoma maligno, lo spessore è il fattore più importante per la valutazione dello stadio del tumore, per determinare le dimensioni dei margini di escissione e per la necessità di una biopsia del linfonodo sentinella. L'uso dell'OCT per misurare lo spessore del melanoma potrebbe permettere una migliore pianificazione preoperatoria. Inoltre, uno strumento di diagnostica non invasiva di questo tipo, capace di distinguere tra nevi benigni e melanoma maligno, potrebbe diminuire la quantità di biopsie inutili che vengono raccolte. In termini istopatologici, il melanoma maligno consiste di melanociti anomali che invadono l'epidermide. Queste cellule atipiche potrebbero avere indici di rifrazione nucleare diversi, portando così a differenze nella diffusione. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi in questa direzione.

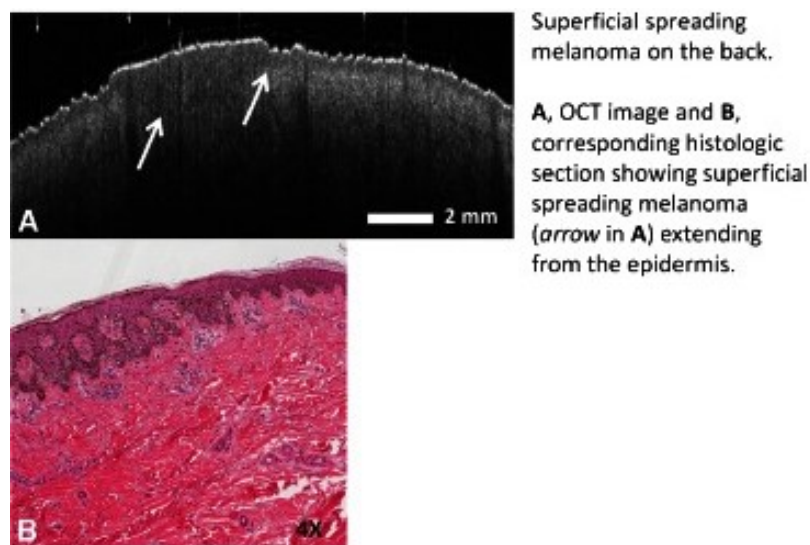


Figura 26

CANCRO ESOFAGEO

I due principali sottotipi di cancro all'esofago sono il carcinoma a cellule squamose dell'esofago, che è il più comune nel mondo in via di sviluppo, e l'adenocarcinoma esofageo, più frequente nel mondo sviluppato. Le cause più comuni del tipo a cellule squamose sono il tabagismo, l'alcool, le bevande molto calde e una dieta piuttosto povera; mentre le cause dell'adenocarcinoma sono solitamente il fumo di tabacco, l'obesità e il reflusso acido, che favorisce la formazione dell'esofago di Barrett, un precursore dell'adenocarcinoma.

Diversi studi in vitro hanno dimostrato la validità della tomografia a coerenza ottica nel tratto gastro-intestinale: in questi studi è stato identificato come una struttura multistrato caratterizzata da una sequenza di strati ipo e iper-riflessivi. Il tessuto neoplastico e quello normale hanno mostrato motivi diversi nella retrodiffusione della luce. Studi in-vivo hanno confermato quanto evidenziato. L'esofago e la giunzione esofago-gastrica sono stati finora gli organi più indagati con tomografia a coerenza ottica nel tratto gastro-intestinale, che è in grado di riconoscerne la struttura multistrato. La maggior parte degli studi pubblicati sfrutta l'OCT per rilevare displasie e tumori allo stadio iniziale nell'esofago di Barrett. Al momento, per seguire pazienti con questa patologia sono usate la biopsia e l'endoscopia. Poiché la profondità di penetrazione non supera 1-2 mm, la tecnologia OCT potrebbe essere utile, non solo nel rilevare le displasie, ma anche nella stadiazione di tumori superficiali che altrimenti sarebbero difficilmente identificabili. Allora, la tecnica appare di cruciale importanza nella gestione del disturbo.

L'esofago di Barrett è caratterizzato dalla presenza di metaplasie intestinali specializzate. Dettagli predittivi nell'OCT per la presenza di metaplasie sono: l'assenza della struttura a strati dell'epitelio squamoso, una struttura disorganizzata con retrodiffusione disomogenea del segnale e una superficie irregolare della mucosa. Per quanto riguarda l'adenocarcinoma, dettagli caratteristici nell'immagine OCT sono la mancanza della struttura stratificata della parete dell'esofago e una retrodiffusione eterogenea del segnale. Queste caratteristiche permettono di identificare chiaramente le lesioni e differenziare tra tessuti neoplastici e non neoplastici in disturbi avanzati.

Oltre a questo, la tomografia a coerenza ottica potrebbe essere usata nel selezionare aree sospette per una biopsia ulteriore. Le principali limitazioni della tomografia a coerenza ottica endoscopica sono la variabilità nel tasso di accuratezza degli endoscopisti e difficoltà nell'interpretazione real-time. Recenti innovazioni nell'OCT endoscopico hanno reso possibile acquisire aree più ampie come l'intero esofago distale, il tutto ad altissima risoluzione.

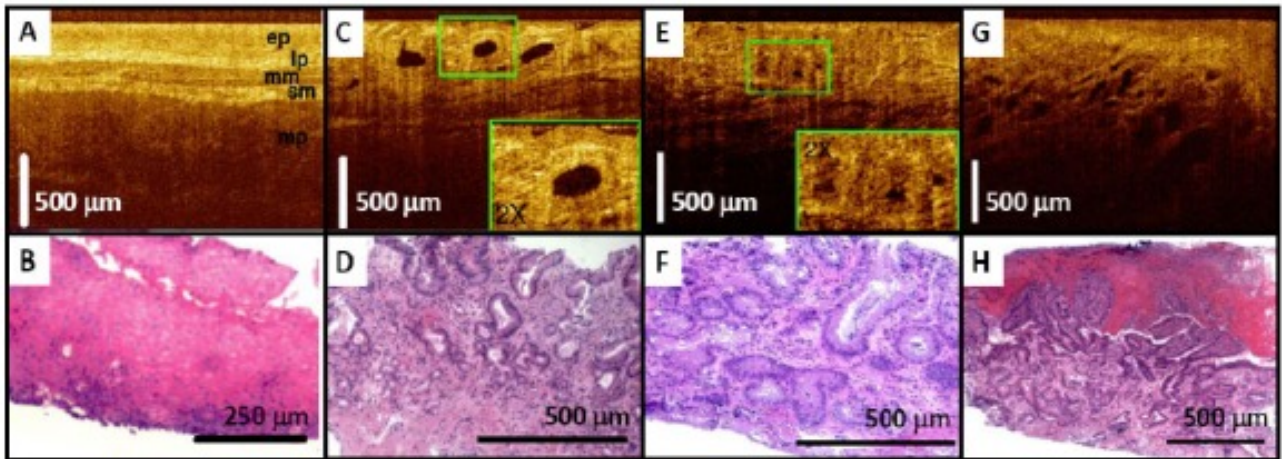


Figura 27 immagine ad alta risoluzione da endoscopio OCT (fila in alto) e corrispondente istologia (fila in basso). A-B: esofago normale. C-D: esofago di Barrett. E-F: displasia di grado elevato. G-H: adenocarcinoma.

CANCRO CERVICALE

Il cancro cervicale colpisce la cervice, o collo dell'utero, ed è il terzo tipo di tumore che colpisce le donne. I tumori della cervice uterina sono classificati in base alle cellule da cui prendono origine e sono prevalentemente di due tipi: il carcinoma a cellule squamose (l'80% dei tumori della cervice) e l'adenocarcinoma (circa il 15%). La maggior parte dei tumori di questo tipo si evolve molto lentamente e iniziano con una displasia precancerosa, fase che può essere rilevata da un Pap-test e che è curabile.

Tuttavia il Pap-test ha dei limiti intrinseci, ad esempio la sua sensibilità, valutata circa del 60-70%; ciò significa che da un esame possono presentarsi falsi positivi o anche falsi negativi, perciò diagnosi sbagliate sono ancora molto frequenti. In questo caso è possibile utilizzare l'OCT, integrato in colposcopi o endoscopi, come ulteriore esame di approfondimento e controllo. Infatti, dagli studi effettuati è risultata la capacità della tomografia a coerenza ottica nell'identificare con successo cambi neoplastici e microstrutturali. Lo stratificato epitelio squamoso che ricopre la cervice uterina è facilmente acquisibile con tomografia a coerenza ottica, fornendo una valutazione della membrana basale e dello stroma sottostante. L'OCT può dimostrare in vivo la scomparsa della normale struttura derivante dal cancro invasivo della cervice. Inoltre la tomografia a coerenza può rilevare i confini del processo patologico persino meglio della colposcopia standard. Infatti, fornisce dati obiettivi riguardo al sito della transizione da epitelio normale a patologico. Questa informazione è indispensabile poiché permette di localizzare le aree patologiche in maniera accurata, così da effettuare biopsie precise con un'adeguata escissione della zona patologica.

CANCRO AL SENO

È il tumore più frequente nel sesso femminile e rappresenta il 29% di tutti i tumori che colpiscono le donne ed è la prima causa di mortalità per tumore nelle donne, con un tasso di mortalità del 17% di tutti i decessi per causa oncologica del sesso femminile. Poiché gli screening del cancro al seno migliorano, un numero maggiore di lesioni più piccole viene identificata prima, portando a procedure sempre più seno-conservative. In particolare, avere un chiaro margine chirurgico rappresenta una sfida tecnica con importanti implicazioni cliniche. L'OCT è stata introdotta in questo campo, come tecnica d'imaging intraoperatoria ad alta risoluzione, che valuta i margini chirurgici, fornendo immagini microscopiche real-time fino a 2 mm al di sotto della superficie del tessuto. La tomografia a coerenza ottica fornisce al chirurgo la capacità di valutare al meglio lo stato del margine, riducendo così la necessità di una rimozione di tessuto aggiuntiva ed inutile. L'OCT identifica aree di adipociti omogenei, regioni sospette ad alta diffusione e motivi diffusivi eterogenei come dettagli chiave per classificare i margini. L'ampia differenza relativa nelle dimensioni cellulari permette la facile distinzione degli adipociti dalle cellule tumorali. Un aumento della densità nucleare e cambi nella struttura della cromatina si pensa siano i responsabili degli alti livelli diffusivi delle cellule cancerose. A stadi più avanzati del tumore, le caratteristiche osservate cambiano, i dotti e i lobuli vengono riempiti e appaiono masse tumorali eterogenee. Le regioni focali di diffusione inserite nel tessuto adiposo sono identificate tramite OCT e sono indicative di piccoli addensamenti di cellule tumorali. Con l'aumentata velocità di acquisizione della tomografia a coerenza ottica è possibile un incremento del numero di margini chirurgici positivi, altrimenti non visibili a causa del campionamento limitato durante le analisi istopatologiche standard.

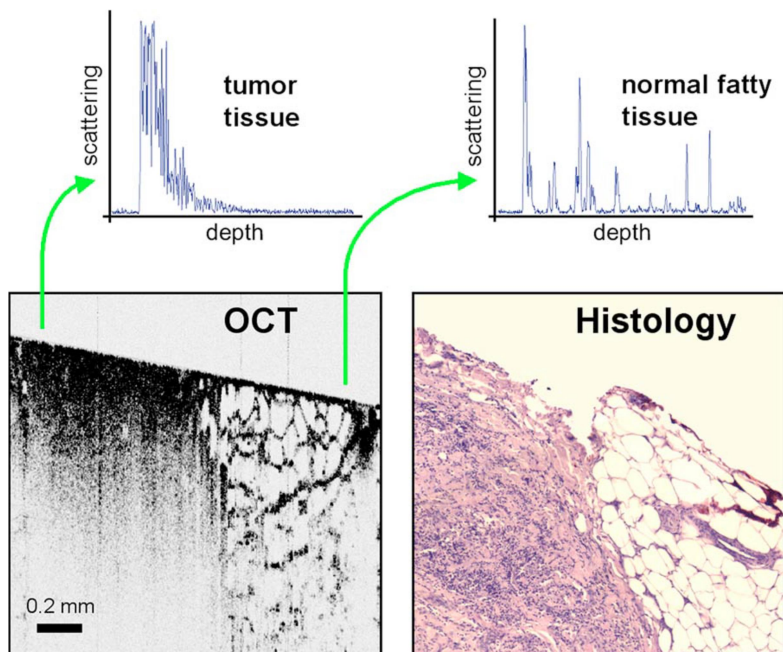


Figura 28. Immagine OCT di cancro al seno e rispettiva immagine istopatologica. È possibile vedere i margini tra il carcinoma invasivo e il normale tessuto adiposo.

CANCRO AL POLMONE

Il tumore del polmone, che si può sviluppare nelle cellule di bronchi, bronchioli e alveoli, può costituire una massa che ostruisce il corretto flusso dell'aria, oppure provocare emorragie polmonari o bronchiali. Non esiste un solo tipo di tumore al polmone, bensì diverse tipologie di malattia a seconda del tessuto polmonare interessato e inoltre il polmone può rappresentare la sede di metastasi provenienti da altri tipi di cancro. Il tumore ai polmoni è la prima causa di morte nei paesi industrializzati e rappresenta il 20% dei tumori maligni nelle persone di sesso maschile. Una delle cause più frequenti è il fumo delle sigarette, che contiene circa 60 cancerogeni certi ed è responsabile di circa il 90% dei tumori polmonari mortali nei paesi sviluppati. Inoltre la sua azione coinvolge anche il sistema immunitario, diminuendo la capacità dell'organismo di controllare e uccidere cellule neoplasiche. Altre cause sono l'amianto, l'inquinamento atmosferico, virus e predisposizione genetica.

La diagnosi di cancro ai polmoni deve essere fatto a livello microscopico e una diagnosi accurata del tipo specifico di tumore al polmone è essenziale per determinare un trattamento ottimo, poiché le diagnosi scorrette potrebbero risultare nella somministrazione di terapie inappropriate con conseguenze pericolose. Gli esami per la diagnosi precoce del carcinoma polmonare sono,

innanzitutto l'esame istologico, fondamentale per impostare il programma della terapia, poi radiografia e TAC del torace sono altrettanto importanti, nei casi dubbi si adottano anche metodi più invasivi e fastidiosi come la broncoscopia.

Circa il 70% dei tumori al polmone non sono asportabili per l'analisi al momento della comparsa, e la biopsia transtoracica e la biopsia transbronchiale sono i soli metodi di diagnosi. La capacità nel valutare un volume di tessuto più ampio e visualizzare l'architettura tissutale nei carcinomi polmonari, potrebbe migliorare significativamente l'abilità nel dare una diagnosi definitiva della patologia. Tuttavia, acquisire questi campioni richiede procedure chirurgiche invasive ad alto rischio. L'imaging ottico può fornire una visualizzazione ad alta risoluzione di grandi tessuti, senza comportare la rimozione fisica del tessuto. In particolare si usa l'OCT per rilevare accuratamente e diagnosticare patologie in vivo e per valutare i fini dettagli micro-architetturali, sia nel polmone normale che in quello malato.

Sebbene gli studi non supportino ancora l'uso della tomografia a coerenza ottica come sostituto completo della biopsia tissutale a causa di sensibilità e specificità non abbastanza alte, essa fornisce informazioni utili sulla struttura tissutale che sono difficili da avere con la biopsia standard. L'OCT potrebbe allora essere usata per guidare il campionamento del tessuto all'interno delle masse sospette. Inoltre l'OCT potrebbe aiutare nella diagnosi della patologia in maniera complementare alla biopsia, specialmente in casi di carcinoma poco differenziati.

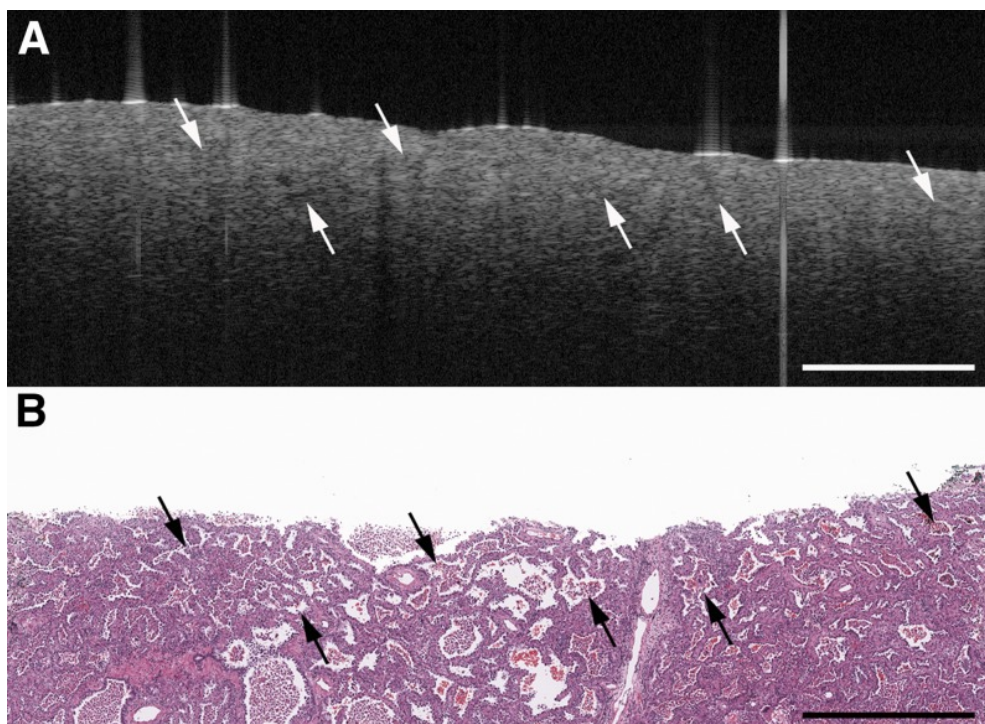


Figura 29. Immagine OCT di adenocarcinoma (A) e corrispondente istologia, che ne conferma la presenza (B)

Negli ultimi anni la ricerca sulla tecnologia della tomografia a coerenza ottica si è sviluppata verso un'area molto attiva dell'ottica biomedica. In particolare, la tecnologia dell'OCT è strettamente relazionata alla fotonica e alle fibre ottiche e può utilizzare molte delle recenti innovazioni tecnologiche in queste aree. Lo sviluppo di tecnologie ad alta rapidità per la produzione d'immagini in tempo reale, che riducono gli artefatti legati al movimento, ha reso possibili molte applicazioni cliniche. Inoltre l'OCT è stata integrata con un'ampia gamma di mezzi di visualizzazione, tra cui i microscopi e i bio-microscopi con lampada a fessura, le sonde manuali, i cateteri e gli endoscopi che producono immagini intraluminari ed aghi che possono realizzare diagnostica per immagini negli organi solidi. Queste migliorie nel realizzare sonde OCT molto piccole e ad alta risoluzione, hanno determinato un accesso più facile e veloce alle aree d'indagine. Oltre a ciò, fonti luminose e laser a impulsi brevi hanno drasticamente migliorato la risoluzione assiale dell'immagine da 10-15 μm a 1-5 μm , e promettono di migliorarla ulteriormente. Risoluzioni d'immagine a livello cellulare e subcellulare sono state ottenute in campioni biologici in fase di sviluppo, spesso in combinazione con la microscopia tissutale, permettendo così di visualizzare il ciclo mitotico e di seguire la migrazione cellulare. Bisogna però dire che le attuali sorgenti luminose per imaging OCT ad altissima risoluzione, vale a dire i laser ad impulsi brevi, non sono molto comode per l'uso clinico a causa della loro complessità e dei loro costi. Ciononostante, con lo sviluppo di nuove tecnologie, specialmente nell'industria delle telecomunicazioni, sorgenti compatte e a basso costo potrebbero diventare disponibili nei prossimi anni. Poiché le capacità di risoluzione migliorano, è sorto un bisogno per maggiori livelli di contrasto nelle immagini. Molti diversi approcci a questa sfida sono sotto indagine da parte dei ricercatori e, senza dubbio, agenti che aumentino il contrasto nelle immagini OCT e che possano essere usati clinicamente, saranno un argomento di grande interesse per la ricerca nei prossimi anni.

Altre aree attive di ricerca OCT sono nel campo della visualizzazione funzionale. Ne è un esempio la tomografia a coerenza ottica a risoluzione spettroscopica, che consente di ottenere in ogni pixel una misurazione dello spettro della luce riflessa o retrodiffusa, permettendo di migliorare il contrasto dei tessuti in base alle loro differenti proprietà ottiche. Inoltre, gli indicatori spettroscopici d'idratazione tissutale e ossigenazione emoglobinica possono essere misurati e visualizzati, come si è visto in alcuni modelli animali. Allo stesso modo, la visualizzazione e la misurazione Doppler del flusso dei liquidi biologici tramite OCT, riesce a monitorare il profilo di velocità nei vasi con elevata sensibilità e a misurare la densità capillare, elementi che potrebbero essere importanti nell'analisi dell'angiogenesi, della neovascolarizzazione e della fisiologia vascolare in generale.

CONCLUSIONI

Abbiamo visto quali siano i principi fisici alla base del funzionamento della tomografia a coerenza ottica e ne abbiamo analizzato gli aspetti tecnici, determinanti in fase di acquisto e scelta del prodotto, anche in relazione ad altre tecnologie simili. È emerso come la tecnologia OCT presenti diverse caratteristiche utili nella diagnostica per immagini. In sintesi:

- Può realizzare risoluzioni che si avvicinano alla convenzionale istopatologia in maniera non invasiva.
- Può essere eseguita in situ ed in tempo reale.
- Può essere eseguita utilizzando un'ampia gamma di strumenti, quali oftalmoscopi, microscopi, sonde manuali, endoscopi, cateteri, laparoscopi ed aghi.
- L'OCT può fornire un'immagine funzionale utilizzando metodiche spettroscopiche, studio del Doppler del flusso sanguigno, misurazione dell'ossigenazione e della birifrangenza tissutale.
- L'elaborazione computerizzata dell'immagine fornisce valutazioni quantitative e produce informazioni diagnostiche obiettive.

Per tutti questi motivi la tomografia a coerenza ottica è sempre più utilizzata in ricerca e in ambito clinico. In particolare ci siamo concentrati sulle applicazioni di questa tecnologia nell'oftalmologia, nella cardiologia e nell'oncologia, che rappresentano le aree principali di applicazione. Tuttavia non bisogna dimenticare che la tomografia a coerenza ottica promette di avere un impatto clinico anche in altri ambiti. Di fatto, lo sviluppo della tecnologia, sempre più ad alta risoluzione e velocità grazie a nuove sorgenti luminose, oltre allo sviluppo di sistemi di trasporto sempre più sofisticati, rappresentano passi decisivi per molte applicazioni cliniche future.

Molta ricerca deve ancora essere fatta e numerosi studi clinici effettuati per superare i limiti della tecnologia e determinare appieno in quali situazioni cliniche la tomografia possa giocare un ruolo di primissimo piano. Le capacità uniche della tomografia a coerenza ottica suggeriscono come possa avere, e in certi casi già ha, un impatto efficace nella diagnosi e nella gestione clinica di molti disturbi. Questo, in tanti casi, non significa necessariamente un'esclusione delle attuali tecnologie di imaging, bensì implica un'integrazione con l'OCT per massimizzarne la proprietà.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

Joel S. Schuman, Carmen A. Puliafito, James C. Fujimoto. *"Tomografia a coerenza ottica delle patologie oculari"*. Verduci Editore , 2006

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

A F Fercher *et al* 2003. Optical coherence tomography - principles and applications.

Reports on Progress in Physics, 66 239. <http://dx.doi.org/10.1088/0034-4885/66/2/204>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

<http://www.medscape.com>

<http://www.octnews.org/>

<http://www.giornaledicardiologia.it/>

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

<https://www.osapublishing.org>

<en.wikipedia.org>

ARTICOLI DI RIFERIMENTO

Terashima, M., Kaneda, H., & Suzuki, T. (2012). The Role of Optical Coherence Tomography in Coronary Intervention. *The Korean Journal of Internal Medicine*, 27(1), 1–12. <http://doi.org/10.3904/kjim.2012.27.1.1>

Karanasos, A., Ligthart, J., Witberg, K., van Soest, G., Bruining, N., & Regar, E. (2012). Optical Coherence Tomography: Potential Clinical Applications. *Current Cardiovascular Imaging Reports*, 5(4), 206–220. <http://doi.org/10.1007/s12410-012-9140-x>

Podoleanu, A. G. (2012). Optical coherence tomography. *Journal of Microscopy*, 247(3), 209–219. <http://doi.org/10.1111/j.1365-2818.2012.03619.x>

Huang, D., Swanson, E. A., Lin, C. P., Schuman, J. S., Stinson, W. G., Chang, W., ... Fujimoto, J. G. (1991). Optical Coherence Tomography. *Science (New York, N.Y.)*, 254(5035), 1178–1181.

Fujimoto, J. G., Pitris, C., Boppart, S. A., & Brezinski, M. E. (2000). Optical Coherence Tomography: An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy. *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 2(1-2), 9–25.

Wessels, R., De Bruin, D. M., Faber, D. J., Van Leeuwen, T. G., Van Beurden, M., & Ruers, T. J. M. (2014). Optical biopsy of epithelial cancers by optical coherence tomography (OCT). *Lasers in Medical Science*, 29(3), 1297–1305. <http://doi.org/10.1007/s10103-013-1291-8>

- Testoni, P. A., & Mangiavillano, B. (2008). Optical coherence tomography in detection of dysplasia and cancer of the gastrointestinal tract and bilio-pancreatic ductal system. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 14(42), 6444–6452. <http://doi.org/10.3748/wjg.14.6444>
- Hariri, L. P., Mino-Kenudson, M., Lanuti, M., Miller, A. J., Mark, E. J., & Suter, M. J. (2015). Diagnosing Lung Carcinomas with Optical Coherence Tomography. *Annals of the American Thoracic Society*, 12(2), 193–201. <http://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201408-370OC>
- Nioka, S., & Chen, Y. (2011). Optical Technology Developments in Biomedicine: History, Current and Future. *Translational Medicine @ UniSa*, 1, 51–150.
- Tsai, T.-H., Fujimoto, J. G., & Mashimo, H. (2014). Endoscopic Optical Coherence Tomography for Clinical Gastroenterology. *Diagnostics*, 4(2), 57–93. <http://doi.org/10.3390/diagnostics4020057>
- Nguyen, F. T., Zysk, A. M., Chaney, E. J., Kotynek, J. G., Oliphant, U. J., Bellafiore, F. J., ... Boppart, S. A. (2009). Intraoperative Evaluation of Breast Tumor Margins with Optical Coherence Tomography. *Cancer Research*, 69(22), 8790–8796. <http://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-4340>
- Bydlon, T. M., Barry, W. T., Kennedy, S. A., Brown, J. Q., Gallagher, J. E., Wilke, L. G., ... Ramanujam, N. (2012). Advancing Optical Imaging for Breast Margin Assessment: An Analysis of Excisional Time, Cautery, and Patent Blue Dye on Underlying Sources of Contrast. *PLoS ONE*, 7(12), e51418. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0051418>
- Gallwas, J., Turk, L., Friese, K. and Dannecker, C. (2010), Optical coherence tomography as a non-invasive imaging technique for preinvasive and invasive neoplasia of the uterine cervix. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 36: 624–629. doi:10.1002/uog.7656
- Sang-Won Lee, Ji-Yeong Yoo, Jin-Ho Kang, Moon-Sik Kang, Soon-Hee Jung, Yosep Chong, Dong-Su Cha, Kyung-Hee Han, and Beop-Min Kim, "Optical diagnosis of cervical intraepithelial neoplasm (CIN) using polarization-sensitive optical coherence tomography," *Opt. Express* 16, 2709-2719 (2008)
- Vakoc, B. J., Fukumura, D., Jain, R. K., & Bouma, B. E. (2012). Cancer imaging by optical coherence tomography: preclinical progress and clinical potential. *Nature Reviews. Cancer*, 12(5), 363–368. <http://doi.org/10.1038/nrc3235>
- F. I. Feldchtein, G. V. Gelikonov, V. M. Gelikonov, R. V. Kuranov, A. M. Sergeev, N. D. Gladkova, A. V. Shakhov, N. M. Shakhova, L. B. Snopova, A. B. Terent'eva, E. V. Zagainova, Yu. P. Chumakov, and I. A. Kuznetzova, "Endoscopic applications of optical coherence tomography," *Opt. Express* 3, 257-270 (1998)
- A. M. Sergeev, V. M. Gelikonov, G. V. Gelikonov, F. I. Feldchtein, R. V. Kuranov, N. D. Gladkova, N. M. Shakhova, L. B. Snopova, A. V. Shakhov, I. A. Kuznetzova, A. N. Denisenko, V. V. Pochinko, Yu. P. Chumakov, and O. S. Streltsova, "In vivo endoscopic OCT imaging of precancer and cancer states of human mucosa," *Opt. Express* 1, 432-440 (1997)