

Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Scuola Politecnica e delle Scienze di Base
Area Didattica di Scienze Matematiche Fisiche e Naturali

Dipartimento di Fisica “Ettore Pancini”



Laurea triennale in Ottica e Optometria

OCT: funzionamento e applicazioni in contattologia

Relatori:
Prof. Rosario De Rosa

Candidato:
Emanuele Gallo
M44000660

A.A. 2020/2021

SOMMARIO

INTRODUZIONE.....	4
1 LA LUCE	5
1.1 ONDE ELETTROMAGNETICHE	5
1.2 EQUAZIONI DI MAXWELL	5
1.3 EQUAZIONI DELLE ONDE ELETTROMAGNETICHE.....	5
1.4 ONDA PIANA	6
1.4.1 CARATTERISTICHE DI UN'ONDA PIANA	7
1.5 INTENSITÀ LUMINOSA	8
1.5.1 VETTORE DI POYNTING	8
1.5.2 INTENSITÀ LUMINOSA ASSOCIATA AD UN'ONDA PIANA	9
1.5.3 INTENSITÀ LUMINOSA MEDIANTE RAPPRESENTAZIONE COMPLESSA.....	9
1.6 PRINCIPIO DI SOVRAPPOSIZIONE	10
1.7 CONCETTO DI COERENZA	10
1.7.1 COERENZA SPAZIALE.....	10
1.7.2 COERENZA TEMPORALE	11
1.8 INTERFERENZA	11
1.8.1 INTERFERENZA PRODOTTA DA DUE SORGENTI	12
1.8.2 MODELLO DI ANALISI	12
2 PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO OCT	15
2.1 OCT.....	15
2.1.1 FORMAZIONE DELLE IMMAGINI.....	15
2.1.2 INTERFEROMETRO DI MICHELSON CON LUCE COERENTE	16
2.1.3 INTERFEROMETRO DI MICHELSON CON LUCE A BASSA COERENZA.....	18
2.1.4 CONFIGURAZIONI BASE OCT	19
2.2 PARAMETRI FUNZIONALI	20
2.2.1 LUNGHEZZA D'ONDA DI LAVORO.....	20
2.2.2 RISOLUZIONE SPAZIALE	20
2.2.3 SENSIBILITÀ.....	21
2.2.4 VELOCITÀ DI ACQUISIZIONE.....	21
2.2.5 PROFONDITÀ DI IMAGING ASSIALE.....	21
2.3 TIME-DOMAIN OCT.....	22
2.4 FREQUENCY DOMAIN OCT	24
2.5 SPECTRAL-DOMAIN OCT	24

2.6	SWEPT-SOURCE OCT	26
2.7	CONFRONTO TRA LE IMPLEMENTAZIONI.....	27
2.8	PROBLEMATICHE LEGATE ALLA TECNOLOGIA	28
2.8.1	DISPERSIONE	28
2.8.2	SPECKLE NOISE	29
2.8.3	CADUTA DEL RAPPORTO SEGNALE-RUMORE (SRN DROPP OFF).....	29
3	APPLICAZIONI DELLA TECNOLOGIA.....	31
3.1.1	CENNI DI ANATOMIA DEL SEGMENTO ANTERIORE E POSTERIORE DELL'OCCHIO	31
3.1.2	OCT DEL SEGMENTO ANTERIORE.....	32
3.1.3	OCT DEL SEGMENTO POSTERIORE.....	32
3.2	APPLICAZIONE DELL'OCT IN CONTATTOLOGIA	33
3.2.1	APPLICAZIONE DI LENTI A CONTATTO SCLERALI	33
3.2.2	VALUTAZIONE POST-ORTOCHERATOLOGIA.....	36
3.2.3	VALUTAZIONE DEL FILM LACRIMALE.....	37
3.3	CONFRONTO CON ALTRE TECNICHE DI IMAGING	38
3.4	INNOVAZIONI DELLA TECNOLOGIA	39
3.4.1	OCT SENSIBILE ALLA POLARIZZAZIONE (PS-OCT).....	39
3.4.2	OCT NEL VISIBILE (Vis-OCT)	40
3.4.3	OTTICA ADATTIVA OCT (AO-OCT).....	40
3.4.4	HIGH SPEED OCT	41
	CONCLUSIONI	42
	BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	43
	RINGRAZIAMENTI.....	45

INTRODUZIONE

Lo scopo di questa tesi è descrivere la tecnica di Tomografia a Coerenza Ottica (OCT), questa è una tecnica non invasiva in grado di produrre in maniera rapida immagini trasversali ad alta risoluzione della microstruttura interna dei materiali e dei sistemi biologici, anche non trasparenti. Ciò è reso possibile dalla rivelazione di luce retrodiffusa o retroriflessa dal campione attraverso un sistema interferometrico. La tecnica permette di ottenere risoluzioni dell'immagine (circa 1-15 micron) tali da essere superiori di uno o due ordini di grandezza rispetto ad altre tecniche di imaging. È stata dimostrata per la prima volta nel 1991, ricavando in vitro immagini della retina umana e di placca aterosclerotica come esempi di imaging in mezzi trasparenti a bassa diffusione, e in mezzi non trasparenti ad alta diffusione. Subito dopo l'introduzione dell'OCT, nel 1994 la tecnica è stata applicata al segmento anteriore dell'occhio.

Dalla sua introduzione, l'imaging OCT è diventato fondamentale in campo oftalmologico non solo per la valutazione anatomica e diagnostica della retina, ma anche del segmento anteriore.

La tesi è strutturata in tre capitoli:

- **Primo capitolo** discute della luce nella sua forma ondulatoria. Per la comprensione del fenomeno di interferenza, vengono descritte alcune proprietà fondamentali di un'onda elettromagnetica.
- **Secondo capitolo** discute del principio di funzionamento, le caratteristiche funzionali e le diverse configurazioni OCT. Inoltre, verranno descritte le problematiche legate alla tecnologia.
- **Terzo capitolo** discute dell'applicazione di questa tecnica con particolare interesse alla contattologia, verrà confrontata con altre tecniche di imaging e verranno mostrati i lavori di ricerca attuali su che aspetti si focalizzano per un miglioramento della tecnica.

1 LA LUCE

1.1 ONDE ELETTROMAGNETICHE

La propagazione della luce è un fenomeno ondulatorio, più precisamente, l'energia emessa da una sorgente luminosa, di natura qualsiasi, viene trasportata nello spazio mediante onde elettromagnetiche.

Un'onda elettromagnetica è definibile attraverso due vettori, il campo elettrico \vec{E} e il campo magnetico \vec{B} , entrambi oscillanti. I due campi insieme costituiscono il campo elettromagnetico.

1.2 EQUAZIONI DI MAXWELL

Nella sua teoria unificata dell'elettromagnetismo, Maxwell dimostrò che i campi Elettrici e Magnetici dipendenti dal tempo soddisfano un'equazione d'onda lineare. Una importante conseguenza di questa teoria è la previsione dell'esistenza delle onde elettromagnetiche. Grazie a questa teoria tutti i fenomeni elettromagnetici sono riconducibili ad un sistema di quattro equazioni, dette appunto "Equazioni di Maxwell" [2,3].

Per i nostri scopi consideriamo le equazioni di Maxwell in forma locale nel vuoto:

$$\begin{aligned} (1) \quad \text{Legge di Gauss per il campo Elettrico} \quad & \nabla \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0} \\ (1.2) \quad \text{Legge di Gauss per il campo Magnetico} \quad & \nabla \cdot \vec{B} = 0 \\ (1.3) \quad \text{Legge di Faraday-Neumann-Lenz} \quad & \nabla \times \vec{E} = - \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \\ (1.4) \quad \text{Teorema di Ampère-Maxwell} \quad & \nabla \times \vec{B} = \mu_0 \vec{J} + \mu_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \end{aligned}$$

Ponendoci in una regione di spazio lontana dalle sorgenti, comporta che ρ e \vec{J} sono uguali a 0, si può vedere come queste due equazioni eq. (1.3) e (1.4) mettano in relazione \vec{E} e \vec{B} , l'uno con l'altro anche in assenza di sorgenti. Se per qualche motivo in una certa regione dello spazio c'è un campo magnetico diverso da 0 che però varia nel tempo, allora vuol dire che ci sarà un campo elettrico. Viceversa, se in una zona dello spazio c'è un campo elettrico che varia nel tempo, a questo corrisponderà un campo magnetico.

In sostanza vuol dire che \vec{E} e \vec{B} in qualche modo si sostengono l'uno con l'altro.

1.3 EQUAZIONI DELLE ONDE ELETTROMAGNETICHE

Applicando l'operatore rotore alla terza equazione e mettendola in relazione con la quarta eq. (1.3) e (1.4) si ricava attraverso opportuni passaggi matematici [5] l'equazione d'onda per \vec{E} :

$$(1.5) \quad \nabla^2 \vec{E} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{E}}{\partial t^2} = 0$$

Con un procedimento analogo si può ricavare l'equazione d'onda per \vec{B} :

$$(1.6) \quad \nabla^2 \vec{B} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{B}}{\partial t^2} = 0$$

Da un punto di vista matematico abbiamo due equazioni differenziali lineari alle derivate parziali con velocità d'onda pari proprio alla velocità della luce nel vuoto c :

$$(1.7) \quad c = \frac{1}{\sqrt{\epsilon_0 \mu_0}}$$

Normalmente in Ottica, per semplicità non si considera il campo \vec{B} . Questo è dovuto al fatto che \vec{E} e \vec{B} non sono indipendenti ma \vec{B} dipende da \vec{E} secondo la seguente relazione:

$$(1.8) \quad \vec{B} = \frac{\hat{K} \times \vec{E}}{c}$$

Dove \vec{k} è il vettore d'onda, ovvero quel vettore la cui direzione coincide con la direzione di propagazione della luce e il cui modulo corrisponde al numero d'onda:

$$(1.9) \quad \vec{k} = \frac{2\pi}{\lambda} \hat{k}$$

Si dice che il campo ottico coincide con il campo elettrico. Più precisamente alle frequenze ottiche $\sim 10^{15}$ Hz, i materiali non hanno risposta magnetica e quindi le proprietà più rilevanti sono quelle relative al campo \vec{E} .

1.4 ONDA PIANA

La soluzione più semplice dell'equazione d'onda per \vec{E} , in un caso specifico, è un'onda armonica [2,7] per la quale il modulo di \vec{E} varia nel tempo e nello spazio in accordo all'equazione (1.10), si può fare un discorso analogo per \vec{B} eq. (1.11).

$$(1.10) \quad \vec{E} = E_0 \cos(kx - \omega t) \hat{y} \quad k = \frac{2\pi}{\lambda} \quad \omega = 2\pi\nu$$

$$(1.11) \quad \vec{B} = B_0 \cos(kx - \omega t) \hat{z}$$

dove E_0 e B_0 sono le ampiezze dei campi, k è il numero d'onda e ω la frequenza angolare.

Tali soluzioni di \vec{E} e \vec{B} eq. (1.10) e (1.11) descrivono un'onda elettromagnetica piana, ovvero un'onda i cui fronti d'onda sono infiniti piani perpendicolari alla direzione di propagazione.

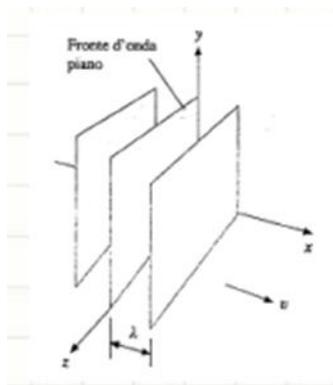


Fig. (1.1) Fronte d'onda per un'onda piana

Osservando la forma del campo \vec{E} eq. (1.0) si rende chiaro il concetto di campo trasversale, ovvero è un campo la cui direzione di propagazione e la direzione vettoriale del campo sono perpendicolari. Questo discorso vale analogamente per \vec{B} .

A causa della condizione di trasversalità di \vec{E} e \vec{B} , questi due vettori devono essere entrambi perpendicolari alla direzione di propagazione, quest'ultima definita dal vettore \vec{k} .

Dalla terza equazione di Maxwell eq. (1.3) inserendo le soluzioni di prova eq. (1.10) e (1.11) è possibile trarre informazioni in merito all'orientazione reciproca di \vec{E} e \vec{B} .

Si arriva alla conclusione che per un'onda piana \vec{k} , \vec{B} ed \vec{E} formano una terna levogira sinistrorsa:

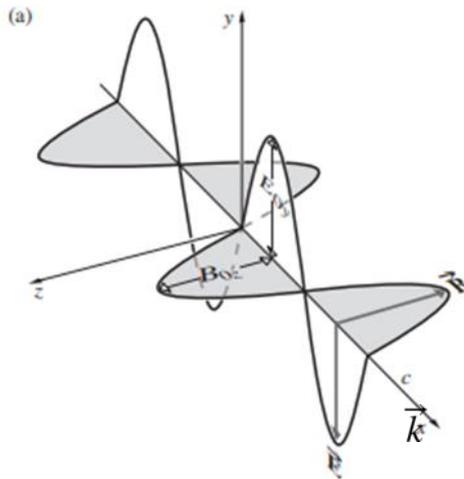


Fig. (1.2) Profilo nello spazio di un'onda elettromagnetica piana

Affinché un'onda piana sia soluzione dell'equazione delle onde, quest'ultima deve rispettare una condizione che prende il nome di "relazione di dispersione". Per il vuoto corrisponde semplicemente a dire:

$$(1.12) \quad k^2 = \frac{\omega^2}{c^2}$$

scritta in altri termini:

$$(1.13) \quad \lambda\nu = c$$

1.4.1 CARATTERISTICHE DI UN'ONDA PIANA

Studiando come varia il profilo del campo elettrico nel tempo o nello spazio, si evincono una serie di caratteristiche [6].

Osservando come varia il campo elettrico nel tempo, si definisce di un'onda:

- T il periodo temporale, è l'intervallo di tempo per cui un'onda si sposta di una distanza pari proprio alla lunghezza d'onda.
- ν la frequenza, descrive il numero di oscillazioni in un secondo e corrisponde all'inverso del periodo.

Osservando come varia il profilo nello spazio, definiamo:

- λ il periodo spaziale o lunghezza d'onda, è la distanza tra due punti in concordanza di fase.

Classificando le onde elettromagnetiche in base alla loro frequenza o alla lunghezza d'onda nel vuoto ricaviamo l'intervallo noto come spettro elettromagnetico. Da come si può osservare in figura (1.3) ad alcuni intervalli dello spettro sono stati dati nomi particolari.

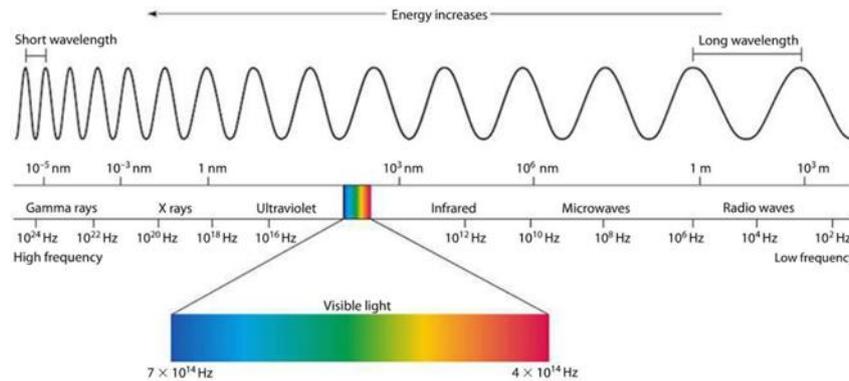


Fig. (1.3) Spettro elettromagnetico

In generale di un'onda elettromagnetica possiamo descrivere una serie di caratteristiche:

- Fronte d'onda: quelle superfici nello spazio la cui fase è costante.
- Polarizzazione: descrive il moto dell'estremo libero del campo elettrico.
- Intensità luminosa: è la potenza associata ad un'onda elettromagnetica che incide per una certa unità di superficie, quindi è il lavoro fatto per unità di tempo e per unità di superficie.

1.5 INTENSITÀ LUMINOSA

L'intensità luminosa è un concetto strettamente legato all'energia che trasportano le onde elettromagnetiche [2], questa risulta essere la proprietà più rilevante per poterle rivelare.

1.5.1 VETTORE DI POYNTING

Il flusso di energia in un'onda elettromagnetica è descritto tramite un vettore \vec{S} [2,8], detto vettore di Poynting e definito nel vuoto come:

$$(1.2.1) \quad \vec{S} = \frac{\vec{E} \times \vec{B}}{\mu_0}$$

La direzione di \vec{S} coincide con la direzione di propagazione dell'onda (se l'onda è un'onda piana nel vuoto) e il suo modulo rappresenta la rapidità con cui l'energia passa attraverso l'unità di area di una superficie perpendicolare al flusso. Quindi il modulo del vettore di Poynting rappresenta la potenza per area unitaria e le sue unità SI sono $J/s \cdot m^2 = W/m^2$.

Siccome \vec{E} e \vec{B} sono dei campi vettoriali, e variano continuamente nel tempo e nello spazio, anche \vec{S} è un campo oscillante in maniera continua, ma come vedremo non varia allo stesso modo.

1.5.2 INTENSITÀ LUMINOSA ASSOCIATA AD UN'ONDA PIANA

Facciamo l'utilizzo di alcuni risultati preliminari [3].

\vec{S} è definito nel vuoto come eq. (1.3), ricordando che \vec{B} può essere espresso come eq. (1.8), sostituendo \vec{B} in \vec{S} e svolgendo il prodotto vettoriale, otteniamo:

$$(1.2.2) \quad \vec{S} = \frac{\widehat{K}(\vec{E} \cdot \vec{E}) - \vec{E}(\widehat{K} \cdot \vec{E})}{\mu_0 c}$$

Siccome stiamo parlando di un'onda piana ($\vec{k} \cdot \vec{E} = 0$), eq. (1.2.2) diventa:

$$(1.2.3) \quad \vec{S} = \frac{1}{\mu_0 c} \widehat{K} E^2$$

che possiamo riscrivere attraverso alcuni passaggi secondari nel seguente modo:

$$(1.2.4) \quad \vec{S} = c \varepsilon_0 \widehat{K} E^2$$

Tale equazione ci dice che la densità di flusso di energia trasportata dal campo elettromagnetico è diretta lungo la direzione di propagazione ed è legata al modulo quadro di \vec{E} .

Se \vec{E} è definito come eq. (1.2.5), svolgendo il modulo quadro e sostituendo nell'espressione eq. (1.2.4), determiniamo il vettore di Poynting associato ad un'onda piana:

$$(1.2.6) \quad \vec{S} = c \varepsilon_0 \widehat{K} E_0^2 \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)$$

\vec{S} oscilla ad una frequenza doppia rispetto al campo elettromagnetico, per tale motivo così come non riusciamo a seguire oscillazioni del campo ottico, non si riescono a seguire nel tempo le oscillazioni di \vec{S} .

La vera quantità osservabile e misurabile con i nostri rivelatori è **il valore medio di \vec{S} nel tempo, questo corrisponde proprio all'intensità luminosa.**

$$(1.2.7) \quad I = \langle |\vec{S}| \rangle = \lim_{T \rightarrow \infty} \int_0^T |\vec{S}(t)| dt = \frac{\omega}{2\pi} \int_0^{\frac{\omega}{2\pi}} c \varepsilon_0 E_0^2 \cos^2(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) dt$$

Si ottiene un risultato che si osserva essere costante e non dipendere più dal tempo.

1.5.3 INTENSITÀ LUMINOSA MEDIANTE RAPPRESENTAZIONE COMPLESSA

Di fronte ad una quantità che cambia nel tempo in maniera continua bisogna fare un integrale di media. Questo discorso si semplifica se si considera il campo elettrico espresso in forma complessa eq. (1.2.8). Ricordiamo che un campo elettrico complesso è utile esclusivamente ai fini di calcolare certe quantità, dopodiché fisicamente non rappresenta nulla. Ciò che ha senso fisico è la parte reale di questa espressione eq. (1.2.8) [3].

Considerando un campo elettrico fatto in questo modo:

$$(1.2.8) \quad \vec{E}(\vec{r}, t) = E_0 [\cos(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t) + i \sin(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)] \hat{e} = E_0 e^{i(\vec{k} \cdot \vec{r} - \omega t)} \hat{e}$$

l'intensità luminosa associata è:

$$(1.2.9) \quad I = \frac{|\vec{E}|^2}{2\mu_0 c} = \frac{\vec{E} \cdot \vec{E}^*}{2\mu_0 c}$$

dove \vec{E}^* è il complesso coniugato di \vec{E} . Tale espressione corrisponde già ad una media nel tempo del vettore di Poynting.

1.6 PRINCIPIO DI SOVRAPPOSIZIONE

Il campo elettrico e magnetico, secondo la teoria elettromagnetica classica, soddisfano anch'essi le equazioni lineari del moto ondulatorio e pertanto si può applicare il principio di sovrapposizione alle onde luminose [3]. Per cui l'effetto della sovrapposizione in un punto di due onde elettromagnetiche distinte [rappresentate da eq. (1.3.1) e (1.3.2)]:

$$(1.3.1) \quad \frac{\partial^2 \vec{E}_1}{\partial x^2} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{E}_1}{\partial t^2} = 0$$

$$(1.3.2) \quad \frac{\partial^2 \vec{E}_2}{\partial x^2} - \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{E}_2}{\partial t^2} = 0$$

può essere descritto effettuando la somma dei singoli campi eq. (1.3.4).

$$(1.3.3) \quad \frac{\partial^2 \vec{E}_1}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \vec{E}_2}{\partial x^2} = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{E}_1}{\partial t^2} + \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 \vec{E}_2}{\partial t^2}$$

$$(1.3.4) \quad \frac{\partial^2 (\vec{E}_1 + \vec{E}_2)}{\partial x^2} = \frac{1}{c^2} \frac{\partial^2 (\vec{E}_1 + \vec{E}_2)}{\partial t^2}$$

$\vec{E}_1 + \vec{E}_2$ risulta essere ancora un campo, ovvero una soluzione delle onde elettromagnetiche.

Tuttavia, questo procedimento porta, quando si consideri l'intensità del campo totale, che è la quantità più semplicemente osservabile di un'onda elettromagnetica, a risultati inaspettati, dovuti al fenomeno dell'interferenza.

1.7 CONCETTO DI COERENZA

Il concetto di coerenza di una sorgente ottica è strettamente legato alla fase di un'onda (e quindi al fronte d'onda).

Si ritiene una sorgente coerente quando la relazione di fase dell'onda rispetto a se stessa, rimane la stessa abbastanza a lungo.

Al primo ordine, per qualsiasi onda elettromagnetica possiamo introdurre due concetti di coerenza, vale a dire, la coerenza spaziale e temporale [4].

1.7.1 COERENZA SPAZIALE

Per definire la coerenza spaziale, consideriamo due punti P_1 e P_2 che, al tempo $t = 0$ giacciono sullo stesso fronte d'onda di un campo elettromagnetico, siano $E_1(t)$ e $E_2(t)$ i campi elettrici corrispondenti in questi due punti. Per definizione, la differenza tra le fasi dei due campi all'istante $t = 0$ è zero.

Se questa differenza rimane zero in qualsiasi momento $t > 0$, si dice che c'è una perfetta coerenza tra i due punti. Se ciò si verifica per due punti qualsiasi del fronte d'onda, diremo che l'onda ha una perfetta coerenza spaziale.

In pratica, per ogni punto P_1 , il punto P_2 deve trovarsi all'interno di un'area finita attorno a P_1 se vogliamo avere una buona correlazione di fase. In questo caso diremo che l'onda ha una coerenza spaziale.

1.7.2 COERENZA TEMPORALE

Per definire la coerenza temporale consideriamo ora il campo elettrico dell'onda elettromagnetica in un dato punto P , agli istanti t e $1 + t$. Se, per un dato ritardo t , la differenza di fase tra i due campi rimane la stessa per ogni tempo t , diremo che c'è coerenza temporale. Se ciò si verifica per qualsiasi valore di t , si dirà che l'onda elettromagnetica ha un tempo di coerenza infinito o coerenza perfetta.

Se ciò si verifica per un ritardo t tale che, $0 < t < t_0$ si dirà che l'onda ha coerenza temporale parziale, con un tempo di coerenza pari a t_0 .

Un esempio di un'onda elettromagnetica con un tempo di coerenza pari a t_0 è mostrato in figura (1.6).

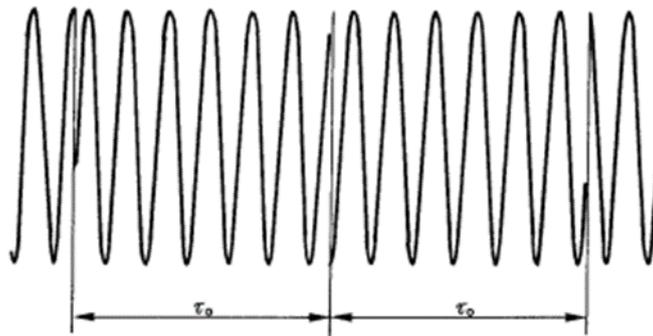


Fig. (1.6) Campo elettrico sinusoidale che subisce salti di fase casuali ad intervalli di tempo pari a t_0 .

Il concetto di coerenza temporale è, almeno in questo caso, direttamente connessa con quella della monocromaticità. Si può mostrare che qualsiasi onda elettromagnetica stazionaria con tempo di coerenza t_0 ha larghezza di banda $\Delta\nu \cong 1/t_0$. Si può allo stesso modo mostrare che per un'onda elettromagnetica non stazionaria ma un fascio a riproduzione ripetuta (ad es. un fascio laser ottenuto attraverso il Q-switching o mode locking) il tempo di coerenza non è correlato all'inverso della larghezza di banda di oscillazione e può in realtà essere molto più lungo di $1/\Delta\nu$ [4].

È importante sottolineare che i due concetti di coerenza temporale e spaziale sono anzi indipendenti l'uno dall'altro.

1.8 INTERFERENZA

I fenomeni di interferenza nascono dalla sovrapposizione, in uno stesso punto dello spazio, di due o più onde. Ogni interferenza associata alle onde elettromagnetiche deriva dalla combinazione dei campi elettrici e magnetici che costituiscono le singole onde [1,2].

L'esperienza mostra che i fenomeni di interferenza hanno luogo solo se le sorgenti posseggono un certo grado di coerenza (aventi differenza di fase costante) e sono monocromatiche (aventi la stessa lunghezza d'onda o frequenza). In tali condizioni si possono avere punti dello spazio in cui:

- Le onde si annullano del tutto, tale situazione prende il nome di **interferenza distruttiva** e corrisponde a dire che l'ampiezza risultante è minore di quelle di entrambe le onde.
- Le onde si rinforzano completamente, questa situazione prende il nome di **interferenza costruttiva** e corrisponde a dire che l'ampiezza dell'onda risultante è maggiore di quella di ciascuna delle singole onde.

Affinché si produca una figura d'interferenza stabile, le singole onde devono mantenere una relazione di fase costante fra loro durante il tempo di osservazione.

1.8.1 INTERFERENZA PRODOTTA DA DUE SORGENTI

Nonostante ciascuna onda sia descritta dalla coppia di campi elettrico e magnetico, per studiare la sovrapposizione è sufficiente considerare uno solo dei due campi, in particolare, quello elettrico.

1.8.2 MODELLO DI ANALISI

Possiamo ottenere una descrizione quantitativa di questo caso particolare grazie all'utilizzo di un modello geometrico fatto in questo modo:

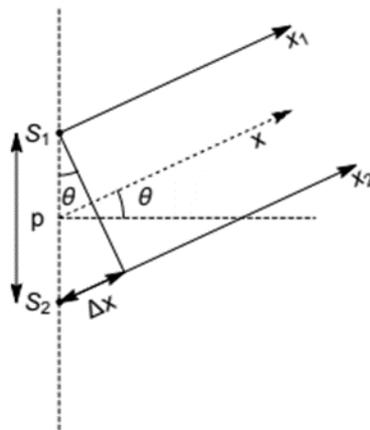


Fig. (1.7) Costruzione geometrica utilizzata per descrivere l'interferenza prodotta da due sorgenti.

In figura (1.7) abbiamo due sorgenti S_1 e S_2 quest'ultime sono separate tra loro di una distanza p . La direzione lungo la quale si osservano le radiazioni emesse rispettivamente dalle due sorgenti, la identifichiamo tramite un angolo θ . Le due onde elettromagnetiche percorrono tratti diversi, rispettivamente x_1 e x_2 per poi sovrapporsi in un punto dello spazio grazie alla presenza di una lente convergente posta lungo il percorso (non è mostrata in figura 1.7). Il punto di sovrapposizione si trova ad una distanza L rispetto alle sorgenti e coincide con il secondo fuoco di questa lente.

Supponendo che $L \gg p$, in tali condizioni le due direzioni di propagazione si possono considerare parallele, questo comporta che la differenza di cammino ottico tra le due onde $\Delta x = x_2 - x_1$ può essere espresso in termini di θ e p :

$$(1.5.1) \quad \Delta x = p \sin(\theta)$$

Consideriamo due sorgenti di onde elettromagnetiche fra di loro coerenti, ciascuna emittente onde piane polarizzate linearmente nello stesso piano, con fase costante l'una rispetto all'altra e con geometria tale da consentire la sovrapposizione delle due onde in un certo punto dello spazio.

I campi elettrici di ciascuna onda sono dunque:

$$(1.5.2) \quad E_1 = E_{1,max} e^{i(k_1 x - \omega_1 t)}$$

$$(1.5.3) \quad E_2 = E_{2,max} e^{i(k_2 x - \omega_2 t)}$$

Queste due onde vengono fatte sovrapporre dopo aver percorso corrispettivamente distanza x_1 ed x_2 , il campo risultante sarà:

$$(1.5.4) \quad E = E_1 + E_2 = E_{1,max} e^{i(k_1 x_1 - \omega_1 t)} + E_{2,max} e^{i(k_2 x_2 - \omega_2 t)}$$

Sperimentalmente, ciò che si osserva nel punto di sovrapposizione è l'intensità luminosa associata al campo elettrico totale.

Facendo utilizzo del risultato eq. (1.2.10), l'intensità complessiva vale:

$$(1.5.6) \quad I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(k \Delta x)$$

Possiamo riscriverla mettendo in evidenza i parametri geometrici:

$$(1.5.7) \quad I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos\left(\frac{2\pi}{\lambda} p \sin(\theta)\right)$$

Di questa formula risulta interessante l'ultimo termine che prende il nome di termine di interferenza. Risulta che l'intensità complessiva dipende dalla differenza di cammino compiuto dalle due onde prima di sovrapporsi e dall'angolo sotto il quale si osservano il punto in cui le due onde si sovrappongono.

In sostanza anche se le due onde partono con fase coincidente, arrivano a sovrapporsi con un certo sfasamento $\Delta\varphi$:

$$(1.5.8) \quad \Delta\varphi = \frac{2\pi}{\lambda} p \sin(\theta)$$

Tornando all'eq. (1.5.6), si vede che l'intensità massima corrisponde ad una differenza di cammino Δx che sia un multiplo intero della lunghezza d'onda:

$$(1.5.9) \quad \Delta x = p \sin(\theta) = m\lambda \quad m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$$

dove m è un intero, detto numero d'ordine.

In tal caso l'argomento del coseno nell' eq. (1.5.7) è sempre un multiplo di 2π e quindi il coseno assume valore 1.

Viceversa, l'intensità minima corrisponde ad una differenza di percorso pari ad un multiplo intero di lunghezze d'onda più mezza lunghezza d'onda:

$$(1.5.10) \quad \Delta x = p \sin(\theta) = \left(m + \frac{1}{2}\right) \lambda \quad m = 0, \pm 1, \pm 2, \dots$$

corrisponde sempre ad uno sfasamento π .

Nel primo caso (1.5.9) le due onde sono in fase e si parla di interferenza costruttiva:

$$(1.5.11) \quad I_{max} = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2}$$

Nel secondo caso (1.5.10) le onde sono in opposizione di fase e si parla di interferenza distruttiva:

$$(1.5.12) \quad I_{min} = I_1 + I_2 - 2\sqrt{I_1 I_2}$$

Naturalmente sono possibili tutti i valori di intensità intermedi: non esistono due sole condizioni di interferenza.

È importante sottolineare che la relazione tra sfasamento e differenza di percorso non è sempre della forma indicata dall'eq. (1.5.7), ma dipende, in gran parte, dalla geometria utilizzata nel produrre l'interferenza. Di conseguenza anche le condizioni d'interferenza dipendono dalla geometria adottata.

Nel caso particolare in cui le intensità delle singole onde siano uguali, ossia per $I_1 = I_2$, l'intensità complessiva sarà:

$$(1.5.13) \quad I = 2I_1 [1 + \cos(k \Delta x)]$$

e quindi si ha $I = 4I_1$ nel massimo d'interferenza e $I = 0$ nel minimo. In pratica, se le due onde di uguale intensità interferiscono distruttivamente l'intensità risultante si annulla.

2 PRINCIPIO DI FUNZIONAMENTO OCT

2.1 OCT

La tomografia a coerenza ottica (OCT: Optical Coherence Tomography) è una metodologia di imaging medico relativamente recente con risoluzione micrometrica e una profondità di penetrazione nel tessuto fino a 5 mm. Questa metodologia di indagine è in grado di produrre l'immagine di una sezione trasversale ad alta risoluzione di un tessuto disomogeneo fig. (2.1). È una metodologia che viene impiegata in diversi campi della medicina, tra cui quello oftalmologico per lo studio del segmento anteriore e posteriore dell'occhio.

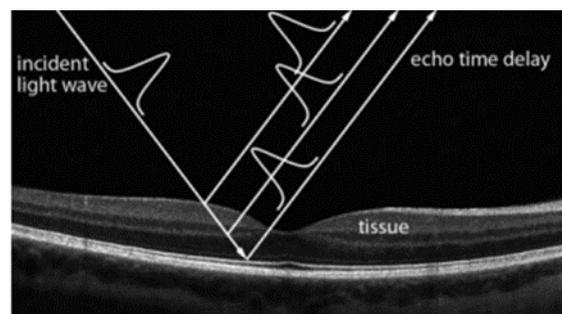


Fig. (2.1) Il ritardo temporale dell'eco di luce riflessa viene utilizzata per ricostruire la posizione assiale dei diversi strati di tessuto. Immagine rielaborata da [9].

Tale metodologia di esame risulta essere rilevante per i seguenti motivi [9]:

- È una misurazione non invasiva e senza contatto con una profondità di penetrazione relativamente ampia nel tessuto biologico.
- Il livello di luce è relativamente basso e non è necessaria la preparazione del campione, come ad esempio in una biopsia.
- Consente un'elevata velocità di imaging fino a capacità di misurazione in tempo reale.
- Fornisce una valutazione quantitativa, sono possibili misurazioni volumetriche e biometriche.
- Consente misurazioni strutturali e funzionali integrate.

Un sistema OCT è basato sull'interferometria a bassa coerenza, tale modalità permette di andare ad analizzare le strutture oculari mediante sezioni ad alta risoluzione. Il principio di base è che l'interferenza tra la luce a banda larga riflessa da un campione e un braccio di riferimento di un interferometro genererà un segnale d'interferenza solo se le lunghezze dei due percorsi ottici sono uguali. Variando la lunghezza del percorso del braccio di riferimento, l'intensità della dispersione da parte del campione può essere misurata in funzione della profondità [9].

2.1.1 FORMAZIONE DELLE IMMAGINI

Dalla misurazione della luce retrodiffusa da parte di un campione si produce una scansione, detta A-scan (a). Quando il fascio di luce viene scansionato attraverso il tessuto, il segnale viene tracciato in funzione della profondità (direzione z) e della posizione trasversale (direzione x), da questo risulterà una sezione trasversale bidimensionale del tessuto detta B-scan (b).

Unendo i diversi piani B-scan, acquisiti traslando il fascio incidente o il campione lungo l'altra direzione trasversale (direzione y), si ottiene un'immagine volumetrica o tridimensionale, il risultato di tale operazione viene detta C scan (c).

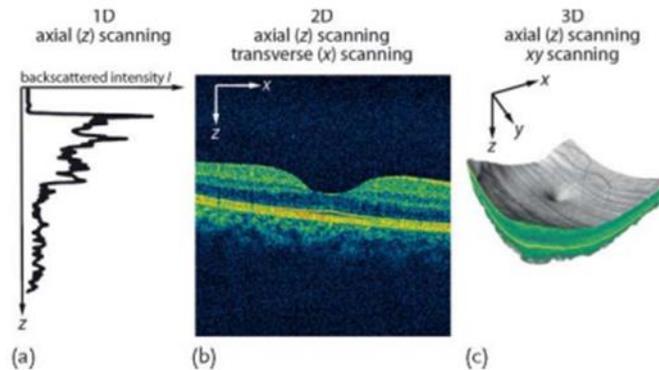


Fig. (2.2) Scansions di immagini OCT, (a) segnale luminoso retrodiffuso da una scansione assiale nella direzione z, (b) scansione OCT bidimensionale (2D) di una retina normale sana, (c) scansione OCT tridimensionale (3D) di una retina umana sana con immagine del fondo oculare sovrapposta. Immagine rielaborata da [9].

In alternativa, con le moderne tecnologie OCT e sensori 2D, è possibile ottenere una serie di scansioni xy, a volte dette imaging en-face, in funzione della profondità assiale z. In questo modo è possibile comporre un'immagine 3D. "Imaging en-face" significa che i dati OCT vengono integrati assialmente su un certo strato di tessuto per creare un'immagine 2D xy [9].

2.1.2 INTERFEROMETRO DI MICHELSON CON LUCE COERENTE

Esistono varie implementazioni per questo tipo di dispositivo, tra le più comuni troviamo l'interferometro di Michelson [19], per comprenderne il funzionamento consideriamo inizialmente questo sistema con una sorgente di luce coerente.

L'interferometro di Michelson è un dispositivo ottico che divide la radiazione entrante in due onde, introduce un ritardo relativo facendo percorrere loro due distanze diverse e le dirige in modo tale da misurare, tramite un rivelatore, l'intensità della loro sovrapposizione.

L'interferometro in questione è composto da una sorgente di luce coerente, un beam splitter, un campione (rappresentato da uno specchio piano), uno specchio piano mobile e un detector (fotorivelatore).

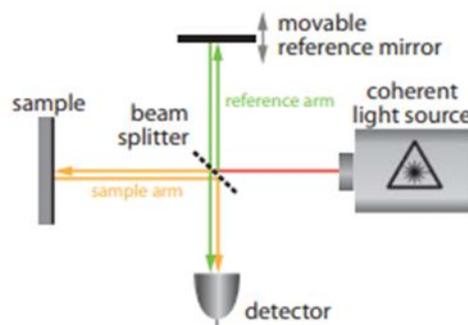


Fig. (2.3) Setup dell'interferometro di Michelson con sorgente di luce coerente.

La sorgente luminosa essendo coerente emetterà un fascio di luce monocromatica (raggio rosso in figura (2.3)), diretto verso il campione in analisi, durante il cammino il fascio incide in maniera normale su un beam splitter. Quest'ultimo è uno specchio semiriflettente che riflette e trasmette la luce, in questo caso nella stessa percentuale 50%. A seguito del beam splitter il fascio di luce emesso dalla sorgente si separa in due fasci che si propagheranno lungo direzioni differenti, avremo un fascio di riferimento (raggio verde) e un fascio di scansione (raggio giallo), questi due fasci di luce definiscono i due bracci dell'interferometro. Il fascio di riferimento corrisponde al fascio che si propaga nel braccio all'interno del quale è contenuto lo specchio mobile o di riferimento, da qui il nome "braccio di riferimento". Il fascio di scansione, invece, corrisponde al fascio che si propaga nel braccio contenente il campione, da qui braccio del campione. Il fascio di riferimento verrà riflesso dallo specchio di riferimento, rappresentiamo con I_1 l'intensità associata, mentre il fascio di scansione di intensità I_2 verrà riflesso o retrodiffuso dal campione. Nel percorso di ritorno questi due fasci interferiscono a livello dello specchio semiriflettente e l'intensità del fascio di uscita dell'interferometro viene misurata da un detector tramite il quale si misura un'intensità I pari:

$$(2.2.1) \quad I = I_1 + I_2 + 2\sqrt{I_1 I_2} \cos(\Delta \xi)$$

Dove $\Delta \xi$ è la differenza di fase tra il fascio di riferimento e il fascio di scansione, che dipende dalla differenza di cammino dei due fasci $\Delta z = z_s - z_r$, z_s e z_r sono rispettivamente le lunghezze dei due bracci.

Siccome nel braccio di riferimento lo specchio è posto su una slitta micrometrica, variando la differenza di cammino ottico è possibile variare la differenza di fase $\Delta \xi$ tra i due fasci di luce:

$$(2.2.2) \quad \Delta \xi(\Delta z) = 2\pi \left(\frac{2n \Delta z(t)}{\lambda_0} \right)$$

dove n indica l'indice di rifrazione, che si presume sia uguale in entrambi i bracci e λ_0 è la lunghezza d'onda associata al fascio di luce emesso dalla nostra sorgente coerente.

Risulta che nel caso di luce monocromatica, il segnale misurato dal detector è caratterizzato da una modulazione sinusoidale, e segue lo spostamento Δz dello specchio di riferimento a velocità costante.

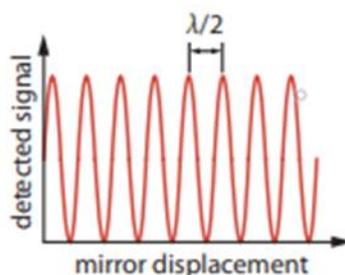


Fig. (2.4) Il diagramma mostra il segnale rivelato rispetto allo spostamento dello specchio di riferimento.

Tuttavia, la tomografia a coerenza ottica non si basa su una sorgente di luce monocromatica in quanto in tal caso sarebbe difficile distinguere alcun dettaglio del segnale risultante.

2.1.3 INTERFEROMETRO DI MICHELSON CON LUCE A BASSA COERENZA

Nell'interferometria a bassa coerenza, viene utilizzato un interferometro illuminato con una sorgente di luce a banda larga, lo schema ottico resta invariato.

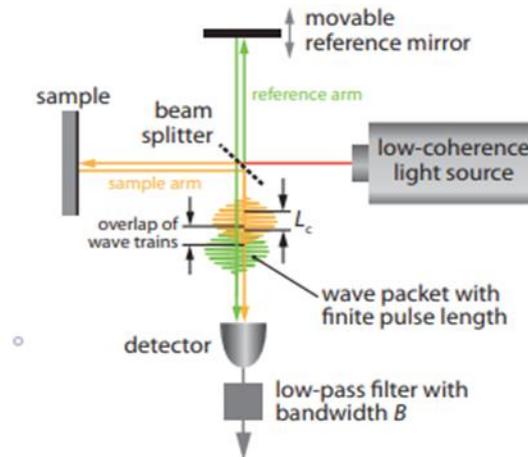


Fig. (2.5) Setup interferometro di Michelson con sorgente di luce a bassa coerenza.

La sorgente luminosa qui utilizzata, tuttavia, ha una lunghezza di coerenza ridotta.

Definiamo il tempo di coerenza t_c come l'intervallo di tempo durante il quale la fase dell'onda è costante, al tempo di coerenza è associata la lunghezza di coerenza L_c :

$$(2.3.1) \quad L_c = ct_c$$

La lunghezza di coerenza è la lunghezza massima dopo la quale la fase della luce è ancora prevedibile e, quindi, la lunghezza massima dopo la quale è ancora possibile osservare l'interferenza [10].

Una sorgente luminosa spettralmente ampia ha una lunghezza di coerenza più breve, viceversa una sorgente spettralmente ridotta ha una lunghezza di coerenza più lunga.

Una buona approssimazione per la lunghezza di coerenza è data dalla seguente relazione [9]:

$$(2.3.2) \quad L_c = ct_c = \text{cost} \frac{1}{\Delta \omega} = \text{cost} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}$$

dove $\Delta \omega$ è una misura della larghezza di banda spettrale e la costante è un valore compreso tra 1 e 5, a seconda dell'esatta definizione della lunghezza di coerenza e la forma spettrale della luce.

Per il caso particolare di una sorgente luminosa con uno spettro di forma gaussiana, la lunghezza di coerenza può essere calcolata dalla larghezza di banda $\Delta \lambda$:

$$(2.3.3) \quad L_c = \frac{4 \ln(2)}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} = \frac{8c \ln(2)}{\Delta \omega}$$

Per un interferometro di Michelson con luce spettralmente ampia (bassa coerenza), **il segnale di interferenza può essere misurato solo se le lunghezze del cammino ottico in entrambi i bracci dell'interferometro coincidono, almeno entro la lunghezza di coerenza.**

Un breve impulso luminoso è una forma di luce a bassa coerenza, in cui la lunghezza dell'impulso è correlata, ma non è identica, al tempo di coerenza.

Per generare un segnale di interferenza nell'interferometro di Michelson, i singoli impulsi di entrambi i bracci dell'interferometro devono sovrapporsi in tempo sul rivelatore, in analogia con l'eq. (2.2.1), il segnale di intensità misurato dal detector può essere espresso come $I(z)$:

$$(2.3.4) \quad I(z) = I_S + I_R + 2\sqrt{I_S I_R} \cos(\xi_S - \xi_R(\Delta z))$$

dove Δz è la coordinata di spostamento dello specchio mobile.

Si può considerare un impulso gaussiano con un breve durata temporale come una sorgente luminosa a banda larga, avente un'evoluzione temporale $I(t)$ pari:

$$(2.3.5) \quad I(t) = I_o \exp\left(-\frac{2t^2}{t_p^2}\right) \exp(-i\omega_0 t)$$

In cui t_p è il parametro dell'impulso.

L'interferenza dovuta alla sovrapposizione dell'impulso di riferimento e l'impulso di scansione può essere rivelata dal detector, il segnale registrato è riportato nel diagramma in figura (2.6). Si ricorda che i due impulsi interferiscono solo se le lunghezze dei bracci sono quasi uguali.

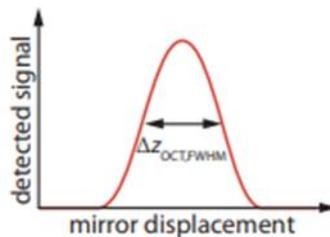


Fig. (2.6) Interferenza rivelata dal detector per impulso gaussiano con una breve durata temporale.

2.1.4 CONFIGURAZIONI BASE OCT

Da quanto descritto in precedenza, il principio funzionamento alla base dell'imaging OCT è l'interferenza della luce. Pertanto, una configurazione di interferenza della luce è al centro di qualsiasi sistema OCT.

Esistono molti tipi di configurazioni di interferenza, come principali troviamo:

- 1) Time-Domain OCT (TD-OCT): è la prima sviluppata, si sfrutta una sorgente luminosa ad ampio spettro per ottenere un'interferenza a bassa coerenza; al fine di rivelare le varie distanze tra le interfacce interne del campione si utilizza un riferimento mobile.
- 2) Frequency-Domain OCT (FD-OCT): in cui l'informazione viene ricavata a partire dallo spettro del segnale di interferenza e il riferimento ha una posizione fissa.

Si suddivide a sua volta in:

- Spectral-Domain OCT (SD-OCT), la sorgente utilizzata è ancora una sorgente a banda larga;
- Swept-Source OCT (SS-OCT), la sorgente è un laser, quindi a banda molto stretta ma con lunghezza d'onda controllabile.

2.2 PARAMETRI FUNZIONALI

Per caratterizzare o confrontare le prestazioni di un sistema OCT tra le diverse configurazioni o con quelle di altre tecniche di imaging, si introducono una serie di parametri funzionali sulla quale è possibile fare delle analisi.

2.2.1 LUNGHEZZA D'ONDA DI LAVORO

La lunghezza di lavoro viene scelta in base alla natura del campione che si vuole analizzare. Siccome i tessuti che vengono analizzati dall'OCT sono ricchi di acqua, si può scegliere la lunghezza d'onda da utilizzare in base all'assorbimento. La scelta della lunghezza d'onda compresa tra i 750 nm e 900 nm è la migliore in ambito oftalmico in quanto l'assorbimento da parte dell'acqua, costituente principale dell'occhio, è ridotto al minimo. Questo parametro influisce sulla profondità di penetrazione della radiazione nel tessuto [11,12].

2.2.2 RISOLUZIONE SPAZIALE

Si divide a sua volta in risoluzione assiale e trasversale.

Risoluzione assiale: rappresenta la precisione con cui può essere misurata la distanza tra due punti lungo una certa direzione (z), questa è determinata dalla lunghezza di coerenza della sorgente luminosa a banda larga. Nel caso dell'ottica gaussiana, la risoluzione assiale è data da:

$$(2.5.1) \quad \Delta z_{OCT} \propto \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}$$

dove λ_0 è la lunghezza d'onda centrale della larghezza di banda spettrale $\Delta \lambda$.

Per migliorare la risoluzione assiale si dovrebbe aumentare la larghezza di banda spettrale o diminuire la lunghezza d'onda centrale λ_0 . Pertanto, la tecnologia della sorgente di luce a larghezza di banda ultralarga consente l'OCT ad altissima risoluzione nella regione della lunghezza d'onda corrispondente al vicino infrarosso (NIR) [14].

Risoluzione trasversale: è la capacità dello strumento di discriminare due punti giacenti sullo stesso piano xy (ortogonale alla direzione z). La risoluzione trasversale, tenendo conto dell'ottica gaussiana, è data da:

$$(2.5.2) \quad \Delta x_{OCT} = \frac{4\lambda}{\pi} \left(\frac{f}{d} \right) = 1.27 \frac{\lambda}{NA}$$

dove λ è la lunghezza d'onda centrale, d è la dimensione minima dello spot del fascio di scansione (spot del raggio di indagine proiettato sulla lente dell'obiettivo) e f la lunghezza focale effettiva della lente dell'obiettivo, cioè la lente o il sistema di lenti situato all'estremità del braccio campione.

La risoluzione è inversamente proporzionale all'apertura numerica¹ (NA) della lente di focalizzazione (9). Poiché un'apertura numerica elevata consente a più luce di entrare nel sistema, è evidente che una NA elevata può fornire un'elevata risoluzione trasversale, ciò implica una dimensione della macchia focale più piccola [16]. Tuttavia, una NA elevata si tradurrà in una minore profondità di campo, limitando la portata dell'imaging preciso. La relazione tra **profondità di campo b** e risoluzione trasversale è dato da:

$$(2.5.3) \quad b = \pi \frac{\Delta x^2}{2\lambda}$$

¹ L'apertura numerica (NA) è un importante parametro ottico, viene utilizzata spesso per misurare l'angolo di luce che il sistema può ricevere.

Si può constatare da quest'ultima relazione che risoluzione trasversale e profondità di campo si limitano a vicenda.

Una caratteristica fondamentale dell'imaging OCT, è che la risoluzione assiale e trasversale sono indipendenti tra loro.

2.2.3 SENSIBILITÀ

La sensibilità, S , può essere definita come il rapporto tra il segnale generato da uno specchio perfettamente riflettente (riflettività $R = 1$) e quello generata dalla riflettività minima del campione $R_{(s,min)}$ [14,15]. Poiché questi segnali sono proporzionali alle corrispondenti riflettività abbiamo:

$$(2.5.4) \quad S = \frac{1}{R_{s, min}}$$

che dipende principalmente dall'efficienza del sistema di rivelazione e dalle sorgenti di rumore presenti nel sistema.

Un inconveniente che riguarda prettamente la configurazione FD-OCT, consiste nella caduta intrinseca della sensibilità all'aumentare della profondità del tessuto esaminato, si parla di Roll-off [9]. È correlato alla risoluzione spettrale finita del componente del sistema che fornisce la separazione spettrale. Un buon sistema OCT dovrebbe avere valori di Roll-off (attenuazione) non superiori a ~ 20dB per una profondità di 2 mm [12].

Molte volte la sensibilità viene descritta in termini di rapporto segnale/rumore SNR, che è dato da:

$$(2.5.5) \quad SNR = 10 \log (\eta P / 2h\nu NEB)$$

dove P è la potenza rivelata, NEB è la larghezza di banda equivalente al rumore di rivelazione, η è l'efficienza quantistica del rivelatore e $h\nu$ è l'energia del fotone. Il rapporto segnale/rumore scala con la potenza riflessa o retrodiffusa divisa per la larghezza di banda equivalente al rumore di rivelazione. Ciò significa che velocità di acquisizione dell'immagine più elevate o risoluzioni dell'immagine più elevate richiedono potenze ottiche più elevate per un determinato rapporto segnale-rumore [13]. Tipici valori dell'SNR degli OCT attuali sono 90/100dB, ciò significa che il sistema è sensibile ad un segnale con intensità riflessa o retrodiffusa fino a ~95dB.

2.2.4 VELOCITÀ DI ACQUISIZIONE

La velocità di acquisizione fa riferimento al tempo impiegato dal sistema a ricavare un profilo di profondità del campione, (A-scan). Una velocità elevata è importante per caratterizzare grandi volumi nonché ridurre le imperfezioni di immagine dovute a inevitabili vibrazioni. Se usato in ambito medicale "in vivo", l'OCT deve presentare una velocità adeguata sia per ridurre al minimo la durata dell'esame e sia per evitare che il campione (l'occhio umano) si muova durante l'acquisizione.

2.2.5 PROFONDITÀ DI IMAGING ASSIALE

La profondità di imaging assiale, z_{max} , definisce l'intervallo assiale coperto in un B-Scan. In teoria, la massima profondità di imaging può essere espressa come:

$$(2.5.6) \quad z_{max} = \frac{1}{4 n_s} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda} N$$

dove λ_0 è la lunghezza d'onda centrale della sorgente luminosa, $\Delta \lambda$ rappresenta la risoluzione dello spettrometro, n_s l'indice di rifrazione del campione e N corrisponde al numero di

campionamento, a cui si attribuisce un diverso valore a seconda della configurazione utilizzata, per esempio:

- Per SD-OCT, a N viene fornito il numero di pixel del rivelatore di linea su cui viene visualizzato lo spettro.
- Per SS-OCT, N è dato dal numero di letture del fotodiode durante una scansione della sorgente luminosa.
- Nel sistema TD-OCT, la profondità di imaging è determinata dalla posizione dello specchio di riferimento, per tale motivo si ritiene il sistema TD-OCT in grado di acquisire immagini a qualsiasi profondità nel caso ideale [14].

Questa formula dimostra che uno spettrometro ad alta risoluzione può migliorare la profondità di imaging di SD-OCT. Tuttavia, l'assorbimento e la dispersione del campione limitano la distanza del percorso della luce, quindi la profondità dell'immagine è limitata da questi due processi fondamentali di interazione radiazione-materia. Si osserva che all'aumentare della profondità verranno introdotti più rumori e interferenze.

2.3 TIME-DOMAIN OCT

Finora, abbiamo ipotizzato che l'interferometro abbia specchi riflettenti in ogni braccio. Sostituiamo ora lo specchio campione con un campione di retrodiffusione e assumiamo che il campione abbia strati distinti con singole proprietà di retrodiffusione distinte.

OCT nel dominio del tempo (TD-OCT) è stato la prima forma di implementazione, si basa sull'interferenza con luce a bassa coerenza ed è solitamente costituito da un beam splitter in fibra ottica che divide la luce prodotta da una sorgente luminosa a banda larga sui due bracci dell'interferometro, come schematicamente visualizzato in fig. (2.7).

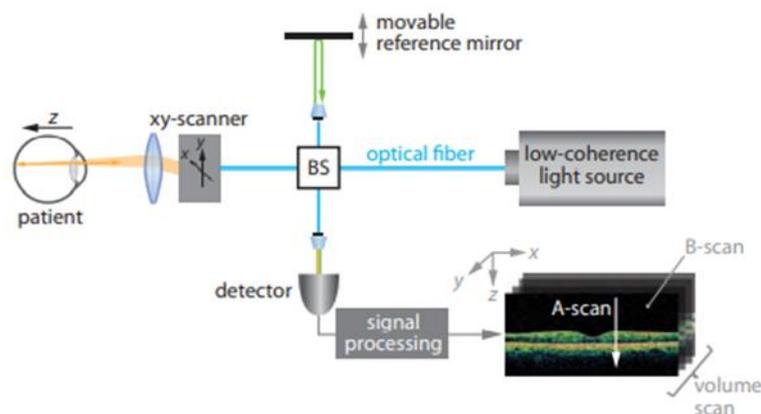


Fig. (2.7) Configurazione base di un Time-Domain OCT

La sorgente, è di solito un diodo superluminescente, quindi una sorgente parzialmente coerente a banda larga (decina di nm).

La radiazione viene immessa nella fibra e divisa dal beam splitter in eguale percentuale nei due bracci. Nel braccio di riferimento la luce a seguito della riflessione da parte dello specchio di riferimento viene inviata, tramite il beam splitter, nel braccio di rivelazione. Lo stesso processo si verifica con il fascio di misura, ma prima di arrivare al campione viene deviato da un sistema di scansione, detto scanner xy, l'unica differenza è che il fascio viene retrodiffuso dal campione.

Il sistema di scansione, a volte chiamato scanning mirror, è un sistema composto da un insieme di ottiche e specchi. Tramite la rotazione di alcuni specchi al suo interno si riesce ad indirizzare il fascio su varie zone del campione. In alternativa è possibile sfruttare configurazioni per la quale si trasla il campione a diverse posizioni trasversali. Questa componente dello strumento è indispensabile per ottenere immagini bidimensionale 2D e 3D.

La luce di ritorno da entrambi i bracci si ricombina nel braccio di rivelazione e genera un segnale che viene successivamente registrato dal detector.

Il detector rivela le variazioni nell' interferenza finché la differenza di cammino ottico 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 (luce retrodiffusa), ma ritardata. Muovendo lo specchio di riferimento è possibile scegliere lo strato del campione che soddisfa la condizione di coerenza $OPD^2 < lc$. Il massimo d'interferenza è ottenuto per ciascuna superficie quando $OPD = 0$.

Come detto precedentemente, le immagini OCT 2D e 3D possono essere ottenute impilando diversi A-scan. Gli A-scan adiacenti sono ottenute spostando ortogonalmente il raggio con uno scanner xy. Col movimento dello specchio, un sistema TD-OCT genera in uscita un profilo della riflettività in funzione della profondità (A-scan). Scansionando il raggio lateralmente sull'oggetto si raccolgono A-scan adiacenti lungo una stessa coordinata trasversale, generando così l'immagine della sezione trasversale (B-scan).

Per questa implementazione, la lunghezza di coerenza determina anche la risoluzione assiale del sistema TD-OCT. Quindi la sorgente ricopre un ruolo fondamentale nelle prestazioni in termini di risoluzione, maggiore sarà la sua larghezza di banda $\Delta\lambda$, minore sarà la lunghezza di coerenza e migliore sarà la risoluzione assiale.

In figura (2.8) si mostra un esempio di intensità registrate per un campione con solo due superfici riflettenti.

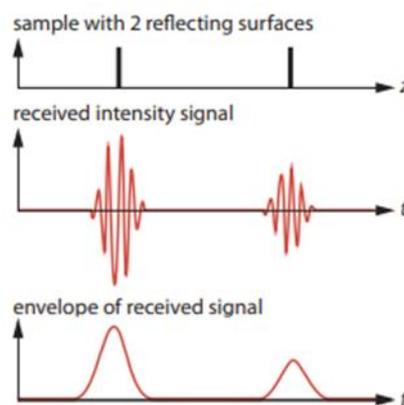


Fig. (2.8) Segnale risultante da un campione che presenta due superfici parzialmente riflettenti, la larghezza di ciascun involuppo è pari alla lunghezza di coerenza.

Per sorgenti con profilo spettrale gaussiano, la risoluzione assiale in TD-OCT è data da:

$$(2.6.1) \quad \Delta z = \frac{\ln(2)}{\pi} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}$$

² OPD (Optical Path Difference) è la differenza di percorso (o sfasamento) svolta tra due onde che passano attraverso mezzi di indice di rifrazione diversi.

La risoluzione trasversale, invece, è determinata dalla dimensione minima dello spot del fascio (beam waist), a sua volta, questa dipende dall'effettiva apertura numerica del sistema ottico o del campione, quindi il diametro pupillare dell'occhio.

Indispensabile per questa configurazione è lo specchio di riferimento, nonostante si possa mandare a velocità piuttosto elevate (decine di millimetri al secondo), tali velocità non consentono di acquisire in modo fermo le varie superfici dell'occhio e di farne delle misure affidabili. Di conseguenza questo processo di scansione meccanica limita la velocità di acquisizione delle immagini. Questo è stato uno dei motivi iniziali per cui questa tecnologia ha trovato difficoltà di applicazione in campo oftalmico [21]. L'acquisizione di segnali per il sistema diottrico oculare risultava difficile per via dei movimenti oculari.

2.4 FREQUENCY DOMAIN OCT

Mentre l'approccio TD-OCT può essere utilizzato per creare sezioni trasversali 1D o addirittura 2D del campione. L'implementazione FD-OCT nasce con l'intento di aumentare la velocità di scansione e risolvere problemi legati a vibrazioni meccaniche o incertezze spaziali presenti in TD-OCT.

FD-OCT sfrutta il fatto che un segnale è completamente definito non solo da come il suo valore cambia nel tempo, ma anche dalle sue informazioni spettrali. Pertanto, la riflettività del campione può essere misurata per tutte le profondità contemporaneamente misurando l'interferenza nel dominio della frequenza. Eseguendo una trasformata di Fourier si ottengono dallo spettro informazioni, di nuovo, nel dominio del tempo, ricavando in questo modo gli stessi risultati per quanto riguarda l'ampiezza degli echi e il loro ritardo [10].

2.5 SPECTRAL-DOMAIN OCT

OCT nel dominio spettrale (SD-OCT) rivela l'interferenza delle singole componenti spettrali della luce a bassa coerenza. Lo schema è molto simile al precedente, si utilizza ancora una sorgente a banda larga ma in questo caso lo specchio di riferimento è fisso, e il detector (rivelatore a fotodiode) viene sostituito da uno spettrometro. Quest'ultimo sarà composto da un reticolo di diffrazione e da un rivelatore CCD, CMOS o un line-array di fotodiode.

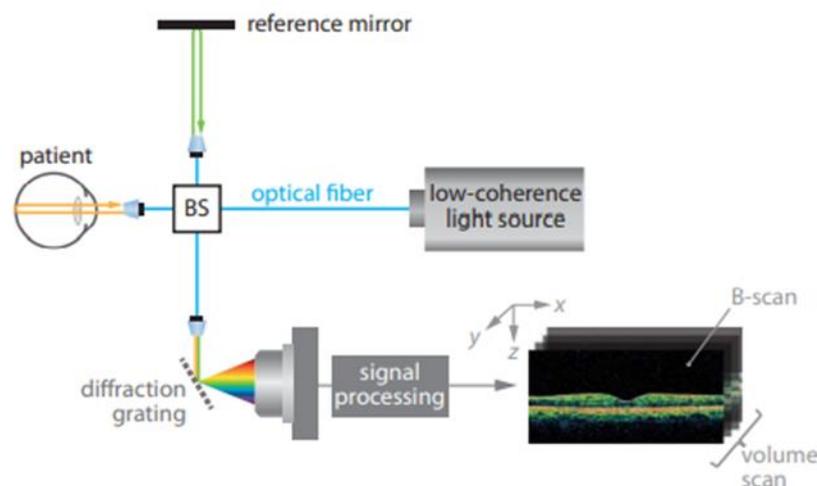


Fig. (2.9) Configurazione base di uno Spectral Domain OCT.

La luce retrodiffusa dal campione, nello specifico dalle strutture oculari, viene ricombinata tramite il beam splitter con la luce del braccio di riferimento all'interno braccio di rivelazione, la sovrapposizione dei due fasci viene suddivisa nelle sue componenti spettrali da un reticolo di diffrazione o da un prisma, per poi essere ripreso su una CCD.

Le differenze di lunghezze del percorso Δz tra il campione e il braccio di riferimento producono una modulazione periodica dello spettro di interferenza siccome ciascuno strato imprimerà la propria periodicità nella modulazione dello spettro. L'interferometro di Michelson, in questa configurazione, agisce come un "modulatore di lunghezza d'onda" per la luce a banda larga. La modulazione viene eseguita attraverso lo spettro dell'intensità registrata sul rivelatore.

La frequenza di modulazione nello spettro dipende da Δz . Valori di Δz piccoli producono una modulazione a bassa frequenza, mentre per ritardi maggiori la frequenza di modulazione aumenterà, (è possibile fare riferimento alla fig. (2.10) a sinistra). Eseguendo una trasformata di Fourier inversa, si riesce a recuperare il valore effettivo di Δz , questa corrisponderà alla posizione della superficie di retrodiffusione. La retrodiffusione da un numero di piani lungo l'asse z risulterà in una sovrapposizione di modulazioni nello spettro di interferenza. Poiché la trasformata di Fourier è una operazione lineare, permette di recuperare l'intero A-scan dalla misura dello spettro [9]. Per un calcolo più veloce si considera solitamente la trasformata di Fourier veloce (FFT).

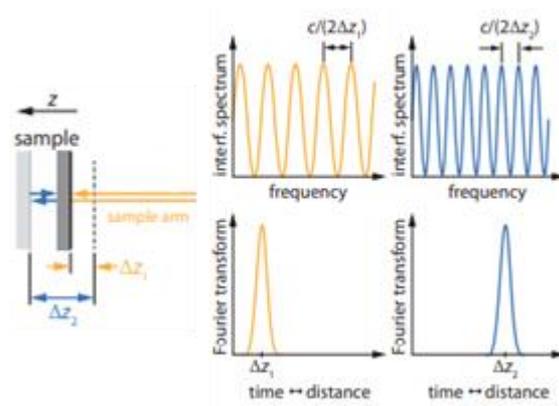


Fig. (2.10) Segnali rivelati per due diverse distanze dell'oggetto (giallo e blu). Nel braccio campione, un oggetto ha una distanza di Δz_2 (blu) dal riferimento piano (linea grigia tratteggiata). L'altro oggetto ha una distanza minore di Δz_1 (giallo) dal piano di riferimento. Quando confrontiamo entrambi i diagrammi della trasformata di Fourier, vediamo che le diverse posizioni possono essere recuperate dal segnale rivelato.

La risoluzione temporale [20] è data da:

$$(2.8.1) \quad \Delta t = \frac{1}{c} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}$$

dove λ_0 è la lunghezza d'onda centrale della larghezza spettrale $\Delta \lambda$.

Un passo spaziale si ottiene moltiplicando l'equazione precedente per la velocità della luce nel mezzo, si ricava:

$$(2.8.2) \quad \Delta z = \frac{1}{n_s} \frac{\lambda_0^2}{\Delta \lambda}$$

dove n_s è l'indice di rifrazione, assunto costante, del campione.

2.6 SWEPT-SOURCE OCT

Swept-source OCT (SS-OCT), noto anche come OCT nel dominio della frequenza codificato nel tempo, è una variante di FD-OCT. Le informazioni sulla frequenza non vengono estratte utilizzando la spettroscopia, ma vengono ricavate spazzando la frequenza o lunghezza d'onda di una sorgente luminosa con uno spettro molto stretto (parliamo di un laser tunable). Il segnale ottenuto dalla sovrapposizione dei due fasci viene rivelato da un singolo fotorivelatore nell'arco di una scansione, successivamente tramite una trasformata di Fourier si ricavano le informazioni in merito all'ampiezza degli echi e il loro ritardo come nel caso della SD-OCT.

La configurazione base di SS-OCT è riportata nella seguente figura:

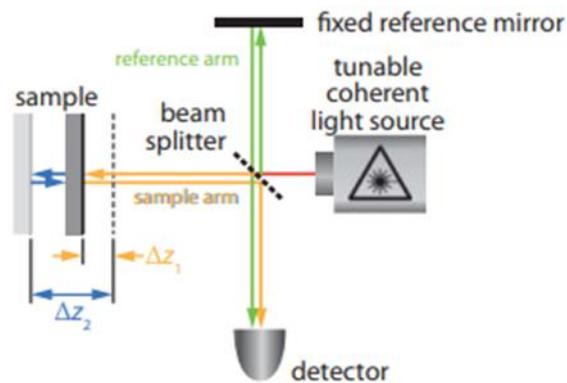


Fig. (2.11) Configurazione base Swep-Source OCT.

La sorgente non è più un diodo superluminescente ma un laser tunable capace di emettere in sequenza tanti impulsi monocromatici. Per brevissimi istanti di tempo la lunghezza d'onda emessa dalla sorgente è una senoide perfetta. Il fascio di radiazione viene di nuovo mandato nel braccio di riferimento e nel braccio del campione come nei due casi precedenti, ma in questo caso fascio retroriflesso e retrodiffuso non vengono analizzati da uno spettrometro, ma da un fotorivelatore (fotodiode).

Per ogni lunghezza d'onda emessa dal laser, arrivano al braccio di rivelazione i raggi retrodiffusi e retroflessi ad una sola lunghezza d'onda. Durante una scansione, ciascuna componente della lunghezza d'onda del segnale interferometrico viene rivelata in sequenza da un fotorilevatore ad alta velocità [22]. Una scansione della lunghezza d'onda costituisce un interferogramma spettrale. Per ciascun punto di campionamento, questo interferogramma spettrale viene registrato come mostrato nel riquadro a sinistra della figura (2.12). Diversamente da TD-OCT, l'interferogramma contiene informazioni per tutti gli strati di profondità del campione contemporaneamente. Per estrarre il loro contributo individuale in funzione della loro posizione di profondità, è necessario eseguire una trasformata di Fourier [14] come riportato nel riquadro a destra figura (2.12).

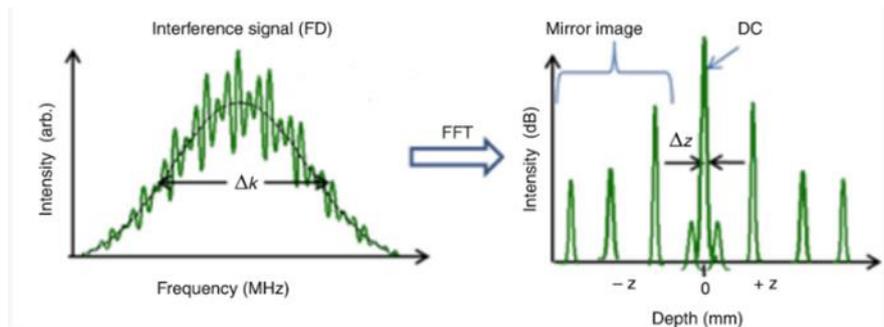


Fig. (2.12) A sinistra interferogramma spettrale registrato dal detector, a destra trasformata di Fourier applicata al segnale di interferenza rivelato. Immagine rielaborata da [14].

Come in FD-OCT, è il cambiamento della differenza di fase in funzione della frequenza della luce (o lunghezza d'onda) che codifica le informazioni spaziali (ritardo).

2.7 CONFRONTO TRA LE IMPLEMENTAZIONI

Eseguendo un confronto tra Time Domain e Frequency-Domain OCT, la differenza principale è che mentre il primo riporta la riflettività di un punto in profondità alla volta per ciascuna misura, il secondo riporta i valori di riflettività per tutti i punti lungo la linea di scansione in una volta sola. Questo conferisce all'implementazione FD-OCT una **maggiore velocità di acquisizione**, ciò è reso possibile dalla mancanza all'interno di questa configurazione, di parti mobili per la raccolta delle informazioni sulla profondità e dalla misurazione del segnale in parallelo con un CCD con un numero elevato di pixel. Utilizzando FD-OCT, diventano possibili velocità di acquisizione fino a 25.000 A-scan/sec con una buona risoluzione rispetto a circa le 4000 A-scan/sec dei sistemi TD-OCT, con la possibilità di acquisire una B-scan in 0,04 s ad alta risoluzione invece di una B-scan in 1,6 s a bassa risoluzione.

Un altro vantaggio di FD-OCT riguarda il **rapporto segnale-rumore** (SNR) che rispetto a TD-OCT **registra un miglioramento** della sensibilità di 2-3 ordini di grandezza [16].

Inoltre, se si adopera la configurazione FD-OCT si vanno ad annullare anche fattori come vibrazioni meccaniche o incertezze spaziali che erano presenti in TD-OCT e si possono ricostruire immagini tridimensionali del campione usando tanti B-scan affiancati.

Attualmente, la massima velocità di imaging che può essere raggiunta con FD-OCT è limitata dal trasferimento e dalla memorizzazione dei dati digitali.

Spectral Domain OCT e Swept Source OCT hanno una sensibilità simile. Tuttavia, per ragioni tecniche la velocità di scansione è attualmente più elevata per SS-OCT poiché la velocità di scansione delle sorgenti laser all'avanguardia è superiore alla velocità di lettura dei rivelatori di telecamere utilizzate nei SD-OCT. I dispositivi 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 0,04/sec, ed immagini 3D in 0.9 sec contro 1.9 sec degli SD-OCT.

Altri vantaggi degli SS-OCT consistono nella possibilità di impiegare intervalli di lunghezza d'onda di 1000-1300 nm. Queste lunghezze permettono di visualizzare ad alta risoluzione strutture in maggiore profondità [12].

Altro vantaggio degli SS-OCT è che, non usando per la rivelazione del tessuto un array CCD, non si ha il drop-off³ del segnale all'aumentare della profondità di scansione, essendo svincolati dalla dimensione finita dei pixel del CCD. Infine, nei sistemi SS-OCT la riduzione del segnale all'aumentare della profondità d'indagine è molto meno evidente, dato l'utilizzo di una sorgente laser a banda stretta, vero motivo della migliore profondità di risoluzione rispetto agli SD-OCT.

	SS-OCT	SD-OCT
Light source	Swept laser	SLD
Center wavelength	1,050 nm	840 nm
A-scan rate	100,000 Hz	50,000 Hz
Resolution (x)	20 μ m	20 μ m
Resolution (z)	8 μ m	6 μ m
B-scan measurement time	1.0 sec (96x)	1.0 sec (50x)
Imaging depth	2.6 mm	2.3 mm

Fig. (2.13) La tabella mostra differenze di performance tra OCT Swept Source e Spectral Domain (da Topcon).

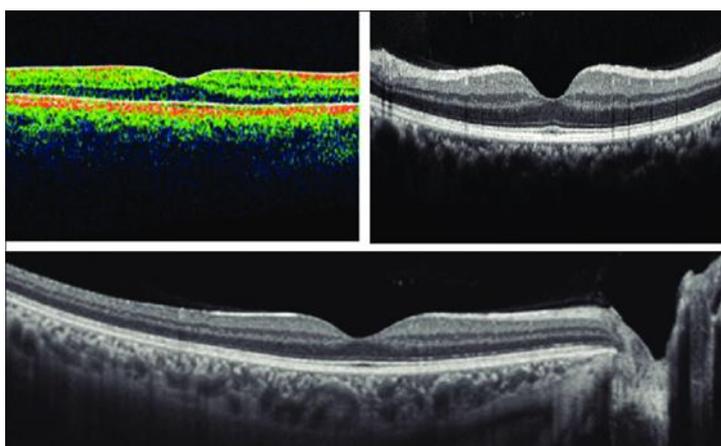


Fig. (2.14) Immagini della TD-OCT in alto a sinistra, SD-OCT in alto a destra e SS-OCT in basso della macula normale.

Il metodo SS-OCT cerca di unire la sensibilità raggiunta con SD-OCT con la semplicità hardware di TD-OCT.

2.8 PROBLEMATICHE LEGATE ALLA TECNOLOGIA

2.8.1 DISPERSIONE

Fino adesso è stata trascurata la dispersione del campione, ovvero abbiamo ipotizzato che la velocità di gruppo sia uguale in entrambi i bracci e che non vi sia nemmeno una dispersione della velocità di gruppo [9]. Tuttavia, se utilizziamo delle sorgenti a banda larga, come nel caso dei sistemi TD e SD-OCT, non possiamo trascurare le proprietà dispersive del nostro campione,

³ Il drop-off è una caduta intrinseca del segnale con la profondità, può essere compreso facendo riferimento al paragrafo 4.2.3.

queste avranno un effetto sulla velocità di gruppo e quindi anche sulla risoluzione. L'effetto della dispersione è quello di ampliare lo spettro di interferenza (o interferogramma), di conseguenza diminuisce la risoluzione dello strumento.

In altri termini, la luce diffusa riduce il contrasto dell'immagine, la conseguenza è che si riducono la risoluzione e la profondità dell'immagine, causando un calo della sua qualità.

Tale dispersione può essere compensata introducendo materiali come vetro BK7 o acqua nel ramo di riferimento oppure applicando appositi algoritmi software [17].

2.8.2 SPECKLE NOISE

Come mostrato in figura (2.15), quando le immagini B-scan vengono ingrandite, è possibile vedere un motivo a puntini poco riflettenti, noto come speckle noise, questo ha un effetto sul potere risolutivo dei B-scan. Tale rumore si origina per via del principio interferometrico dell'OCT, ovvero un oggetto viene scansionato con luce coerente, questa è la causa più comune di sfocatura ai confini dello strato retinico su immagini OCT B-scan. Quindi le immagini OCT strutturali soffrono di questo disturbo, in grado di oscurare piccole caratteristiche dell'immagine o ostacolare il riconoscimento dei contorni dei livelli [18].

L'acquisizione di immagini ad alta velocità di SD-OCT consente un'efficace riduzione dello speckle noise, che genera immagini B-scan ad alta risoluzione. Un modo per ridurre le macchie e quindi migliorare la visibilità delle strutture è ottenuto mediante la media del segnale. Il tessuto viene scansionato più volte e i valori di potenza OCT vengono mediati per generare il B-Scan OCT finale. La media non solo riduce il rumore, ma riduce anche le fluttuazioni dovute al rumore di fondo.

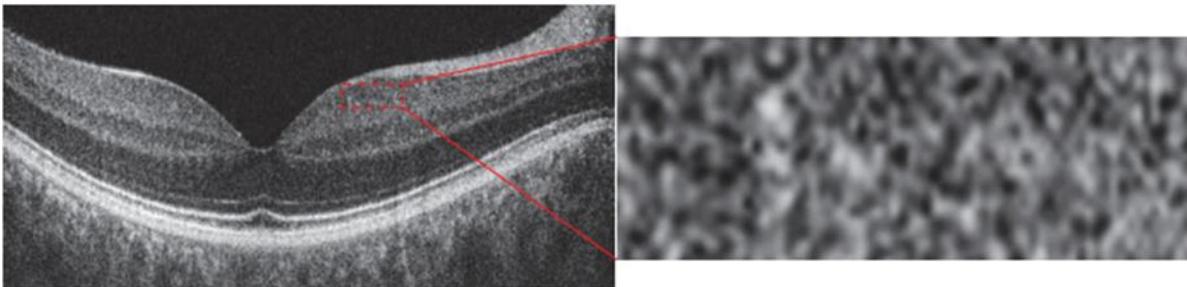


Fig. (2.15) Pattern di macchie debolmente riflettenti noto come speckle noise. Il rumore delle macchie diventa apparentemente visibile quando il B-scan viene ingrandito.

2.8.3 CADUTA DEL RAPPORTO SEGNALE-RUMORE (SRN DROPP OFF)

L'SNR Drop-Off è un fenomeno causato dal non perfetto mantenimento della monocromaticità dell'onda durante l'acquisizione del segnale. Nei sistemi SS-OCT, la larghezza di linea corrispondente a ciascun numero d'onda è così piccola che questo fattore può essere trascurato. Invece il calo dell'SNR nei sistemi SS-OCT è causato principalmente dalle non linearità nella scansione della lunghezza d'onda [9]. Solitamente le non linearità nella sorgente spazzata non sono evidenti, il calo dell'SNR non è rilevante e quindi può essere ignorato. Nei sistemi SD-OCT, l'SNR non è lo stesso per l'intero intervallo di scansione della profondità. Al contrario, diminuisce all'aumentare della differenza di lunghezza del percorso tra il braccio di riferimento e del campione. Nel sistema SD-OCT il calo dell'SNR può essere grave e può arrivare fino a circa 20 dB nell'intervallo di scansione [9].

Questo problema può essere risolto in due modi:

- 1) Diminuendo la dimensione dei pixel della telecamera CCD;
- 2) Spostando la regione interessata del campione vicino al punto di uguale lunghezza del percorso.

3 APPLICAZIONI DELLA TECNOLOGIA

Grazie alla potenzialità di questa tecnologia, l'applicazione dell'OCT in campo oftalmologico è ritenuta indispensabile per lo studio della morfologia di alcune strutture oculari, nonché per la diagnostica di patologie oculari. Come precedentemente detto, in principio l'OCT fu pensato per lo studio del segmento posteriore dell'occhio, successivamente venne adattato per la valutazione del segmento anteriore [22]. Pertanto, in base all'applicazione si può distinguere l'OCT per il segmento anteriore o per il segmento posteriore dell'occhio. Per i nostri interessi, faremo riferimento all'applicazione della tecnica per il segmento anteriore.

3.1.1 CENNI DI ANATOMIA DEL SEGMENTO ANTERIORE E POSTERIORE DELL'OCCHIO

Nell'anatomia dell'occhio umano riconosciamo due porzioni distinte: il segmento anteriore ed il segmento posteriore. La struttura dell'occhio ricorda una forma sferoidale, dove il segmento anteriore occupa la porzione anteriore e più superficiale, mentre il segmento posteriore la parte restante.

Il **segmento anteriore** del bulbo oculare corrisponde alla parte visibile dell'occhio e comprende la cornea, la camera anteriore, l'iride, il forame pupillare, il cristallino, l'apparato zonulare e il corpo ciliare.

Il **segmento posteriore** del bulbo oculare comprende quell'area anatomica che va dalla superficie posteriore del cristallino alla retina con il corpo vitreo che riempie la cavità omonima. Quindi il segmento posteriore è costituito da corpo vitreo, sclera, uvea e retina [23].

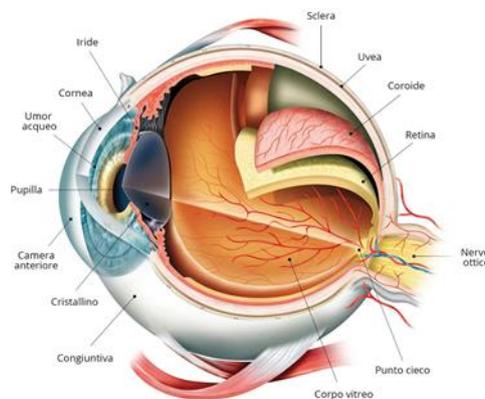


Fig. (3.1) Rappresentazione pittorica del bulbo oculare. Immagine rielaborata da [24]

3.1.2 OCT DEL SEGMENTO ANTERIORE

Per l'imaging del segmento anteriore con OCT si utilizza una lunghezza d'onda di lavoro intorno a 1050 nm o 1300 nm.

L'OCT anteriore può essere utilizzato per:

- Biometria completa e imaging in sezione trasversale della camera anteriore dell'occhio.
- Visualizzazione e misurazione dell'angolo della camera anteriore, anche detto angolo irido-corneale e diagnosi di glaucoma ad angolo chiuso.
- Misurazione del lembo corneale a seguito di chirurgia refrattiva con metodo Laser-Assisted In situ Keratomileusis (LASIK) e dello spessore del letto stromale prima e dopo LASIK.
- Visualizzazione e misurazione dei risultati di impianti corneali e lamellari.
- Misura delle dimensioni della camera anteriore e valutazione dell'adattamento e posizionamento di una lente intraoculare (IOL).
- Mappatura dello spessore corneale, valutazione del cheratocono e imaging attraverso l'opacità corneale per accedere alle strutture oculari interne.

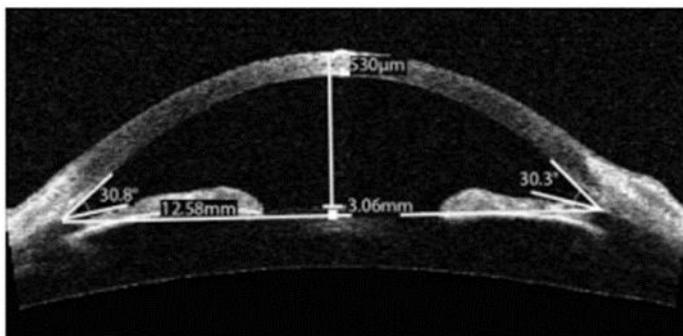


Fig. (3.2) Immagine sezione trasversale della camera anteriore ottenuta con Zeiss Visante OCT con analisi delle dimensioni e degli angoli del segmento anteriore dell'occhio di un soggetto. Immagine rielaborata da [9].

3.1.3 OCT DEL SEGMENTO POSTERIORE

Per l'imaging del segmento posteriore con OCT si utilizza tipicamente una lunghezza d'onda di lavoro intorno agli 850 nm.

I cambiamenti morfologici, ovvero cambiamenti di colore e forma, che sono evidenti nelle immagini del fondo oculare, forniscono importanti informazioni sulle patologie afferenti alla retina. Con l'OCT avendo una buona risoluzione assiale e laterale, le opzioni di diagnostica migliorano in modo significativo.

L'OCT offre dunque una varietà di nuove opzioni diagnostiche per l'oftalmologia retinica, le più importanti delle quali sono:

- Diagnosi delle malattie maculari (inclusi fori maculari, edema, ispessimento retinico).
- Diagnosi precoce e controllo della progressione della degenerazione maculare senile.
- Diagnosi del glaucoma misurando lo spessore della retina, lo strato di fibre nervose (RNFL) e/o lo strato di cellule gangliari (GCL).
- Diagnosi del glaucoma mediante analisi della testa del nervo ottico.

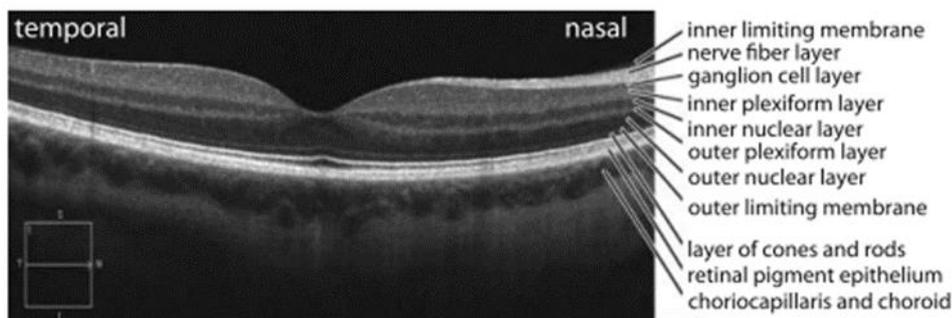


Fig. (3.3) Strati di una retina umana ripresi mediante OCT. Immagine rielaborata da [9].

3.2 APPLICAZIONE DELL'OCT IN CONTATTOLOGIA

Nella contattologia, lo studio del segmento anteriore del bulbo oculare tramite l'OCT si rende utile principalmente per:

- Applicazione di lenti a contatto sclerali.
- Valutazione post-trattamento di ortokeratologia.
- Valutazione del film lacrimale.

3.2.1 APPLICAZIONE DI LENTI A CONTATTO SCLERALI

Le lenti a contatto (LAC) sclerali sono lenti rigide gas-permeabili (RGP) aventi un diametro molto più grande della cornea (fino a 25 mm) e il cui appoggio avviene a livello sclerale. Il loro campo d'azione riguarda casi di elevati astigmatismi corneali, cheratocono in stadio avanzato, traumi corneali o centraggio difficoltoso con altre LAC [32].



Fig. (3.4) LAC sclerale

Molti professionisti affiancano al topografo corneale ⁴questo strumento versatile. Ad esempio, come riportato in un articolo di ricerca [25], al Pacific University College of Optometry (Oregon-USA) l'OCT viene usato per una serie di valutazioni pre e post applicazione di lenti a contatto.

Il sistema OCT contiene dei calibri lineari per consentire un'analisi precisa del segmento anteriore a varie profondità sagittali e dispone di calibri angolari che consentono di misurare gli angoli corneali, limbari e sclerali (fig. 3.5).

⁴ Il topografo corneale è uno strumento che permette la mappatura della superficie anteriore della cornea.

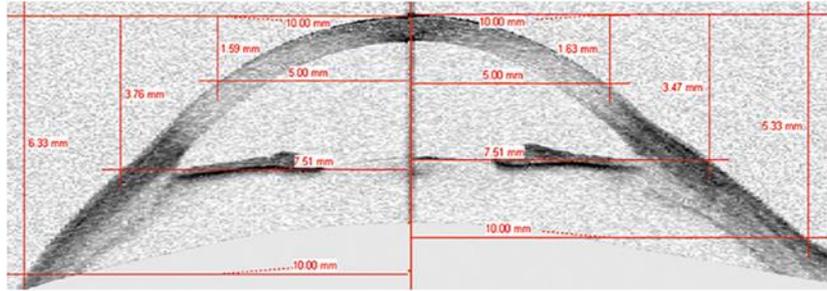


Fig. (3.5) Mostra i calibri lineari e angolari mostrati dal sistema OCT. Immagine rielaborata da [25].

Per una buona applicazione di queste lenti è utile conoscere i seguenti parametri [25]:

- **Profondità sagittale:** La misura della profondità sagittale del segmento anteriore è definita come la distanza tra la tangente all'apice corneale e una corda di riferimento lunga 15 mm, come mostrato in figura (3.6). Va sottolineato che l'OCT consente l'imaging della cornea, del limbus e della sclera fino a un diametro di circa 16 mm, a differenza del topografo corneale che rivela informazioni entro un diametro di circa 8 mm.

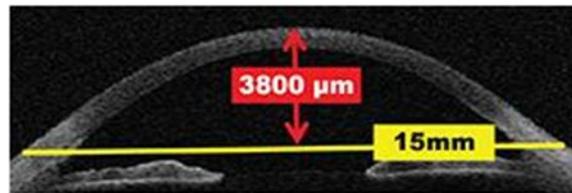


Fig. (3.6) La profondità sagittale da una corda di 15 mm attraverso il segmento anteriore all'apice della cornea. Immagine rielaborata da [25].

La profondità sagittale media di un occhio è di circa 3.800 μm.

- **Angolo della cornea periferica, limbus e sclera:** è un ulteriore parametro rivelabile dall'OCT e utile nell'applicazione di lenti a contatto sclerali. Mentre la profondità sagittale determina l'altezza della lente richiesta, quest'angolo ci dice come regolare le zone di atterraggio limbare o sclerale. Per la misura dell'angolo si usano dei calibri, questi vengono posizionati su una corda di 10-12 mm per la cornea e 15-20 mm per la sclera fig. (3.7).

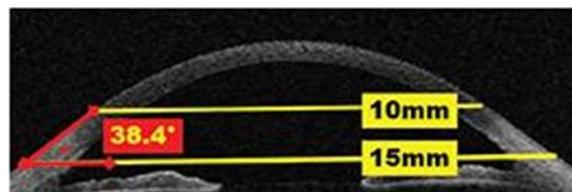


Fig. (3.7) Misurazione con OCT dell'angolo periferico della cornea, del limbus e della sclera. Immagine rielaborata da [25].

L'angolo medio periferico corneale, limbare e sclerale è di circa 38,4°.

- **Spessore corneale:** Un'altra preziosa funzione OCT che viene utilizzata durante l'applicazione di una lente a contatto è la pachimetria globale, ovvero la misura dello spessore corneale. In generale l'applicazione di una qualsiasi lente a contatto richiede uno

spessore corneale minimo di 250 μm . Quando si applicano lenti a contatto speciali, una fonte di preoccupazione è una cornea soggetta a edema. Inoltre, è importante monitorare le variazioni dello spessore corneale nei soggetti che indossano lenti spesse per cheratocono, morbide personalizzate, lenti piggyback, lenti ibride e lenti sclerali. Il confronto dello spessore corneale prima e dopo l'uso di lenti a contatto speciali può aiutare a monitorare la presenza di edema corneale⁵.

Ulteriori parametri rivelabili con l'OCT e utili per l'applicazione di lenti a contatto sclerali sono:

- **Compressione congiuntivale:** È possibile quantificare la compressione congiuntivale e sclerale durante e dopo l'uso della lente. La compressione dei tessuti varia a seconda del modello di lente ed è influenzata principalmente dalla tangente e dalla curvatura della zona di atterraggio, dal diametro totale della lente e potenzialmente dalla tecnica di inserimento. La compressione dei tessuti può influenzare lo scambio lacrimale, il comfort durante l'uso della lente, l'estensione della colorazione congiuntivale dopo la rimozione della lente e potenzialmente la pressione intraoculare.
- **Curvatura sclerale anteriore:** La valutazione della regione corneo-sclerale è essenziale in queste lenti. Non sempre i dati cheratometrici possono essere estrapolati dalla sclera. L'OCT ha dimostrato che la cheratometria sclerale è più piatta sulla regione nasale e più ripida sul meridiano temporale [26].
- **Giunzione limbare sclero-corneale:** La forma della giunzione limbare, dove la cornea incontra la sclera, influisce sul design delle lenti a contatto, influenza l'adattamento della lente e potenzialmente il comfort del soggetto durante l'uso delle lenti sclerali [31], è possibile fare riferimento alla figura (3.8).

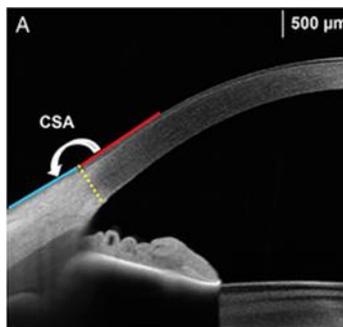
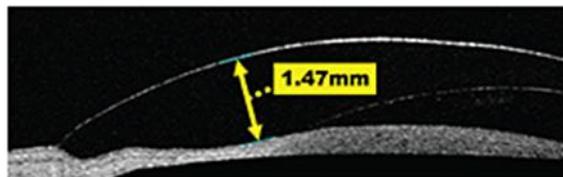


Fig. (3.8) Mostra l'angolo di giunzione corneo-sclerale. Immagine rielaborata da [31].

- **Spessore della lente al bordo:** È possibile osservare lo spessore del materiale dall'apice al bordo fig. (3.9). Molti produttori di lenti a contatto forniscono unicamente la misura dello spessore centrale della lente ordinata. Questo parametro è da tenere in considerazione per quanto riguarda la trasmissione di ossigeno su tutta l'area della superficie della lente.



⁵ L'edema corneale è una condizione patologica in cui la cornea subisce un ispessimento della sua struttura per via di un eccessivo accumulo di liquidi nel suo strato più interno, lo stroma.

Fig. (3.9) Spessore della lente sclerale periferica di 1,47 mm (1.470 micron). Immagine rielaborata da [25].

- **Forma del bordo:** Spesso il discomfort a cui è sottoposto un portatore di LAC è dovuto alla qualità del bordo della lente.

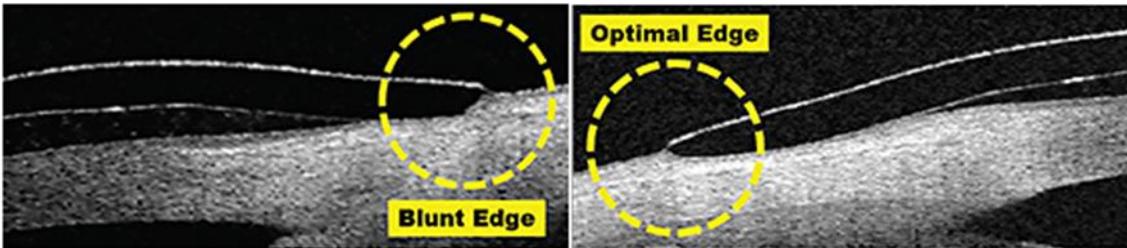


Fig. (3.10) A sinistra bordo della lente di fabbricazione scadente, si traduce in un bordo appuntito. A destra un bordo rifinito in modo ottimale con una punta ben arrotondata. Immagine rielaborata da [25].

Avere il soggetto fissato fuori centro durante l'acquisizione dell'imaging OCT ci consente di visualizzare il profilo del bordo in sezione trasversale e lo spessore della lente al bordo.

3.2.2 VALUTAZIONE POST-ORTOCHERATOLOGIA

L'ortocheratologia o Ortho-K è una tecnica basata sull'utilizzo notturno di lenti a contatto a geometria particolare, ovvero lenti a geometria inversa, per la riduzione o compensazione di ametropie come miopia, ipermetropia o astigmatismo. Mediante il porto di queste lenti le cellule epiteliali si ridistribuiscono per effetto della pressione esercitata dal liquido lacrimale sotto la lente.

L'utilità dell'OCT in questa tecnica si basa sullo studio del comportamento dei diversi strati corneali con Ortho-K. L'assottigliamento della cornea centrale e l'ispessimento periferico causato dalle lenti Ortho-K contribuiscono ad una diminuzione dell'errore refrattivo. Già dalla prima notte di utilizzo si registrano cambiamenti significativi fig. (3.11).

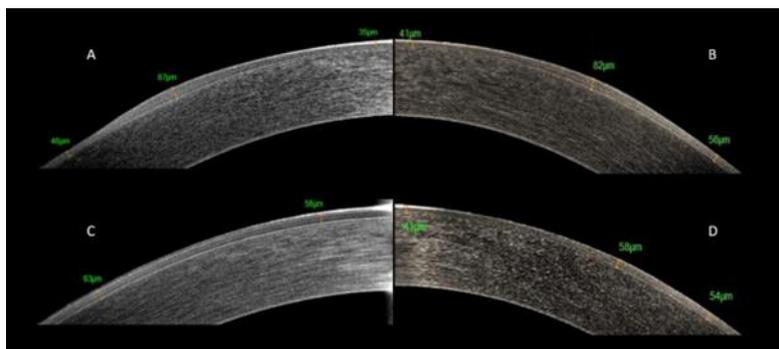


Fig. (3.11) Sezioni di assottigliamento epiteliale centrale e ispessimento periferico per diverse lenti di potere diverso per ortocheratologia: -10,75 D (A), -5,75 D (B) e -1,75 D rispetto al trattamento pre-Ortho-K (C). Immagine rielaborata da [26].

Dopo 4 settimane di utilizzo delle lenti Ortho-K è stata dimostrata [27] una diminuzione dello spessore dell'epitelio centrale del 7,3% e un aumento dello spessore della periferia del 13%, con un ritorno ai valori basali tre giorni dopo la sospensione del porto.

Studi simili sono stati condotti nei bambini a causa dell'interesse di Ortho-K per il controllo della progressione della miopia [28] e sono stati ottenuti risultati simili in termini di variazioni dello spessore epiteliale.

3.2.3 VALUTAZIONE DEL FILM LACRIMALE

Il gruppo di ricerca di J. Wang [29] ha dimostrato la fattibilità della misurazione dello spessore del film lacrimale tra la superficie oculare e la superficie posteriore della lente (PoLTF) nei portatori di lenti a contatto con OCT. Solo nel 2009 è stato sviluppato un prototipo OCT con una risoluzione sufficiente per ottenere immagini di questo film lacrimale in situ [29], ciò ha aperto una nuova metodologia di studio del film lacrimale per i portatori di lenti a contatto.

Un volume sufficiente del film lacrimale è essenziale per preservare, oltre alla salute oculare, una superficie ottica uniforme e priva di aberrazioni. L'utilizzo delle lenti a contatto potrebbe portare a cambiamenti nell'equilibrio naturale dei componenti biochimici delle lacrime [26], queste possono contribuire ad aumentare la sensazione di secchezza e il disagio nel porto. Un parametro ampiamente utilizzato per la diagnosi della malattia dell'occhio secco è la determinazione del volume del menisco lacrimale ⁶(TMV). Cambiamenti nella dinamica del menisco lacrimale e parametri come TMV o altezza del menisco lacrimale (TMH), possono essere determinati tramite OCT [30].

In sostanza si è dimostrato che è possibile misurare l'aumento del volume lacrimale a seguito dell'applicazione di una lente a contatto e che il TMV è un'importante misurazione oggettiva che potrebbe essere utilizzata come indicatore delle condizioni del film lacrimale.

Esistono altre tecniche che, con buona concordanza e ripetibilità, sono in grado di misurare i parametri del menisco lacrimale come la pachimetria ottica in sezione trasversale con e senza fluoresceina o l'acquisizione video. Per quanto riguarda il TMH, il dispositivo più utilizzato per misurarlo è stata la lampada a fessura, tuttavia, la precisione e la ripetibilità dell'OCT si sono rivelate migliori. Il vantaggio fondamentale dell'OCT in questa sezione risiede nella sua alta velocità che rende possibile la ricerca dinamica della lacrima [26].

⁶ Il menisco lacrimale è lo strato di film lacrimale tra la superficie posteriore della LAC e la superficie anteriore della cornea.

3.3 CONFRONTO CON ALTRE TECNICHE DI IMAGING

In alternativa all'imaging con OCT troviamo altre due tecniche importanti: l'imaging ad ultrasuoni (ecografia) e la microscopia confocale [9,10,14].

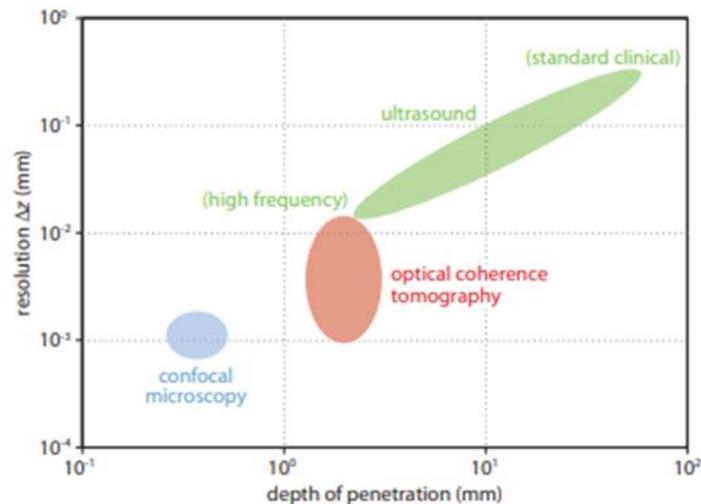


Fig. (3.12) Profondità di penetrazione nel tessuto umano tipico della tomografia a coerenza ottica (rosso) rispetto a microscopia confocale e agli scanner ad ultrasuoni (verde). Immagine rielaborata da [9].

Imaging ad ultrasuoni: L'imaging ad ultrasuoni, detta anche ecografia, presenta la risoluzione assiale dipendente dalla frequenza dell'onda sonora utilizzata. D'altra parte, può fornire grandi profondità di imaging fino a circa 10 millimetri, grazie alla bassa attenuazione delle onde sonore alle frequenze tipicamente utilizzate nelle applicazioni cliniche. Tuttavia, queste frequenze (tra 3 MHz e 40 MHz) limitano la risoluzione che può essere raggiunta, da circa 0,1 mm a 1 mm. Sono state impiegate frequenze più alte di circa 100 MHz per ottenere risoluzioni da 15 a 20 micrometri, ma la forte attenuazione delle onde sonore a quelle frequenze nel tessuto biologico limitano la profondità di penetrazione a circa 15 millimetri.

Imaging con microscopia confocale: La microscopia confocale permette alte risoluzioni assiali circa 1 μm , ma è limitata dalla diffrazione della luce. Si potrebbe fare uso di coloranti per aumentare il contrasto nel tessuto ma in tal modo l'osservazione risulterebbe meno "naturale". La penetrazione a causa della dispersione ottica è molto scarsa. Nella maggior parte dei campioni biologici, sono ottenibili solo poche centinaia di micrometri di profondità, il che rende tale tecnica inadatta per applicazioni in cui è richiesta una profondità di imaging significativa.

Imaging con OCT: La tomografia a coerenza ottica colma il divario tra le due tecniche viste precedentemente. È un metodo di imaging ottico, con risoluzioni limitata dalla larghezza di banda della sorgente luminosa tipicamente utilizzata, da circa 1-15 μm e una profondità di penetrazione di circa 2-3 mm, migliore se il tessuto risulta trasparente. A causa del metodo di misurazione interferometrico, la risoluzione assiale è definita dalla sorgente luminosa e non dall'ottica di focalizzazione. La messa a fuoco estesa e il funzionamento con luce nel vicino infrarosso mantengono una profondità di penetrazione tale da arrivare fino alla retina umana.

3.4 INNOVAZIONI DELLA TECNOLOGIA

Vengono riportate alcune innovazioni della tecnologia sulla quale la ricerca attuale si focalizza.

3.4.1 OCT SENSIBILE ALLA POLARIZZAZIONE (PS-OCT)

La struttura delle lamelle dello stroma corneale può essere responsabile di una birifrangenza della cornea umana, anche il cristallino mostra una birifrangenza se pure piccola. Tali strutture possono influire sulla polarizzazione del fascio di scansione retrodiffuso.

Il segnale di interferenza OCT dipende dalla polarizzazione relativa ai due fasci di interferenza. Se si utilizza un'opportuna configurazione, come mostrato in figura (3.13), è possibile rivelare le proprietà dipendenti dalla polarizzazione, o che cambiano la polarizzazione del tessuto campione.

Tre diversi meccanismi possono cambiare la polarizzazione della luce nei tessuti:

- Birifrangenza
- Dicroismo
- Rotazione ottica

L'OCT sensibile alla polarizzazione è un'estensione dei FD-OCT. Matematicamente la polarizzazione della luce e le proprietà di cambiamento della polarizzazione di un campione di tessuto possono essere descritte con il formalismo di Jones. Questo formalismo considera il vettore del campo elettrico \vec{E} per descrivere lo stato di polarizzazione dell'onda elettromagnetica che si propaga verso il campione, dove E_x ed E_y sono le sue componenti complesse. Le proprietà che cambiano la polarizzazione di un mezzo sono descritte dalla matrice di Jones J , questa è una matrice di componenti 2x2 a valori complessi.

$$(3.1) \quad \vec{E} = \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix}$$

$$(3.2) \quad J^{(2,2)} = \begin{pmatrix} J_{1,1} & J_{1,2} \\ J_{2,1} & J_{2,2} \end{pmatrix}$$

In caso di n strati di tessuto trasmessi consecutivamente, la matrice di Jones risultante J può essere scritta come il prodotto di n singole matrici di Jones $J = J_n \cdot J_{n-1} \cdot \dots \cdot J_1$.

Lo stato di polarizzazione dell'onda retrodiffusa è dato da:

$$(3.3) \quad \vec{E}' = \begin{pmatrix} E'_x \\ E'_y \end{pmatrix} = J \cdot \vec{E} = \begin{pmatrix} J_{1,1} & J_{1,2} \\ J_{2,1} & J_{2,2} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix}$$

Dove l'ampiezza e la fase relativa delle due componenti E'_x e E'_y dopo il passaggio attraverso il mezzo vengono misurate per due diversi vettori di polarizzazione.

Pertanto, l'equazione (3.3) produce quattro equazioni complesse, che consentono di calcolare le componenti complesse della matrice di Jones J e quindi risalire ad alcune proprietà del tessuto analizzato.

Sono necessarie quattro misure (ampiezza e fase) per determinare le componenti complesse della matrice di Jones. Due fasci con polarizzazioni linearmente indipendenti vengono applicati al

campione e due unità di rivelazione misurano le componenti di due stati di polarizzazioni ortogonali (o almeno linearmente indipendenti).

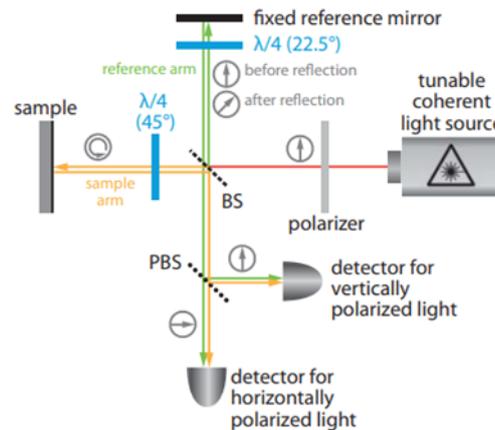


Fig. (3.13) Configurazione schematica di un OCT sensibile alla polarizzazione (PS-OCT) basato su SS-OCT. " $\lambda/4$ " si riferisce alle lamine di ritardo a quarto d'onda. BS denota il divisore di fascio e PBS rappresenta il divisore di raggio polarizzante. I cerchi grigi con la freccia rappresentano le direzioni di polarizzazione.

3.4.2 OCT NEL VISIBILE (Vis-OCT)

Tutti i sistemi OCT disponibili in commercio operano nell'intervallo di lunghezze d'onda del vicino infrarosso tra 0,8 e 1,3 μm . Spostare la lunghezza d'onda di lavoro nell'intervallo del visibile comporterebbe diverse sfide e svantaggi (aberrazioni cromatiche e costi economici elevati), ma presenterebbe anche due vantaggi principali, presentati di seguito:

- 1) Con Vis-OCT la risoluzione laterale e soprattutto assiale dell'imaging OCT retinico potrebbero essere significativamente migliorati. Come precedentemente detto, la risoluzione assiale dell'OCT dipende dalla larghezza di banda della sorgente. L'uso di un ampio spettro visibile a lunghezze d'onda più corte (es. 450-700 nm) aumenta notevolmente la risoluzione assiale, circa 8 volte rispetto ad un OCT a infrarossi standard, centrato a 880 nm e con una larghezza di banda di 80 nm [14].
- 2) Con Vis-OCT le informazioni spettrali della luce visibile retrodiffusa potrebbero essere utilizzate per l'analisi spettroscopica. In teoria si potrebbe analizzare la luce retrodiffusa rispetto a qualsiasi tessuto assorbente dipendente dalla profondità o ad altre proprietà spettroscopiche del campione. Otterremmo in tal modo un OCT spettroscopico in grado di fornire dati volumetrici quantitativi sulle proprietà di assorbimento e diffusione del tessuto esaminato [9].

3.4.3 OTTICA ADATTIVA OCT (AO-OCT)

Il futuro degli OCT va verso un ulteriore miglioramento della definizione dei particolari strutturali tramite l'ausilio dell'ottica adattiva.

L'ottica adattiva è una moderna tecnica che ha come obiettivo quello di aumentare la risoluzione di uno strumento di imaging ottico compensando le aberrazioni del fronte d'onda aberrato.

Nell'imaging retinico, la risoluzione trasversale è limitata dalla diffrazione essendo determinata dal forame pupillare dell'occhio. La lunghezza focale dell'occhio e il diametro della pupilla, che può

essere dilatato al massimo fino a circa 8 mm, limitano NA a circa 0,24. Teoricamente è possibile ottenere una risoluzione di circa $2 \mu\text{m}$ per 840 nm. Tuttavia, la risoluzione ottica è ridotta per pupille dilatate poiché le aberrazioni ottiche dell'occhio umano aumentano rapidamente all'aumentare del diametro della pupilla.

L'obiettivo dell'ottica adattiva è di compensare le aberrazioni ottiche per mezzo di una componente ottica adattiva, come ad esempio uno specchio deformabile, e realizzare così la risoluzione limitata della diffrazione anche per pupille completamente dilatate.

Contrariamente alla risoluzione laterale, la risoluzione assiale dei sistemi OCT è indipendente dall'apertura numerica e può essere ottimizzata a $3 \mu\text{m}$ [14] aumentando la larghezza di banda della sorgente luminosa.

3.4.4 HIGH SPEED OCT

La ricerca si concentra anche sul miglioramento della velocità di scansione, puntando a velocità di imaging ultraelevati. In particolare, con SS-OCT, sono già state raggiunte velocità di scansione al di sopra di 1 GHz.

Le ragioni della richiesta di sistemi OCT ad alta velocità sono molteplici. Un esempio sono i movimenti oculari. Tali movimenti interferiscono con il pattern di scansione e causano artefatti. Sofisticati algoritmi di eye tracking possono eliminare questi artefatti rivelando il movimento degli occhi. Tuttavia, questo di solito si traduce in tempi di acquisizione prolungati, specialmente per i soggetti con scarsa capacità di fissazione. Lo svantaggio dell'OCT a scansione ad alta velocità è il tempo di illuminazione ridotto, che in generale si traduce in una diminuzione della sensibilità.

CONCLUSIONI

Da quanto è stato descritto, la tomografia a coerenza ottica colma il divario tra l'imaging ad ultrasuoni e la microscopia confocale. Lo sviluppo e l'applicazione di questa tecnica è risultata fondamentale non solo per i professionisti del campo oftalmologico, ma anche per coloro che si occupano di visione e nello specifico di applicazioni di lenti a contatto.

Da sempre, nel campo della contattologia si cercano metodi innovativi per aumentare l'efficienza di applicazione di LAC e, cosa più importante, fornire ai soggetti il miglior adattamento possibile. L'OCT del segmento anteriore si è reso utile in questo, risultando uno strumento prezioso non solo per la valutazione preliminare, specie di casi molto difficili, ma anche nel controllo post-applicativo. Lo studio dell'interazione tra lenti a contatto e superficie oculare quantifica cambiamenti di alcune strutture anteriori, per esempio le variazioni morfologiche del limbus, della congiuntiva, degli strati corneali nonché l'abbassamento del volume dei menischi lacrimali. Questi possono essere parametri chiave per un contattologo nella scelta di una lente adeguata, non solo per lenti a contatto speciali ma anche, in generale, per lenti a contatto rigide o morbide. Inoltre, tutte queste informazioni potrebbero essere utili ai laboratori, ai fini di progettazione di nuove lenti a contatto con materiali e geometrie più adatte.

La ricerca su questa tecnica di imaging punta sulle sorgenti luminose a banda più ampia, questi dovrebbero essere incorporati nel modello SS-OCT dotato già di una buona velocità di acquisizione, fornendo in tal modo una risoluzione più elevata e un campo di scansione più ampio. In futuro si presume che la disponibilità di nuovi componenti, porterà sicuramente ad un beneficio in tutti quei campi per la quale questa tecnica trova un'applicazione, e porterà alla svolta sia dei metodi descritti e che non sono stati ancora implementati commercialmente e sia di quelli ancora oggi sconosciuti.

BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- [1] Esperimentazioni di Fisica: Ottica, L. Merola, Liguori (2004).
- [2] Principi di Fisica, Serway e Jewett, EdiSES - Fifth Edition (2015).
- [3] Eugene Hecht. "Optics", Pearson - Fifth Edition (2016).
- [4] Principles of Lasers, Orazio Svelto, Springer - Fifth Edition (2010).
- [5] https://it.wikipedia.org/wiki/Radiazione_elettromagnetica
- [6] https://www.miniphysics.com/electromagnetic-spectrum_25.html
- [7] https://it.wikipedia.org/wiki/Onda_piana
- [8] https://it.wikipedia.org/wiki/Vettore_di_Poynting
- [9] Optical Devices in Ophthalmology and Optometry, Michael Kaschke, Karl-Heinz Donnerhacke, and Michael Stefan Rill, Wiley (2014).
- [10] <https://docplayer.net/57351685-Optical-coherence-tomography.html>
- [11] https://backend.orbit.dtu.dk/ws/portalfiles/portal/12630143/phd_thesis_sema.pdf
- [12] <https://www.amedeolucente.it/pdf/Imaging%20in%20Oftalmologia%20Principi%20di%20fisica%20e%20prospettive%20future.pdf>
- [13] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1531864/>
- [14] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554044/#ch3.Sec1>
- [15] https://light.ece.illinois.edu/ECE280/OCT_review.pdf
- [16] <https://research.vu.nl/ws/portalfiles/portal/42146308/chapter+2+--+Principles+of+OCT.pdf>
- [17] <https://www.future-science.com/doi/10.2144/000112090>
- [18] https://media.heidelbergengineering.com/downloads/ebooks/OCT-Atlas-Hangai_EN.pdf
- [19] <https://www.amedeolucente.it/pdf/Imaging%20in%20Oftalmologia%20Principi%20di%20fisica%20e%20prospettive%20future.pdf>
- [20] Optical coherence tomography: A clinical and technical update, chapter 7, Rui Bernardes; José G Cunha-Vaz (2012).
- [21] https://www.youtube.com/watch?v= V0b5qpd8_M
- [22] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135094621730085X#bib126>
- [23] <https://www.amedeolucente.it/anatomia-fisiologia-occhio-umano.html>

[24] <https://www.oculistanizzola.it/occhio/anatomia-occhio>

[25] <https://www.clspectrum.com/issues/2014/october-2014/benefits-of-oct-when-fitting-specialty-lenses>

[26] OCT applications in contact lens fitting, Gonzalo Valdes, Maria Romaguera, Maria Serramito, Alejandro Cerviño, G. Gonzalo Carracedo, Contact Lens and Anterior Eyes (2021) 101540.

[27] Central Corneal Edema with Scleral-Lens Wear, Young Hyun Kim, Bo Tan, Meng C. Lin & Clayton J. Radke, Curr Eye Res. 43 (2018) 1305-1315.

[28] Retardation of Myopia in Orthokeratology (ROMIO) Study: A 2-Year Randomized Clinical Trial, Pauline Cho, Sin-Wan Cheung, Invest Ophthalmol Vis Sci. 53 (2012) 7077-85.

[29] In Situ Visualization of Tears on Contact Lens Using Ultra High Resolution Optical Coherence Tomography, Jianhua Wang, M.D, Ph.D, Shuliang Jiao, Ph.D., Marco Ruggeri, B.Sc, Mohammed Abou Shousha, M.D, and Qi Chen, M.D, Eye Contact Lens. 35 (2009) 44-9.

[30] Evaluation of tear meniscus by optical coherence tomography after different sodium hyaluronate eyedrops instillation, Gonzalo Carracedo, Cristina Pastrana, Maria Serramito, Candela Rodriguez-Pomar, Acta Ophthalmol. 97 (2019) e162-e169.

[31] Optical coherence tomography and scleral contact lenses: clinical and research applications, Stephen J. Vincet PhD, David Alonso-Caneiro PhD, Michael J. Collins, Clin Exp Optom. 102 (2019) 224-241.

[32] Manuale di optometria e contattologia, seconda edizione, Anto Rossetti e Pietro Gheller, Zanichelli (2003).

RINGRAZIAMENTI

Innanzitutto ringrazio il mio relatore, il prof. Rosario De Rosa, per avermi seguito durante la stesura dell'elaborato, per i suoi suggerimenti e per la sua immensa disponibilità di fronte ad ogni mia richiesta.

Ringrazio i miei genitori, per la fiducia che mi avete dato e per i sacrifici che avete fatto per vedermi giungere a questo traguardo.

Ringrazio Fabrizio, che da buon fratello quale sei non mi hai mai lasciato solo.

Ringrazio mio nonno Antonio, nonostante la tua perdita non hai mai smesso di darmi la forza.

Ringrazio mia nonna e tutta la mia famiglia, per l'affetto che non mi avete mai fatto mancare.

Ringrazio una persona unica e speciale per me, Alessia. Abbiamo affrontato insieme questo percorso sostenendoci l'un l'altro, incoraggiandoci nei momenti più difficili e festeggiando insieme ogni piccolo traguardo. Grazie per tutto il sostegno che mi hai sempre dato, per avermi sopportato e per aver reso questo percorso il meno tortuoso possibile con la tua presenza.

Ringrazio i miei cari amici: Giordano, Alessandro, Giuseppe, Marco e Biagio. Per il supporto che mi avete dato in questi anni.

Infine, ringrazio gli amici dell'università. Fate parte di un bellissimo ricordo che porterò sempre con me.