

**POLITECNICO DI MILANO**

**Scuola di Ingegneria Industriale e dell'Informazione**

**Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Fisica**



**NUOVI SVILUPPI DI UNO  
STRUMENTO PER LA  
MAMMOGRAFIA OTTICA E  
CARATTERIZZAZIONE DELLE  
PRESTAZIONI**

Relatore: Prof.ssa **Paola TARONI**

Tesi di Laurea di:

**Edoardo FEROCINO**

Matr: 817277

Anno Accademico 2014/2015



# Indice dei contenuti

<b>INDICE DEI CONTENUTI</b> .....	<b>III</b>
<b>INDICE DELLE FIGURE</b> .....	<b>V</b>
<b>INDICE DELLE TABELLE</b> .....	<b>XIII</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XV</b>
<b>INTRODUZIONE</b> .....	<b>XVII</b>
<b>CAPITOLO I IL TUMORE AL SENO: <i>IMAGING</i> CONVENZIONALE E <i>IMAGING</i> OTTICO PER LA DIAGNOSI, LA PREVISIONE E IL MONITORAGGIO DELLA TERAPIA</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Il tumore al seno</b> .....	<b>1</b>
1.1.1. Incidenza, mortalità e percorso clinico.....	1
1.1.2. La terapia neoadiuvante .....	3
1.1.3. Il ruolo del collagene.....	5
1.1.4. L'utilità delle immagini del seno .....	8
<b>1.2. Tecniche convenzionali di <i>imaging</i> della mammella</b> .....	<b>10</b>
1.2.1. La Mammografia a raggi X .....	10
1.2.2. L'Ecografia.....	12
1.2.3. La Risonanza Magnetica Nucleare.....	14
1.2.4. La Tomografia a Emissione di Positroni.....	15
<b>1.3. I principi dell'<i>imaging</i> ottico: la "<i>Diffuse Optics</i>"</b> .....	<b>17</b>
1.3.1. L' <i>imaging</i> ottico .....	17
1.3.2. Dall'equazione del trasporto all'equazione della diffusione.....	18
1.3.3. Soluzioni all'equazione della diffusione: il metodo di Green.....	23
1.3.4. Il problema diretto e il problema inverso.....	24
<b>1.4. Classificazione delle tecniche di <i>imaging</i> ottico</b> .....	<b>26</b>
<b>1.5. La tecnica di misura <i>Time Correlated Single Photon Counting</i></b> ...	<b>31</b>
<b>1.6. Dalle origini ad oggi: l'<i>imaging</i> ottico del seno</b> .....	<b>39</b>
1.6.1. Storia	39
1.6.2. Informazioni ottenibili dalla mammografia ottica.....	41
1.6.3. Risultati della mammografia ottica .....	45
<b>1.7. Stato dell'arte degli strumenti utilizzati in mammografia ottica</b>	<b>50</b>

<b>1.8. Altre applicazioni dell'<i>imaging</i> ottico .....</b>	<b>53</b>
<b>CAPITOLO II LO STRUMENTO PER LA MAMMOGRAFIA OTTICA: IL</b>	
<b><i>MAMMOT</i>.....</b>	<b>55</b>
<b>2.1. Evoluzione del sistema di mammografia ottica .....</b>	<b>55</b>
<b>2.2. Descrizione degli elementi innovativi .....</b>	<b>63</b>
2.2.1. Le sorgenti .....	63
2.2.2. Il rivelatore .....	71
2.2.3. Il sistema di acquisizione .....	83
2.2.4. Il sistema di movimentazione.....	93
<b>CAPITOLO III CARATTERIZZAZIONE DELLO STRUMENTO DI</b>	
<b>MAMMOGRAFIA OTTICA .....</b>	<b>97</b>
<b>3.1. Caratterizzazione del <i>Time-to-Digital Converter</i> .....</b>	<b>97</b>
3.1.1. La non linearità differenziale.....	97
3.1.2. Il <i>Refolding</i> .....	119
3.1.3. Il tempo morto di misura .....	126
3.1.4. Il processo di misura del <i>TDC</i> .....	130
<b>3.2. La movimentazione e la scansione .....</b>	<b>137</b>
<b>3.3. Il protocollo di misura .....</b>	<b>142</b>
<b>CAPITOLO IV PROVE DI VALIDAZIONE DELLO STRUMENTO DI</b>	
<b>MAMMOGRAFIA OTTICA .....</b>	<b>147</b>
<b>4.1. Effetti del <i>count rate</i> sui parametri ottici stimati.....</b>	<b>147</b>
<b>4.2. Il protocollo <i>MEDPHOT</i> .....</b>	<b>162</b>
<b>4.3. Acquisizione di immagini.....</b>	<b>187</b>
<b>4.4. La responsività del sistema di rivelazione.....</b>	<b>199</b>
<b>CONCLUSIONI .....</b>	<b>207</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>215</b>

## Indice delle figure

- Figura 1.1: Esempio di un'immagine ottenuta tramite mammografia a raggi X. A e B rappresentano due viste del seno precedentemente alla terapia, C e D a seguito della terapia. Le frecce indicano la posizione di un nodulo e la sua riduzione a seguito della terapia<sup>(8)</sup> ..... 12
- Figura 1.2: Esempio di un'immagine del seno ottenuta tramite ultrasuoni. Anche in questo caso si individua una lesione prima del trattamento A e dopo il trattamento B mostrando una buona risposta della paziente alla terapia. Da notare la capacità di dimensionamento della tecnica che stima le dimensioni della lesione come visibile negli angoli in basso a sinistra delle immagini<sup>(8)</sup> ..... 13
- Figura 1.3: Esempio di immagine ottenuta tramite Risonanza Magnetica. L'elevata risoluzione spaziale della tecnica permette di visualizzare i cambiamenti che avvengono nel seno a seguito del trattamento (B), rispetto al seno non ancora trattato (A) ..... 15
- Figura 1.4: Esempio di un'immagine ottenuta tramite la tecnica della PET in congiunzione a una tomografia computerizzata. Per l'importanza delle informazioni ottenibili, di carattere metabolico, la PET risulta una tecnica particolarmente interessante per la diagnostica. Il principale limite è tuttavia l'elevato costo<sup>(8)</sup> ..... 16
- Figura 1.5: Percorso di un singolo fotone all'interno del tessuto.  $k_j$  sono  $k_{j+1}$  i vettori d'onda prima e dopo il  $j$ -esimo evento di scattering.  $\theta_j$  è l'angolo di scattering del  $j$ -esimo evento<sup>(10)</sup> ..... 22
- Figura 1.6: Le frecce continue rappresentano le sorgenti, quelle tratteggiate i rivelatori. a) misura di topografia: per ogni livello di profondità  $Z$  si ottiene un'immagine bidimensionale b) misura di tomografia: si ottiene direttamente l'immagine 3D dell'intero volume<sup>(3)</sup> ..... 27
- Figura 1.7: A sinistra: schema della geometria di a) riflettanza e b) trasmittanza. A destra: rappresentazione del tipico volume investigato nelle due diverse geometrie<sup>(3; 10)</sup> 28
- Figura 1.8: Principio di misura e livello di contenuto informativo delle misure in continua, con sorgenti modulate in ampiezza e infine impulsate<sup>(10)</sup> ..... 30
- Figura 1.9: A sinistra. Principio della TCSPC: il processo di rivelazione produce la distribuzione dei fotoni nel tempo dopo numerosi impulsi di eccitazione. A destra: è mostrata la rivelazione al massimo di un fotone per periodo.<sup>(20)</sup> ..... 33
- Figura 1.10: Single Electron Response di diversi fotomoltiplicatori. Da notare la scala temporale di 1 ns/div: la minima larghezza della funzione è circa un ns<sup>(21)</sup> ..... 34
- Figura 1.11: Illustrazione della definizione della funzione TransitTime Spread. La variabilità dell'impulso prodotto dal detector determina la larghezza della TTS e la risoluzione di un sistema TCSPC<sup>(20)</sup> ..... 35
- Figura 1.12: Efficienza di alcune tecniche di rivelazione risolte in tempo<sup>(21)</sup> ..... 36

<i>Figura 1.13: Rappresentazione della distorsione dovuta all'eccessivo conteggio di fotoni early<sup>(22)</sup> .....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 1.14: Viene presentata la distorsione per pile up: gli eventi sul rivelatore sono talmente vicini che il segnale del secondo fotone inizia sulla coda del segnale relativo al primo fotone<sup>(23)</sup> .....</i>	<i>37</i>
<i>Figura 1.15: Spettro di assorbimento dei maggiori componenti tissutali su un'ampia finestra di lunghezze d'onda. Lo zoom mostra la 'finestra fisiologica' nel vicino infrarosso: qui l'assorbimento dei costituenti è relativamente ridotto<sup>(10)</sup> .....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 1.16: Spettro di assorbimento normalizzato dei principali responsabili dell'assorbimento nei tessuti: ossi e de-ossi emoglobina, acqua, lipidi e collagene<sup>(3)</sup> .....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 1.17: Spettro di assorbimento misurato in vivo da differenti tipi di seno: fibroso e adiposo<sup>(3)</sup> .....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 1.18: Spettro di scattering misurato in vivo da differenti tipi di seno: fibroso e adiposo<sup>(3)</sup> .....</i>	<i>44</i>
<i>Figura 1.19: Esempio di diversi tipi di mappe ottenibili da una misura di mammografia ottica. In ordine: mappa del contrasto di assorbimento a diverse lunghezze d'onda; mappa dei principali costituenti del seno; mappa dei conteggi nei late gate secondo la tecnica di Gated Intensity Imaging<sup>(12; 3)</sup> .....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 1.20: Esempio di modalità di misura con la paziente prona e il seno a contatto con un liquido di accoppiamento<sup>(14)</sup> .....</i>	<i>51</i>
<i>Figura 1.21: Strumento hand-held con un'unica coppia di sorgenti e rivelatori<sup>(24)</sup> .....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 2.1: Spettro di assorbimento normalizzato dei principali responsabili dell'assorbimento nei tessuti: ossi e de-ossi emoglobina, acqua, lipidi e collagene<sup>(3)</sup> .....</i>	<i>57</i>
<i>Figura 2.2: Struttura della versione attuale del mammografo ottico<sup>(27)</sup> .....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 2.3: Struttura della nuova versione del mammografo.....</i>	<i>61</i>
<i>Figura 2.4: Il sistema di mammografia ottica MAMMOT.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 2.5: a) Vista lato operatore del MAMMOT. 1) TDC 2) PC 3) Sistema di gestione movimentazione X,Y e attenuatori variabili 4) Case attenuatori variabili 5) Driver delle teste laser Sepia II b) Vista lato paziente: l'unità di compressione del seno. Il probe di raccolta in figura rappresenta già quello utilizzato nella attuale versione del mammografo. In quella precedente è sostituito da un bundle di fibre di raccolta.....</i>	<i>62</i>
<i>Figura 2.6: Driver di gestione delle teste laser, PDL-808 "Sepia", PicoQuant, Germania...</i>	<i>64</i>
<i>Figura 2.7: Struttura del PDL-808. Questo è composto di 8 alloggiamenti per i moduli driver e due alloggiamenti per i moduli trigger che producono i segnali di sincronismo da inviare ai primi.....</i>	<i>64</i>
<i>Figura 2.8: Output del modulo sequencer con tutti i driver attivati a sinistra. Ciascun impulso elettrico emesso dal sequencer attiva la generazione di un impulso di luce dalla sorgente laser gestita dal singolo driver. Output del modulo sequencer con solo 3 driver attivati a destra .....</i>	<i>65</i>

Figura 2.9: Spettro delle sorgenti utilizzate prima (linea tratteggiata) e dopo (linea continua) la riduzione della durata temporale degli impulsi. I valori nominali delle lunghezze d'onda delle sorgenti sono indicati con la linea tratteggiata rossa .....	67
Figura 2.10: Ingrandimenti dello spettro completo prima (linea tratteggiata) e dopo (linea continua) la riduzione della durata temporale degli impulsi. I valori nominali delle lunghezze d'onda delle sorgenti sono indicati con la linea tratteggiata rossa. ....	68
Figura 2.11: Variazione percentuale dei conteggi rispetto alla media per ciascuna lunghezza d'onda. Le linee rosse indicano la zona di variazione all'interno del 2% .....	70
Figura 2.12: Variazione percentuale della larghezza degli impulsi (FWHM) rispetto alla media per ciascuna lunghezza d'onda. Le linee rosse indicano la zona di variazione all'interno del 2% .....	70
Figura 2.13: Principio di funzionamento di un tubo fotomoltiplicatore .....	71
Figura 2.14: Sopra: sulla sinistra il fotocatodo del R5900U-01-L16 per la radiazione visibile, sulla destra il H7422P-60 per la radiazione infrarossa <sup>(38; 37)</sup> . Sotto, i due PMT con la fibra bundle di raccolta della luce in uscita dal seno. ....	73
Figura 2.15: Tipica caratteristica tensione corrente di un diodo.....	74
Figura 2.16: Struttura e principio operativo di un APD <sup>(36)</sup> .....	75
Figura 2.17: Schema elettrico del circuito di polarizzazione per lo spegnimento <sup>(40)</sup> .....	76
Figura 2.18: Struttura del singolo SiPM simile a quello utilizzato nel mammografo. Sono rappresentate 4 celle delle circa 400 presenti. La resistenza di spegnimento è integrata a lato della zona drogata p.....	76
Figura 2.19: Tipica IRF sulla quale sono evidenziate due zone di interesse (ROI). In queste zone è applicata una regressione esponenziale per calcolare le costanti di tempo del decadimento lento e di quello veloce. SiPM Hamamatsu Photonics <sup>(43)</sup> .....	78
Figura 2.20: Rappresentazione dell'effetto dell'elettronica di lettura del segnale proveniente dal SiPM. Gli impulsi prodotti hanno un rapido picco positivo seguito da uno lungo negativo (in nero). Se un altro fotone incide, produce un segnale (in blu) che si accavalla sulla parte negativa non ancora esaurita del precedente impulso: questo porta a una identificazione ritardata dell'arrivo del fotone stesso utilizzando una soglia fissa (tratteggio rosso). .....	79
Figura 2.21: L'input è un impulso generato dalla sorgente laser. La linea continua rappresenta la curva di distribuzione di fotoni all'uscita del tessuto rivelata tramite il SiPM, quella tratteggiata rossa è il caso in cui non fosse presente la coda caratteristica del SiPM stesso. Quest'ultima distorce la curva in una zona di interesse per ricavare informazioni sull'assorbimento del tessuto. ....	80
Figura 2.22: Ingrandimento del supporto, o probe, su cui sono montati gli otto SiPM utilizzati nel mammografo ottico. ....	82
Figura 2.23: Il supporto sul quale sono montati gli otto SiPM e che è solidale con il sistema di movimentazione.....	82
Figura 2.24: Architettura semplificata della scheda SPC-130 <sup>(21)</sup> .....	83
Figura 2.25: Discriminatore a soglia fissa a sinistra e discriminatore CFD a destra <sup>(21)</sup> .....	84

Figura 2.26: Principio di lavoro del TAC <sup>(22)</sup> .....	85
Figura 2.27: Diagramma temporale di una rivelazione di fotone e relativo tempo morto <sup>(21)</sup> .....	87
Figura 2.28: Count rate registrato dalla scheda con tempo morto $t_d$ rispetto al count rate reale di ingresso di un rivelatore <sup>(21)</sup> .....	88
Figura 2.29: Scheda SPC130 <sup>(21)</sup> .....	88
Figura 2.30: Schema e principio del TDC della Surface Concept <sup>(44)</sup> .....	89
Figura 2.31: Schema di misura del tempo di arrivo di un impulso di Stop all'interno del TDC: "Asynchronous Start" rappresenta il segnale di Start proveniente dal segnale di sincronismo del laser. "Start" il segnale del sincronismo interno. "hit time" è l'arrivo del segnale di Stop. Il dato in uscita contiene il numero della ripetizione dell'impulso interno di Start (Start#) e il tempo tra l'ultima ripetizione di questo e l'istante di "hit". "Start01" è il tempo che intercorre tra il segnale di Start esterno e la generazione di segnale interno di Start.....	90
Figura 2.32: Schema a blocchi del TDC utilizzato.....	91
Figura 2.33: TDC modello SC-TDC-1000/08 S della Surface Concept <sup>(44)</sup> .....	92
Figura 2.34: Vista dall'alto del sistema di movimentazione. Lungo l'asse X si eseguono movimenti in una direzione che è parallela al petto della paziente, mentre lungo l'asse Y i movimenti sono perpendicolari al petto della paziente. E' evidenziata inoltre la slitta di movimentazione che permette la traslazione lungo l'asse X.....	94
Figura 3.1: Ingrandimento di una curva di buio. In ascissa il numero di bin, in ordinata il numero di conteggi. Ogni punto rosso rappresenta il numero di conteggi che ricadono in quel preciso bin temporale. Si nota l'andamento oscillatorio dei conteggi dovuto alla DNL. ....	99
Figura 3.2: Variazione percentuale dei conteggi rispetto alla media a causa della DNL.	100
Figura 3.3: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta senza correzione della DNL. FWHM = 136,7 ps. L'andamento frastagliato è legato alla DNL e al diverso peso di ciascun bin. ....	100
Figura 3.4: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta con correzione della DNL secondo il met_1. FWHM = 360,7 ps. Il profilo liscio è legato alla compensazione della DNL .....	102
Figura 3.5: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta con correzione della DNL secondo il met_2. FWHM = 351,4 ps. Il profilo liscio è legato alla compensazione della DNL. .....	105
Figura 3.6: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta con correzione della DNL secondo il met_3. FWHM = 344,1 ps. A seguito della compensazione della DNL il profilo assume una leggera caratteristica a gradini.....	107
Figura 3.7: Spettro della curva di buio utilizzata per effettuare la correzione. Sono chiaramente visibili delle strutture periodiche a 6 GHz e inferiori.....	110
Figura 3.8: Zoom della curva di buio utilizzata per effettuare le correzioni della DNL. Si nota un comportamento oscillatorio sintomatico di una periodicità a bassa frequenza.....	111

<i>Figura 3.9: Spettro della curva di buio utilizzata per effettuare le correzioni della DNL in scala log-log. Sono evidenziate delle strutture rispettivamente a 0.23, 2 e 6 GHz.</i>	112
<i>Figura 3.10: Spettro della curva di buio da correggere. Sono evidenziate le strutture rispettivamente a 2 e 6 GHz.</i>	113
<i>Figura 3.11: Spettro della curva di buio corretta con il met_1. Si nota l'assenza delle strutture periodiche a bassa frequenza.</i>	114
<i>Figura 3.12: Curva di buio a seguito della correzione secondo il met_1: da notare la ridotta variazione percentuale dei conteggi.</i>	115
<i>Figura 3.13: Zoom della curva di buio corretta secondo il met_1. Non si osservano oscillazioni a bassa frequenza anche se l'andamento a zig-zag è ancora ben visibile</i>	115
<i>Figura 3.14: Spettro della curva di buio corretta con il met_2. Si nota la deformazione dello spettro ad alte frequenze e l'introduzione di alcune strutture periodiche alle stesse alte frequenze.</i>	116
<i>Figura 3.15: Spettro della curva di buio corretta con il met_3. È evidente la distorsione dello spettro e la presenza di alcuni picchi ad alta frequenza.</i>	117
<i>Figura 3.16: Spettro della curva di buio corretta con il met_3. Dimensione del bin lineare: 6 ps. La distorsione è ancora presente e le strutture a bassa frequenza assenti.</i>	118
<i>Figura 3.17: Schema di funzionamento della divisione di frequenza. Il rivelatore rivela i fotoni con un count rate pari a 10 MHz. Il TDC utilizza una frequenza di retrigger di 5 MHz: in questo modo, ogni 200 ns la scala temporale del TDC viene riazzerata ma all'interno di questo periodo lo strumento mantiene le corrette tempistiche di rivelazione dei fotoni. Infine lo strumento produce due repliche del segnale all'interno del periodo di retrigger.</i>	120
<i>Figura 3.18: Esempio di misura. Si osservano 15 repliche del segnale, pari al fattore di divisione utilizzato, all'interno del periodo di retrigger pari a 1500 ns. Frequenza di sincronismo: 10 MHz.</i>	121
<i>Figura 3.19: a) tre repliche del segnale che devono essere sovrapposte all'interno di un unico periodo di ripetizione del laser b) curva finale nel caso in cui l'asse dei tempi fosse continuo c) curva finale e tre repliche nel caso reale in cui l'asse dei tempi è discreta.</i>	123
<i>Figura 3.20: Curve finali. In ordine met_1, met_2 e met_3 rispettivamente : FWHM: 403 ps, 400 ps e 396.76 ps.</i>	125
<i>Figura 3.21: Andamento della FWHM delle repliche. In blu quelle della curva non corretta, in verde quelle della curva corretta</i>	126
<i>Figura 3.22: Differenza tra tempo di acquisizione e tempo di accumulo. All'interno di un periodo del segnale di retrigger, cadono un certo numero di eventi di Stop che sono memorizzati nella memoria FIFO assieme ai tempi di arrivo. Il tempo di accumulo definisce l'intervallo temporale per il quale si rilegge la memoria</i>	128
<i>Figura 3.23: Schema di riletture della memoria. 1) La memoria FIFO accumula dati per un tempo pari a quello di accumulo. 2-3) La pipe scorre la memoria riordinando i</i>	

tempi di arrivo, costruendo l'istogramma finale e 4) liberando la memoria FIFO che è quindi pronta per ricevere altri dati.....	130
Figura 3.24: Con la definizione della pipe si stabiliscono alcuni parametri importanti tra cui il tempo di accumulo e la lunghezza in canali dell'istogramma. Si può immaginare che questa fase di inizializzazione comporti una divisione della memoria FIFO in tanti segmenti di larghezza $T_{acc}$ . (segmenti rossi in figura) .Le celle in verde sono gli spazi di memoria liberi .....	132
Figura 3.25: Una volta passato il comando "sc_tdc_start_measure2", i dati relativi ai tempi di arrivo di fotoni cominciano a riempire la memoria FIFO (celle gialle). Le celle di memoria libere sono rappresentate in verde .....	133
Figura 3.26: Operazione di riletture della memoria FIFO di una quantità pari al tempo di accumulo. La pipe crea quindi l'istogramma e lo trasferisce al PC .....	134
Figura 3.27: Processo di svuotamento del buffer necessario per la terminazione della misura. Una volta inviato al TDC il comando di fine misura bisogna, infatti, procedere alla lettura degli istogrammi ancora presenti in memoria prima di poter proseguire con una nuova misura o con la de-inizializzazione dello strumento. .	136
Figura 3.28: La carta millimetrata è stata utilizzata per valutare la perdita di passi dei motori sia lungo X sia lungo Y .....	138
Figura 4.1: Disposizione di geometria di riflettanza utilizzata durante le misure di valutazione degli effetti di un alto count rate. ....	149
Figura 4.2: Andamento del coefficiente di assorbimento al variare del count rate di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso count rate.....	153
Figura 4.3: Modifica (amplificata) della porzione della coda che risulta osservabile al variare del count rate. Un maggior count rate può risultare in una maggiore visibilità della coda (lenta) che si traduce in una riduzione del coefficiente di assorbimento. T1 e T2 indicano le due costanti di tempo rispettivamente veloce e lenta.....	155
Figura 4.4: Andamento del coefficiente di diffusione al variare del count rate di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso count rate.....	156
Figura 4.5: Andamento del coefficiente di assorbimento al variare del count rate di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso count rate.....	158
Figura 4.6: Andamento del coefficiente di diffusione al variare del count rate di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso count rate.....	159
Figura 4.7: Grafici del coefficiente di assorbimento in funzione del coefficiente di diffusione. Per ogni punto sono mostrati i valori ottenuti utilizzando i diversi metodi di correzione della DNL oltre a quelli ottenuti senza aver eseguito nessuna correzione. ....	167
Figura 4.8: Grafici del coefficiente di diffusione in funzione del coefficiente di assorbimento. Per ogni punto sono mostrati i valori ottenuti utilizzando i diversi	

metodi di correzione della DNL oltre a quelli ottenuti senza aver effettuato nessuna correzione .....	169
Figura 4.9: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 10 Mhz. Count rate: 1%. .....	173
Figura 4.10: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 10 Mhz. Count rate: 10%. .....	174
Figura 4.11: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 40 Mhz. Count rate: 1%. .....	175
Figura 4.12: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 40 Mhz. Count rate: 10%. .....	176
Figura 4.13: Risultati protocollo MEDPHOT, sist. di acquisizione: SPC130 Frequenza del laser: 20 Mhz. Count rate: 2%.....	182
Figura 4.14: Risultati protocollo MEDPHOT, Frequenza del laser: 10 MHz. Count rate: 1% .....	184
Figura 4.15: Struttura del phantom "Hebden" utilizzato per una prima valutazione della capacità di ottenimento di un'immagine completa con la nuova versione del mammografo. ....	187
Figura 4.16: Sopra la configurazione di misura utilizzata. Sotto la struttura che alloggia il phantom e il nastro Teflon per la valutazione della risposta del sistema .....	189
Figura 4.17: Mappa dei conteggi integrati su tutta la curva per ogni punto di scansione. I colori più scuri della scala di rosa indicano un maggior assorbimento di fotoni..	190
Figura 4.18: Ingrandimento della mappa dei conteggi integrati. Con i punti rossi sono indicate le posizioni che rappresentano le periodicità individuate.....	191
Figura 4.19: Mappa del coefficiente di diffusione. ....	192
Figura 4.20: Mappa del coefficiente di assorbimento. ....	193
Figura 4.21: Curva di distribuzione dei fotoni in cui sono evidenziati i gate utilizzati.....	195
Figura 4.22: Mappe dei conteggi ottenuti negli early gate e nei late gate.....	196
Figura 4.23: Mappe dei conteggi ottenuti negli early gate e nei late gate utilizzando la scheda SPC130 come sistema di acquisizione e il PMT per la luce visibile come rivelatore.....	197
Figura 4.24: Andamento della responsività del sistema di rivelazione in funzione della lunghezza d'onda della sorgente utilizzata. Sono presentate 3 diverse configurazioni del sistema di rivelazione. ....	200
Figura 4.25: Efficienza di raccolta di fotoni del SiPM C30742-11 Excelitas.....	201
Figura 4.26: PDE del SiPM utilizzato misurata a 6 V di tensione in eccesso e una temperatura di 25°C. PDE del rivelatore basato sul SiPM C30742-11 Excelitas...	202
Figura 4.27: Sensibilità del catodo ed efficienza quantica del tubo fotomoltiplicatore R5900U-01-L16 a sinistra e del H7422-60 a destra .....	202



## Indice delle tabelle

<i>Tabella 2.1: Potenze delle singole teste laser prima e dopo l'ottimizzazione. Si riporta anche il rapporto tra le potenze per quantificarne la perdita. ....</i>	<i>67</i>
<i>Tabella 2.2: Larghezza a metà altezza dello spettro delle singole teste laser prima e dopo l'ottimizzazione. ....</i>	<i>69</i>
<i>Tabella 3.1: Valor medio del tempo morto (in ms) al variare del rapporto tempo acquisizione e tempo accumulo. ....</i>	<i>128</i>
<i>Tabella 3.2: Variazione (incremento) percentuale del tempo di misura al variare del rapporto tempo acquisizione e tempo accumulo ....</i>	<i>129</i>
<i>Tabella 3.3: Classificazione numerica utilizzata per la valutazione delle vibrazioni e del rumore della movimentazione. ....</i>	<i>138</i>
<i>Tabella 3.4: Risultati delle prove di caratterizzazione del motore passo-passo lungo l'asse X ....</i>	<i>139</i>
<i>Tabella 3.5: Risultati delle prove di caratterizzazione del motore passo-passo lungo l'asse Y ....</i>	<i>140</i>
<i>Tabella 4.1: Valore di <math>\mu\alpha</math> e <math>\mu s'</math> utilizzando TDC e la scheda SPC130 al variare del count rate misurato come percentuale della frequenza del laser. <math>\mu\alpha</math> e <math>\mu s'</math> hanno unità di misura <math>cm^{-1}</math> ....</i>	<i>151</i>
<i>Tabella 4.2: Valore di <math>\mu\alpha</math> e <math>\mu s'</math> utilizzando TDC e la scheda SPC130 al variare del count rate misurato come percentuale della frequenza del laser. <math>\mu\alpha</math> e <math>\mu s'</math> hanno unità di misura <math>cm^{-1}</math> ....</i>	<i>152</i>
<i>Tabella 4.3: Frequenza del laser: 10 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di assorbimento valutato sul range completo di count rate e sull'intervallo in comune tra TDC e SPC130.....</i>	<i>156</i>
<i>Tabella 4.4: Frequenza del laser: 10 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di diffusione valutato sul range completo di count rate e sull'intervallo in comune tra TDC e SPC130 ....</i>	<i>157</i>
<i>Tabella 4.5: Frequenza del laser: 40 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di assorbimento valutato sul range completo di count rate e sull'intervallo in comune tra TDC e SPC130.....</i>	<i>159</i>
<i>Tabella 4.6: Frequenza del laser: 10 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di diffusione valutato sul range completo di count rate e sull'intervallo in comune tra TDC e SPC130 ....</i>	<i>160</i>
<i>Tabella 4.7: Variazione percentuale del coefficiente di assorbimento nelle varie configurazioni valutato nel range 3%-15%.....</i>	<i>161</i>
<i>Tabella 4.8: Variazione percentuale del coefficiente di diffusione nelle varie configurazioni valutato nel range 3%-15%.....</i>	<i>161</i>

<i>Tabella 4.9: Struttura e ordine delle misure eseguite per il protocollo MEDPHOT. I numeri indicano l'ordine con cui sono state eseguite le misure, le lettere l'ordine con cui è stato valutato il count rate.....</i>	<i>165</i>
<i>Tabella 4.10: Variazioni massime percentuali rispetto alla media del coefficiente di assorbimento e di diffusione ottenuti con i diversi metodi di correzione e nelle varie condizioni sperimentate .....</i>	<i>170</i>
<i>Tabella 4.11: Guadagno di responsività ottenuto passando alla configurazione "8 Canali SiPM" partendo da quella "PMT".....</i>	<i>203</i>
<i>Tabella 4.12: Valore del guadagno complessivo ottenuto considerando la riduzione di potenza introdotta e l'aumento di responsività del sistema.....</i>	<i>205</i>

La mammografia ottica si è mostrata di grande interesse come tecnica complementare alla mammografia a raggi X per la capacità di fornire informazioni funzionali che favoriscono una valutazione precoce delle condizioni del tumore al seno e per l'impiego di sorgenti non dannose per il tessuto. Il mammografo ottico sviluppato presso il Dipartimento di Fisica è un sistema che lavora nel dominio del tempo a 7 lunghezze d'onda (637-1060 nm) e permette di ottenere informazioni sulla composizione del seno.

Nel lavoro di tesi sono stati introdotti e caratterizzati vari elementi innovativi per migliorare il livello di segnale e quindi la qualità dell'informazione ottenuta. Il sistema di acquisizione, una scheda per *Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC)*, è sostituita da un sistema digitale, un *Time-to-Digital Converter (TDC)* nel quale è stata individuata una non linearità dell'asse dei tempi e per la quale sono stati proposti 3 metodi di correzione. Si è individuata una configurazione del *TDC* per ridurre il tempo morto associato a una misura raggiungendo valori inferiori all'1%.

I tubi fotomoltiplicatori (*PMT*) usati come rivelatori sono stati sostituiti da un insieme di 8 *Silicon Photomultiplier (SiPM)*.

È stato eseguito un protocollo per la valutazione delle prestazioni del sistema (protocollo *MEDPHOT*) ottenendo risultati di linearità e accuratezza in linea rispetto al sistema precedente. Una valutazione della responsività del nuovo sistema di rivelazione formato dai *SiPM* e il *TDC* mostra un guadagno maggiore fino a un fattore 980 a 1060 nm rispetto alla precedente configurazione, permettendo in particolare una più accurata valutazione del contenuto di collagene. Sono stati investigati *count rate* di misura fino al 50% della frequenza del laser con la scheda per *TCSPC* e con il *TDC* mostrando come quest'ultimo sia meno affetto dai limiti e dalle distorsioni di segnale tipici delle schede analogiche per *TCSPC*. È stata infine acquisita un'immagine di un *phantom* valutando positivamente la capacità del sistema di individuare inclusioni dal carattere assorbente e diffondente all'interno di un mezzo diffusivo anche tramite la tecnica *Gated Intensity Imaging*.



# Introduzione

Negli ultimi decenni la medicina oncologica ha raggiunto importanti traguardi nel campo della prevenzione, della diagnosi e della terapia delle neoplasie grazie anche a innovazioni tecnologiche e studi intensivi sulla fisiologia dei tumori.

Un tipo di lesione di particolare interesse per la sua elevata diffusione è il tumore al seno. Questa neoplasia colpisce in media una donna su otto<sup>(1)</sup> ed è il tumore più frequente nel genere femminile. Rappresenta, infatti, il 29% di tutti i tumori che colpiscono le donne e, con un tasso di mortalità di circa il 30% è la prima causa di decesso per tumore nelle donne<sup>(2)</sup>. La possibilità di eseguire una diagnosi precoce con un alto livello di confidenza è quindi di vitale importanza poiché permetterebbe risparmi in termini di vite umane innanzitutto e in costi del servizio sanitario; consentirebbe inoltre di preservare il più possibile la qualità della vita della paziente effettuando una chirurgia conservativa.

Attualmente l'emissione di una diagnosi è legata principalmente a tecniche di *imaging*, cioè quel tipo di tecniche che permettono di ottenere immagini del seno tramite le quali è possibile individuare delle lesioni e specificarne la natura. La tecnica di *imaging* più diffusa nell'ambito clinico è la mammografia a raggi X: questa tuttavia possiede dei limiti in termini di sensibilità, soprattutto per seni considerati densi ai raggi X, e nella frequenza con la quale si può effettuare questo tipo di indagine che utilizza radiazioni ionizzanti<sup>(3)</sup>.

Nell'ultimo decennio la mammografia ottica si è presentata come un'interessante tecnica complementare alle più convenzionali tecniche di *imaging*. Con questo termine si indica una particolare tecnica di mammografia che utilizza in genere delle sorgenti laser nella finestra spettrale dal rosso al vicino infrarosso ( $700\text{ nm} - 1000\text{ nm}$ ) per eseguire delle misure spettroscopiche dalla cui analisi è possibile ricavare, nel caso che si prende in considerazione, la composizione del seno in termini dei suoi principali componenti o in alternativa i valori dei parametri ottici di assorbimento e diffusione del tessuto.

L'interesse che si è sviluppato per la mammografia ottica è legato alla sua caratteristica di utilizzare delle sorgenti per nulla dannose per il tessuto del seno e quindi alla possibilità di ripetere le analisi senza particolari limiti. Inoltre è una tecnica non

invasiva e tipicamente a basso costo se paragonata ad altre tecniche di *imaging* più convenzionali come ad esempio la risonanza magnetica nucleare e le informazioni ottenibili possono essere utilizzate per rivelare quei cambiamenti metabolici all'interno del seno che avvengono prima dei cambiamenti morfologici migliorando quindi la possibilità di una diagnosi precoce.

Negli ultimi anni, la mammografia ottica ha dato prova di essere una tecnica di estremo interesse in particolare per il monitoraggio degli effetti della terapia neoadiuvante che è assegnata alla paziente. Con questo termine si intendono dei cicli di chemioterapia o radioterapia che sono svolti prima dell'(eventuale) intervento chirurgico con il principale scopo di ridurre la dimensione della massa tumorale per favorire la possibilità di una chirurgia conservativa. In quest'ambito in particolare, la mammografia ottica, ha mostrato di poter prevedere la responsività della paziente alla terapia neoadiuvante già nella fase iniziale del trattamento.

Questi sono i motivi che hanno spinto il gruppo di ricerca del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano a progettare, sviluppare e realizzare un proprio sistema di mammografia ottica. Nel corso degli anni il gruppo si è occupato della caratterizzazione dello strumento e della sua validazione anche tramite percorsi di *trial* clinici. I risultati ottenuti a seguito di questi processi di caratterizzazione e validazione hanno portato all'introduzione di modifiche e aggiornamenti dello strumento mirate al continuo miglioramento delle prestazioni ottenibili. Il mammografo ottico permette di ottenere delle immagini del seno (leggermente compresso) in proiezione, in una maniera analoga a quanto accade nella più classica mammografia a raggi X, a 7 diverse lunghezze d'onda che vanno dal visibile (637 nm) al vicino infrarosso (1060 nm) dalle quali è possibile ricostruire la composizione del tessuto.

In particolare, il lavoro di tesi svolto si è concentrato sulla modifica del sistema di rivelazione e di acquisizione e quindi sulla caratterizzazione e validazione delle più recenti innovazioni introdotte nel mammografo ottico. Uno dei principali motivi che ha portato all'introduzione di alcuni elementi innovativi riguarda la possibilità di aumentare la quantità di luce trasmessa attraverso la mammella: questo garantirebbe una maggiore affidabilità dei risultati ottenuti e la capacità di eseguire misure su seni che, seppur compressi, restano spessi causando così una forte attenuazione del segnale che impedisce di effettuare correttamente le analisi. Si vuole raggiungere, in particolare, un

guadagno per la radiazione alla lunghezza d'onda di 1060 nm che permette di ottenere informazioni riguardo a un componente del seno che, ultimamente, ha mostrato la sua importanza nella previsione del rischio di sviluppo del tumore al seno e nella discriminazione della natura della lesione. Il componente in questione è il collagene.

Si vuole quindi verificare in via preliminare se le modifiche apportate non impediscano la gestione contemporanea del sistema di acquisizione dei dati e del sistema di movimentazione che è utilizzato per eseguire una scansione del seno. Si vuole inoltre valutare se le stesse modifiche realizzano un miglioramento delle prestazioni in termini di accuratezza di stima dei parametri ottici e linearità del sistema complessivo. Infine si vuole verificare se i cambiamenti introdotti abbiano portato a un aumento della sensibilità dello strumento.

L'elaborato di tesi è organizzato in quattro differenti capitoli.

- I. Il primo capitolo contiene un'introduzione generale del tumore al seno e di un particolare tipo di terapia, nota come terapia neoadiuvante, che negli ultimi anni ha incominciato a imporsi. Questa è una chemioterapia o radioterapia da eseguire prima dell'intervento chirurgico mirata alla riduzione della massa tumorale in favore di una chirurgia conservativa. Si presentano poi le principali tecniche di *imaging* convenzionali per l'ottenimento di un'immagine del seno mostrando i vantaggi e gli svantaggi di ciascuna. A seguito di questa discussione si propone un'alternativa, rappresentata dall'*imaging* ottico. Se ne descrivono quindi i principi teorici, seguiti da una classificazione delle principali tecniche utilizzate. In particolare poi si pone l'attenzione sull'*imaging* ottico del seno, analizzandone l'evoluzione nel corso degli anni, mostrando il tipo di informazioni che si possono ottenere e infine elencando i principali risultati che sono stati ottenuti tramite questa tecnica. Per concludere si descrive il panorama dello stato dell'arte degli strumenti di mammografia ottica e si elencano altre applicazioni dell'*imaging* ottico.
- II. Nel secondo capitolo si presenta e si descrive in dettaglio lo strumento di mammografia ottica sviluppato presso il Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano. Sono poi elencati e descritti gli elementi innovativi che sono stati inseriti nello strumento e per ciascuno è riportata anche una presentazione del corrispondente elemento che è stato sostituito. In particolare i cambiamenti più importanti si hanno nella rivelazione della luce e nel sistema di acquisizione dei

segnali prodotti dai rivelatori. Alcuni aggiornamenti sono stati eseguiti sul sistema di gestione delle sorgenti laser e sul sistema di movimentazione che permette di eseguire una scansione del seno.

- III.** Il capitolo tre contiene una caratterizzazione dello strumento, in particolare per quanto riguarda il sistema di acquisizione e il sistema di movimentazione terminando poi con una presentazione del protocollo di misura utilizzato. Per quanto riguarda il sistema di acquisizione, sono presentate due principali problematiche affrontate: la non linearità della scala dei tempi e il tempo morto di misura. Per compensare la non linearità osservata, sono stati proposti tre differenti metodi di correzione i cui effetti sulla curva di distribuzione dei fotoni sono stati confrontati anche tramite un'analisi spettrale. Con il termine tempo morto si intende il tempo in eccesso rispetto al valore nominale del tempo di acquisizione, che è necessario allo strumento per completare una misura. Si sono ricercate quindi quelle impostazioni del sistema di acquisizione che garantiscono un valore trascurabile di questo tempo morto. E' stato inoltre caratterizzato il sistema di movimentazione valutando i contributi di stabilità, rumorosità e vibrazioni da parte motori individuando quindi le velocità di spostamento ottimali.
- IV.** Il quarto capitolo contiene la descrizione e i risultati delle prove che sono state eseguite per valutare le prestazioni ottenibili dal sistema. Una di queste prove è stata un protocollo di validazione (noto come protocollo *MEDPHOT*) mirato a valutare l'accuratezza e la linearità del sistema. E' stata eseguita inoltre una prova di acquisizione di un'immagine preliminare di un fantoccio usato per il controllo delle prestazioni dello strumento durante i *trial* clinici e le misure *in vivo*. La prova è mirata all'ottenimento di un'immagine del fantoccio stesso, permettendo così un'ulteriore validazione dei risultati ottenibili oltre che una verifica della possibilità di gestire contemporaneamente le problematiche incontrate nel capitolo III. Infine si valuta l'effettiva capacità complessiva di rivelazione del sistema utilizzato, calcolando la figura di merito nota come responsività del sistema di rivelazione dalla quale è possibile quantificare il guadagno di segnale ottenuto a ciascuna lunghezza d'onda.

Nelle Conclusioni, si riassumono i risultati ottenuti, accompagnati da una valutazione del raggiungimento dello scopo con proposte mirate alle future evoluzioni per lo strumento di mammografia ottica.

## Capitolo I

# Il tumore al seno: *imaging* convenzionale e *imaging* ottico per la diagnosi, la previsione e il monitoraggio della terapia

In questo capitolo è proposta un'introduzione al tumore al seno assieme alle principali tecniche di *imaging* convenzionale che vengono utilizzate nella realtà clinica. Segue poi una discussione teorica sui principi dell'*imaging* ottico e sono illustrati i risultati ottenuti nel campo della mammografia ottica. Si termina con una descrizione dello stato dell'arte della strumentazione e infine alcuni accenni ad altre applicazioni dell'*imaging* ottico.

### 1.1. Il tumore al seno

#### 1.1.1. Incidenza, mortalità e percorso clinico

Nel corso degli ultimi decenni la medicina oncologica ha ottenuto notevoli risultati nella lotta contro il tumore nel campo della prevenzione, della diagnosi e in quello della terapia: università e istituti di ricerca lavorano costantemente alla realizzazione di strumenti diagnostici ad alta sensibilità e specificità in modo da ridurre il numero di falsi positivi e falsi negativi e ottenere così delle diagnosi sicure. Con il termine specificità in medicina, si indica la capacità di un test di dare un risultato normale ("negativo") nei soggetti negativi (non malati) mentre la sensibilità rappresenta la capacità di un test di dare un risultato anormale ("positivo") nei soggetti positivi (malati). Invece i termini falsi positivi e falsi negativi, riferiti ai risultati di un test, indicano rispettivamente dei risultati erroneamente anormali ed erroneamente normali: erroneamente poiché sono in seguito smentiti e capovolti da nuove analisi.

Lo sforzo del personale coinvolto nella ricerca non si limita solo a progettare nuovi strumenti diagnostici ma anche strumenti che rendano gli interventi chirurgici sempre meno invasivi, affiancati da nuove tipologie di farmaci sempre più mirati ai singoli tipi di tumore. In particolare, la lotta al tumore al seno si è intensificata negli ultimi anni grazie anche a campagne di sensibilizzazione della popolazione e *screening* delle donne nella fascia d'età più colpita permettendo così un'individuazione precoce di eventuali forme patologiche.

Tuttavia, ancora oggi il tumore al seno rappresenta uno dei più frequenti tipi di neoplasia e una delle maggiori cause di morte per tumore tra le donne. Nel 2008 più di 400.000 donne in Europa hanno ricevuto una diagnosi di tumore al seno e di queste quasi 130.000 sono decedute; negli Stati Uniti, nello stesso anno, una donna ogni otto ha sviluppato un tumore al seno e si sono stimati 1.4 milioni di casi con 460.000 decessi. I numeri indicano una mortalità media del 30%, anche se la probabilità di sopravvivenza dipende fortemente dallo stadio del tumore al momento della diagnosi: se il tumore è localizzato, cioè non sono presenti metastasi, si riporta in letteratura un tasso di sopravvivenza entro cinque anni pari al 98%, valore che scende all'84% se il tumore si è già diffuso nei linfonodi limitrofi. Il tasso di sopravvivenza scende ulteriormente fino al 23% se il tumore coinvolge altri distretti corporei<sup>(2)</sup>. Si può quindi facilmente comprendere come la diagnosi precoce assieme ad una conseguente terapia sia di estrema importanza e si possa tradurre direttamente in una riduzione della mortalità: anche un piccolo miglioramento nella capacità di diagnosi e nella terapia più efficace può avere un enorme impatto in termini di vite salvate e qualità della vita della paziente. Quando, infatti, si rende necessario un intervento chirurgico di asportazione della mammella, detto mastectomia, è inevitabile che la qualità della vita ne risenta se si considera una serie di fattori tra i quali quelli psicologici ed estetici. Una diagnosi sempre più precoce potrebbe quindi limitare le conseguenze di un intervento demolitivo e mitigarne gli effetti. Per questi motivi molti paesi ad esempio Regno Unito, Italia e Australia offrono programmi di *screening* alle donne nella fascia d'età a rischio, tipicamente tra i cinquanta e i settanta anni<sup>(3)</sup>.

A oggi, il processo attraverso il quale è emessa una diagnosi di tumore al seno può essere suddiviso in due parti: la prima di queste è l'ottenimento di un'immagine del seno attraverso la quale il personale medico cerca di comprendere la natura di un'eventuale

lesione e soprattutto di valutarne l'estensione e la posizione; la seconda parte consiste nell'eseguire una biopsia del tessuto per accertare la tipologia di lesione individuata. Una volta stabilita la natura della lesione è affidato alla paziente un percorso terapeutico che dipende molto dallo stadio di avanzamento del tumore al momento della diagnosi: una possibilità è di procedere direttamente con un intervento chirurgico mirato all'eradicazione del tumore e in seguito eseguire cicli di chemioterapia con lo scopo di mitigare l'insorgenza di metastasi o di recidive. Un altro percorso che ultimamente è considerato è quello che prevede la somministrazione di chemioterapia a cicli o una terapia ormonale: questo trattamento, somministrato prima di un eventuale intervento chirurgico, è denominato terapia neoadiuvante. Segue poi una valutazione della risposta della paziente a tale terapia e in base a questa è tracciato il successivo trattamento. Alcune delle pazienti che hanno una risposta positiva alla terapia neoadiuvante, mostrando una riduzione della massa tumorale ad esempio, possono in alcuni casi essere esonerate dal trattamento chirurgico oppure proseguire un trattamento chemioterapico o radioterapico per ridurre ulteriormente la massa tumorale. Le pazienti considerate non responsive in genere invece andranno incontro a un trattamento di tipo chirurgico<sup>(2)</sup>.

L'efficacia di tali terapie varia a seconda delle pazienti presumibilmente per via della eterogeneità nella biologia del tumore. Molti gruppi di ricerca stanno cercando di identificare l'origine fisiologica<sup>1</sup> di questa eterogeneità e di sviluppare di conseguenza nuovi tipi di farmaci che agiscano su diverse molecole, in modo da poter fornire una terapia mirata alla paziente che sia il più efficace possibile. Molto utile sarebbe riuscire a individuare dei parametri indipendenti che permettano di predire l'efficacia terapeutica su ciascuna paziente; purtroppo però al momento non esistono metodi ufficialmente accettati che predicano l'efficacia di una data terapia.

### **1.1.2. La terapia neoadiuvante**

Tuttavia un elemento dell'attuale percorso terapeutico potrebbe aprire alla

---

<sup>1</sup> La fisiologia è la branca della biologia che studia il funzionamento degli organismi viventi e, in particolare, le modalità attraverso le quali il corpo riesce a mantenere la stabilità dell'ambiente interno.

possibilità d'individuazione di un parametro che sia un fattore indipendente di previsione di sopravvivenza: si tratta della già citata chemioterapia neoadiuvante o pre-chirurgica. Quest'ultima consiste in uno o più cicli di chemioterapia da eseguire prima dell'intervento chirurgico e ha come scopo principale quello di ridurre le dimensioni del tumore in modo da renderlo operabile.

La chemioterapia neoadiuvante fu sviluppata alla fine degli anni 70 per trattare una particolare classe di tumori al seno, i *Locally Advanced Breast Cancer (LABC)*, cioè lesioni più grandi di 5 cm o tumori che si sono estesi fino alle pareti del petto, alla pelle del seno o ai linfonodi ma non ad altri organi. Prima dell'introduzione della chemioterapia neoadiuvante, la mastectomia era la procedura ordinaria per trattare i *LABC* ma il tasso di recidive locali era pari al 50% e il tasso di sopravvivenza a cinque anni era solo del 2%. L'introduzione della radioterapia post chirurgica incrementò il tasso di sopravvivenza fino al 25-45% e ridusse il tasso di recidive al 35-45% ma nel complesso i risultati a lungo termine rimasero insoddisfacenti. Un miglioramento fu finalmente osservato proprio con l'introduzione della terapia chemioterapica o ormonale, o entrambe, somministrata prima dell'intervento chirurgico che ha permesso di ridurre il tasso di recidive locali fino al 20% senza compromettere i tassi di sopravvivenza a lungo termine. Nei primi tempi in cui si stava ancora valutando l'effetto della chemioterapia neoadiuvante, infatti, s'ipotizzò che tale trattamento potesse far aumentare la probabilità di sopravvivenza rispetto alla classica chemioterapia post chirurgica ma studi più mirati indicarono piuttosto un'equivalenza in termini di probabilità di sopravvivenza tra i due trattamenti. Da questi studi emerse però un vantaggio della chemioterapia neoadiuvante: quello di permettere alle pazienti di sottoporsi a un'operazione chirurgica che preservi il più possibile l'integrità del seno poiché la dimensione della massa tumorale si è ridotta per effetto del trattamento. Tutto ciò si traduceva in una migliore qualità della vita delle pazienti. Sulla scorta di questi risultati i medici si sono orientati a prescrivere la chemioterapia neoadiuvante anche a pazienti con tumori meno gravi dei *LABC* volta a favorire una chirurgia meno invasiva<sup>(4)</sup>.

Esiste un altro vantaggio della terapia neoadiuvante che la rende di particolare interesse soprattutto per la previsione della sopravvivenza della paziente: gli studi hanno dimostrato quanto una completa risposta patologica al trattamento neoadiuvante, detta *Pathologic Complete Response (pCR)* e definita come assenza di tessuto tumorale nel

campione del seno ottenuto per biopsia e dei linfonodi dopo il trattamento, sia un fattore predittivo indipendente per la sopravvivenza della paziente. La determinazione dello stato di *pCR* permette quindi una più veloce valutazione dell'efficacia della terapia rispetto al più classico periodo di 5 anni di attesa dopo l'intervento chirurgico.

Quest'ultima caratteristica del trattamento neoadiuvante è estremamente utile: infatti l'ottimizzazione della terapia, paziente per paziente, in termini di dosaggio, tempistica e combinazione con le terapie convenzionali diventa possibile con dei metodi pratici di previsione della risposta alla terapia stessa. E' del tutto evidente che l'ottimizzazione della terapia abbia dei vantaggi, quali l'aumento del tasso di sopravvivenza e una migliore qualità di vita. Ad esempio, nel caso di pazienti che non rispondono al trattamento, si possono interrompere delle terapie inefficaci, costose e che comportano forti effetti collaterali. Nel caso di pazienti che rispondono parzialmente, il monitoraggio della risposta alla terapia può aiutare il medico a modificare e personalizzare i trattamenti in modo da migliorare gli effetti terapeutici e i tassi di sopravvivenza. Non solo, la possibilità di testare in maniera molto più rapida l'effetto della terapia in atto, consentirebbe di valutare l'efficacia di un particolare farmaco ed escluderlo nel caso non si ritenesse efficace nel trattamento tumorale. Tutto ciò tenderebbe ad accelerare notevolmente i tempi di studio e rilascio di nuovi farmaci <sup>(2)</sup>.

Attualmente la terapia neoadiuvante per via dei vantaggi riscontrati, è raccomandata e somministrata non solo per i *LABC* ma anche per tutte le lesioni operabili diventando così di diritto parte integrante del percorso terapeutico.

### **1.1.3. Il ruolo del collagene**

Si è detto nel capitolo precedente che tramite la valutazione della risposta della paziente alla chemioterapia neoadiuvante si riesce a stabilire la probabilità di sopravvivenza della paziente stessa. Questa informazione esprime tutta la sua importanza durante il percorso terapeutico, quindi a seguito dell'emissione di una diagnosi. Negli ultimi anni, tuttavia, numerosi studi si sono focalizzati su ciò che avviene all'interno del seno molto prima che sia emessa una diagnosi e in particolare si è cercato

di dare una risposta a una domanda fondamentale: è possibile individuare dei parametri che aiutino a predire la probabilità di sviluppare un tumore al seno?

Una risposta affermativa a una tale domanda porterebbe enormi vantaggi nell'ambito della prevenzione, poiché si riuscirebbe a individuare i soggetti a più alto rischio di sviluppare un tumore al seno e si potrebbe procedere quindi con un percorso di controllo mirato e, alla prima anomalia riscontrata, iniziare tempestivamente la terapia del caso. Non solo, se si riuscisse a individuare un fattore predittivo del rischio che fosse indipendente dall'età della paziente si potrebbero iniziare a effettuare controlli mirati ben prima della attuale soglia d'età dei cinquanta anni evitando così di far sviluppare eventuali lesioni nel corso degli anni accorgendosi solamente ai controlli di *screening* o comunque con ritardo.

Fortunatamente gli studi hanno avuto buon esito e i risultati hanno dimostrato come un particolare componente del tessuto del seno abbia un ruolo essenziale nella previsione dello sviluppo del tumore al seno: il componente in questione è il collagene, uno dei maggiori costituenti del tessuto connettivo<sup>2</sup>. All'interno della definizione di collagene rientrano almeno 28 specie di proteine geneticamente differenti e alcune di queste possono essere degli indicatori della propensione allo sviluppo del tumore e allo stesso tempo indicatori della natura del tumore stesso, cioè se questo sia benigno o maligno.

Già dagli anni ottanta era stato dimostrato come sia nello stadio pre-neoplastico, sia nello stadio di crescita invasiva del tumore avvengono delle alterazioni morfologiche nello stroma<sup>3</sup> del seno. Queste alterazioni sono tipicamente caratterizzate da un'eccessiva deposizione di tessuto denso fibroso il quale contiene dei componenti della matrice extracellulare<sup>4</sup> che sono composti ex-novo tra cui principalmente collagene. Si ipotizzò inoltre che delle molecole presenti nella matrice extracellulare tra cui appunto collagene e derivati potessero contribuire ad almeno un aspetto della malignità finale

---

<sup>2</sup> Tessuto connettivo: tipo di tessuto con una funzione principalmente strutturale e di connessione tra organi.

<sup>3</sup> Stroma: parte di un tessuto o di un organo che ha un ruolo connettivo e strutturale, composto principalmente di tessuto connettivo fibroso a sua volta formato per la maggior parte da fibre di collagene.

<sup>4</sup> Matrice extracellulare: è un insieme di molecole site al di fuori delle cellule, ma prodotte da queste, con la funzione di supporto strutturale e biochimico alle cellule circostanti

delle cellule tumorali. In effetti, degli studi riguardanti il *Ductal Infiltrating Carcinoma (DIC)* del seno, una particolare forma di lesione maligna, indicarono la presenza di un'eccessiva deposizione di collagene di tipo I e di tipo III localizzata sul fronte di invasione del tumore. Inoltre, dalle biopsie di questo tessuto tumorale emerse un incremento in contenuto di collagene di tipo V fino al 10% di tutto il collagene, mentre nel normale tessuto del seno non supera l'1%. Inoltre fu riportata la presenza di una nuova specie di collagene, chiamata OF/LB, una variante del tipo I che rappresentava il 40-50% della totalità del collagene. Queste particolari modifiche della composizione dello stroma non furono osservate in altri tipi di lesioni non tumorali come la *mastopatia fibrocistica*, rappresentando così una caratteristica tipica legata allo sviluppo del *DIC*.

Studi più recenti hanno focalizzato la loro attenzione sull'identificazione dei così detti *Tumour-Associated Collagen Signatures (TACS)*, cioè particolari geometrie di disposizione delle fibre di collagene attorno al tumore che permettono di predire la probabilità di recidività della neoplasia al seno e il tasso di sopravvivenza nelle pazienti. Inoltre, basandosi sulla disposizione delle fibre di collagene, si possono calcolare delle grandezze, quali il rapporto tra anisotropia e isotropia, che stimano il numero di aree con fibre allineate o disposte casualmente e permettono di differenziare lesioni maligne da altre patologie del seno. Alcuni derivati del collagene IX infine permettono di valutare la possibilità della produzione di metastasi da parte del tumore basandosi sulla capacità contenitiva del tessuto fibroso o meno, mentre il collagene di tipo VI stimola la proliferazione delle cellule cancerose<sup>(5)</sup>.

Gli studi hanno quindi dimostrato come la presenza di alcune particolari specie di collagene, la loro disposizione e la loro abbondanza sia associata con un elevato rischio di sviluppare il tumore al seno. Tuttavia molti degli studi sono stati eseguiti *in vitro*, cioè praticando delle analisi microscopiche su campioni di collagene ottenuti in vari modi in un ambiente protetto qual è un laboratorio di analisi. Considerata l'importanza e il ruolo del collagene, una forte spinta che negli ultimi anni sta muovendo i gruppi di ricerca è di riuscire a effettuare la misurazione del collagene anche *in vivo* senza l'utilizzo di complesse tecniche di analisi: questo permetterebbe di accedere a una serie di informazioni che come mostrato potrebbe migliorare i processi di diagnosi e *screening*.

Esiste un altro parametro importante per la valutazione del rischio che rappresenta tra l'altro una misura indiretta della presenza di collagene: la densità mammografica del

seno. Questa è riconosciuta come un fattore di rischio forte e indipendente per lo sviluppo del tumore al seno <sup>(6)</sup>: un'alta densità del seno infatti comporta un aumento del rischio dalle 4 alle 6 volte maggiore rispetto a un seno a bassa densità <sup>(7)</sup>. Inoltre, una riduzione della densità del seno durante il corso della terapia aiuta a predire la completa risposta patologica alla terapia neoadiuvante.

La densità mammografica del seno è una misura *in vivo* dell'estensione del tessuto fibrogliandolare radiodenso presente nel seno: riflette la composizione in termini di acqua, grasso, stroma, composto in buona parte da collagene, e tessuto epiteliale. Basandosi sulla definizione, la densità è tipicamente valutata attraverso un'analisi qualitativa e quantitativa, calcolando la densità percentuale, di una mammografia a raggi X visualizzata da un esperto radiologo ed è spesso classificata tramite 4 categorie *Breast Imaging and Reporting Data System (BI-RADS)*: 1) quasi interamente lipidico 2) sparsi agglomerati fibrosi 3) eterogeneamente denso 4) estremamente denso. Questa valutazione è effettuata molto spesso per la prima volta durante i controlli di *screening* della popolazione quindi su donne attorno ai 50 anni di età: sarebbe quindi un enorme vantaggio riuscire a seguire con più attenzione e più precocemente le pazienti con un noto alto tasso di rischio <sup>(1)</sup>.

#### **1.1.4. L'utilità delle immagini del seno**

Durante tutte le fasi di diagnosi e di somministrazione della terapia ha un ruolo fondamentale la possibilità di osservare la struttura e la morfologia del seno tramite delle immagini. Per quanto riguarda la fase di diagnosi, infatti, l'ottenimento d'immagini del seno, il così detto *imaging* del seno, permette di individuare una lesione e la sua natura, la sua posizione e la sua estensione e ciò è estremamente utile ai fini della definizione della terapia e successivamente permette di agevolare il chirurgo durante l'intervento favorendo una chirurgia conservativa. Un altro esempio è quello dei processi di *screening* della popolazione in cui è ottenuta un'immagine del seno dalla cui analisi poi si differenziano diversi percorsi clinici. Durante la fase di somministrazione della terapia invece, l'*imaging* del seno aiuta e permette di avere un riscontro dell'efficacia della terapia stessa valutando ad esempio la citata *pCR* nel caso della terapia neoadiuvante.

Non solo, tutte le valutazioni riguardo la densità del seno vengono spesso ricavate da immagini. Infine durante il percorso di *follow up* della paziente, delle valutazioni sulla presenza o meno di metastasi o recidive possono essere condotte almeno in prima istanza anche attraverso delle immagini.

Si capisce quindi l'estrema importanza di riuscire ad ottenere delle immagini del seno che siano le più definite possibili, con un alto contenuto informativo, in maniera meno invasiva possibile e con la possibilità di ripeterle ogni qual volta risulti necessario. Queste sono le caratteristiche di un metodo di *imaging* ottimale.

## 1.2. Tecniche convenzionali di *imaging* della mammella

Esistono varie tecniche per ottenere un'immagine del seno e ognuna di queste sfrutta un particolare principio fisico che permette di ottenere un certo numero di informazioni riguardo alla struttura, alla composizione e alla fisiologia<sup>5</sup> del seno stesso. Non esiste quindi un'unica tecnica che permetta di ottenere la totalità delle informazioni necessarie alla formulazione di una diagnosi o alla valutazione dell'efficacia della terapia, come sarebbe ottimale, ma anzi spesso le varie tecniche sono utilizzate in maniera complementare in modo da assicurare la completezza del contenuto informativo necessario.

Vengono quindi presentate le più importanti e diffuse tecniche di *imaging*, con particolare attenzione per quelle utilizzabili per il monitoraggio della risposta della paziente alla terapia neoadiuvante.

### 1.2.1. La Mammografia a raggi X

Attualmente il metodo di *imaging* più utilizzato per l'individuazione del tumore del seno e anche il più utilizzato nei programmi di *screening* è la mammografia a raggi X: questa consiste nell'irraggiare il seno con un fascio di raggi X che per via della loro energia vengono attenuati in modo diverso dai differenti tipi di tessuto. Tuttavia esistono delle serie controindicazioni<sup>(2; 3; 8; 9; 1)</sup>:

- Nonostante abbia un livello massimo di specificità<sup>6</sup> attorno al 97%, una sensibilità<sup>7</sup> del 75%, questi valori sono molto vari in base al tipo di tessuto e molto bassi per seni densi, per i quali si riporta una sensibilità anche <50%. Per questo motivo la

---

<sup>5</sup> La fisiologia è la branca della biologia che studia il funzionamento degli organismi viventi ed, in particolare, le modalità attraverso le quali il corpo riesce a mantenere la stabilità dell'ambiente interno

<sup>6</sup> Specificità: in medicina, si indica la capacità di un test di dare un risultato normale ("negativo") nei soggetti negativi ( non malati )

<sup>7</sup> Sensibilità: in medicina, si indica la capacità di un test di dare un risultato anormale("positivo") nei soggetti positivi ( malati )

mammografia può portare a un grande numero di falsi positivi e falsi negativi che diminuiscono l'efficacia dei controlli soprattutto durante i processi di *screening* e possono portare a trattamenti non necessari, quali ad esempio biopsie.

- Le informazioni che può fornire una mammografia a raggi X sono solo di carattere morfologico e non metabolico<sup>8</sup> o fisiologico. Spesso però un cambiamento metabolico può anticiparne uno di tipo morfologico all'interno del seno anche di svariate settimane: essere quindi sensibili a questo tipo di cambiamenti vuol dire riuscire ad anticipare valutazioni quali la responsività della paziente alla terapia.
- Inoltre la dimensione del tumore potrebbe essere sottovalutata in funzione del tipo di tessuto mammario, ostacolando così la possibilità di una chirurgia conservativa, per la quale è necessario un corretto dimensionamento del tumore. La difficoltà nel misurare precisamente le dimensioni del tumore rende inoltre la mammografia inadatta alla valutazione della risposta alla chemioterapia neoadiuvante. La ragione di questa difficoltà di dimensionamento del tumore è da ricercare nel fatto che la mammografia è intrinsecamente una tecnica che permette di eseguire delle proiezioni bidimensionali del seno e non di ottenere un'immagine tridimensionale tramite la quale si riuscirebbe ad ottenere una valutazione del volume del tumore essendo sensibili anche alla profondità.
- Sono utilizzate radiazioni ionizzanti che alla lunga possono danneggiare i tessuti irradiati ed eventualmente causare lo sviluppo di tumori: bisognerebbe quindi cercare di contenere il numero di indagini radiografiche.

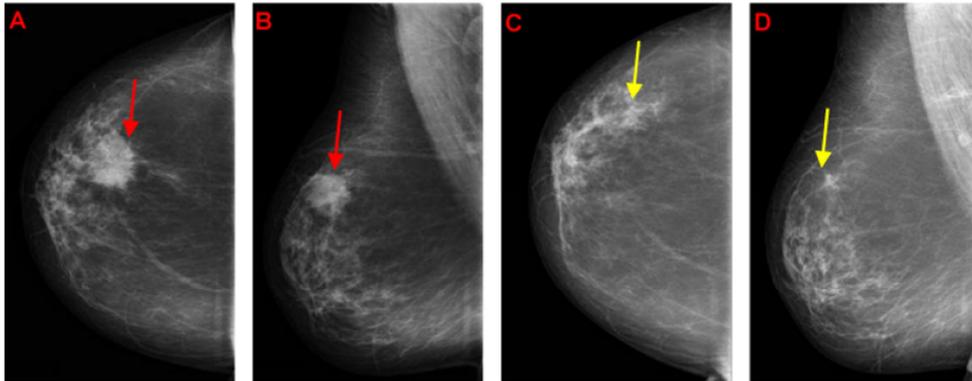
Nel complesso tuttavia la mammografia a raggi X rimane ancora saldamente la tecnica più utilizzata nei processi di *screening* per via della rapidità della misura, del costo ridotto rispetto ad altre tecniche e del risultato di accuratezza<sup>9</sup> pari al 90%. Resta tuttavia esclusa nei processi di valutazione della risposta della terapia a causa principalmente

---

<sup>8</sup> Metabolismo è l'insieme delle trasformazioni chimiche dedicate al sostegno vitale all'interno delle cellule degli organismi viventi.

<sup>9</sup> L'accuratezza di un sistema di misura è il grado di vicinanza delle misure di una quantità al valore considerato vero per quella quantità. Questo rappresenta una stima del valore vero, il quale non può essere conosciuto con precisione assoluta, ottenuta da diverse misure indipendenti o per paragone tra risultati di diversi strumenti.

della difficoltà di misurazione della massa tumorale e per via dell'utilizzo di radiazioni ionizzanti.



**Figura 1.1:** Esempio di un'immagine ottenuta tramite mammografia a raggi X . A e B rappresentano due viste del seno precedentemente alla terapia, C e D a seguito della terapia. Le frecce indicano la posizione di un nodulo e la sua riduzione a seguito della terapia <sup>(8)</sup>

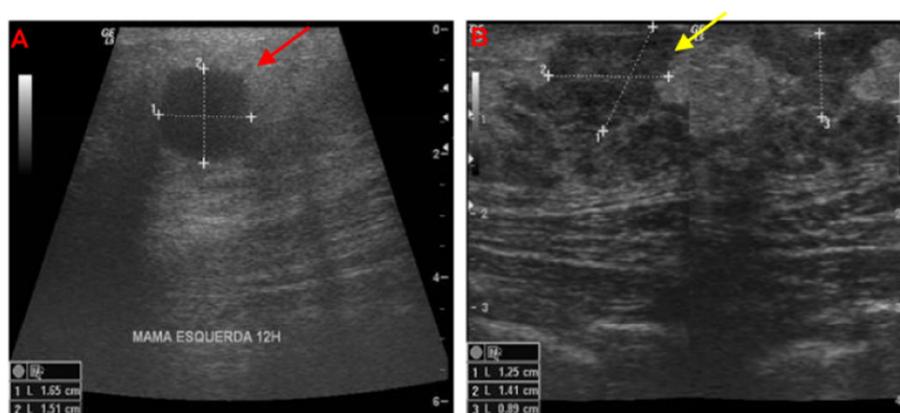
### 1.2.2. L'Ecografia

Un'ulteriore modalità di indagine particolarmente adatta per le donne con un'alta densità del seno, prevede l'impiego di ultrasuoni e permette l'individuazione di piccoli tumori e lesioni come cisti solide. L'analisi della propagazione delle onde elastiche, quali sono gli ultrasuoni, permette di compiere delle valutazioni sulla composizione e sulla morfologia del tessuto, basandosi sul principio per il quale la velocità di propagazione delle onde in un materiale dipende dalla sua densità e dal suo modulo elastico. Tale tecnica, spesso utilizzata come un supplemento alla mammografia a raggi X, ha il vantaggio di avere un'elevata risoluzione spaziale ed essere una tecnica di *imaging* non invasiva oltre ad avere un costo contenuto dell'attrezzatura assieme a un ingombro altrettanto contenuto del macchinario. Tuttavia, l'ecografia è un metodo di imaging che avviene in tempo reale e l'interpretazione dei dati dipende fortemente dall'esperienza dell'operatore. Inoltre risulta caratterizzata da una bassa sensibilità <sup>(3)</sup>.

Un'importante nota riguardo questo metodo è la possibilità di valutare e predire la risposta al trattamento chemioterapico attraverso l'uso della *primary color Doppler*

*analysis*: tramite questa tecnica è possibile ottenere, infatti, importanti parametri del flusso sanguigno, quale ad esempio la velocità di picco del flusso, e della vascolarizzazione dei tessuti. Tali parametri, e in generale i cambiamenti nella vascolarizzazione del tumore, si è dimostrato che correlano con la risposta alla chemioterapia e i risultati indicano una sensibilità del 89% nel predire la completa risposta patologica al trattamento neoadiuvante; in particolare, si è osservato che un aumento del flusso sanguigno maggiore del 5% durante la chemioterapia era comune ai pazienti con una buona risposta al trattamento. Infine l'ecografia permette la valutazione non invasiva dell'architettura anormale dei vasi sanguigni del tumore del seno, che può essere un importante indicatore dello stato del tumore<sup>(8)</sup>.

L'ecografia permette quindi di ottenere delle informazioni che sembrano correlare con la risposta patologica e questo permette di utilizzare lo studio della vascolarizzazione come strumento complementare per valutare la risposta alla chemioterapia. Tuttavia va considerato che è una tecnica che produce risultati non assoluti la cui interpretazione è affidata cioè all'esperienza dell'operatore ed è inoltre una tecnica di *imaging* in tempo reale con le difficoltà associate: questi elementi tendono a limitarne l'utilizzo.



**Figura 1.2: Esempio di un'immagine del seno ottenuta tramite ultrasuoni. Anche in questo caso si individua una lesione prima del trattamento A e dopo il trattamento B mostrando una buona risposta della paziente alla terapia. Da notare la capacità di dimensionamento della tecnica che stima le dimensioni della lesione come visibile negli angoli in basso a sinistra delle immagini<sup>(8)</sup>**

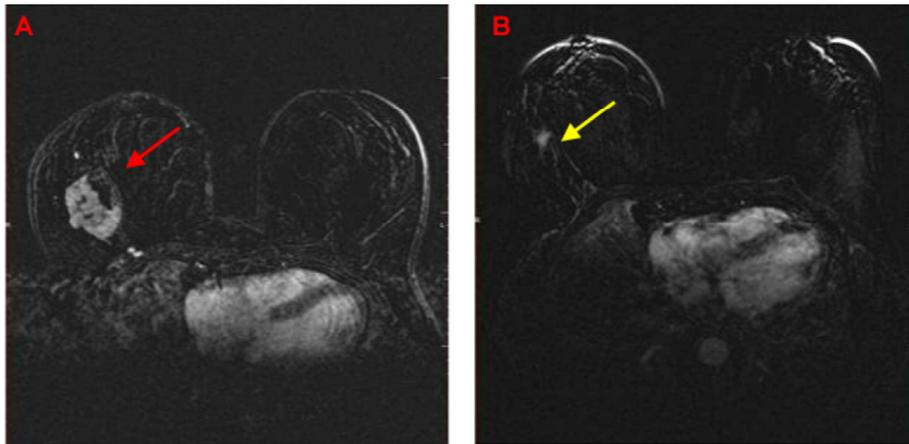
### **1.2.3. La Risonanza Magnetica Nucleare**

La risonanza magnetica nucleare, o RM, è una complessa modalità di *imaging* basata sulla misura della precessione dello spin di protoni o di altri nuclei dotati di momento magnetico quando sono sottoposti a un campo magnetico. Le informazioni fornite dalle immagini di risonanza magnetica sono essenzialmente di natura diversa rispetto a quelle degli altri metodi d'*imaging*. Infatti, sono di norma visibili esclusivamente i tessuti molli ed è inoltre possibile una migliore discriminazione tra tipi di tessuti rispetto alle tecniche radiologiche.

Recentemente, la risonanza magnetica compare nella lista delle modalità di *imaging* da poter utilizzare durante il trattamento del tumore al seno. Tale tecnica ha una bassa specificità perché presenta difficoltà nell'identificazione tra lesioni maligne e benigne; tuttavia è la tecnica maggiormente sensibile per diagnosticare tumori profondi del seno, anche in tessuti densi, raggiungendo il 95-97% di sensibilità per la valutazione di lesioni inferiori al centimetro.

I risultati indicano che la RM ha una correttezza nella previsione della risposta patologica pari all'89%, un'accuratezza prossima al 90%, una buona correlazione con gli esami anatomopatologici e una migliore correlazione con le dimensioni del tumore dopo il trattamento neoadiuvante rispetto ad altri metodi di *imaging* quali la mammografia e l'ecografia. Tuttavia nel 6% dei casi si sovrastima la massa tumorale rimanente e nel 23% dei casi si sottostima<sup>(3; 8)</sup>.

Nel complesso, quindi, la maggior parte degli studi ha mostrato come la risonanza magnetica permetta una migliore valutazione, identificazione e misurazione del tumore rispetto ad altre tecniche d'*imaging* rendendola adatta per la valutazione della risposta patologica al trattamento neoadiuvante. Tuttavia non è da sottovalutarne l'elevato costo e l'elevata durata temporale dell'esame. Ciò favorisce l'uso di tale tecnica per la diagnostica ma non per il monitoraggio; per questo motivo la RM è tipicamente affiancata, come secondo metodo d'indagine, alla mammografia a raggi X in modo da incrementare la precisione di quest'ultima e quindi la possibilità di una chirurgia del seno più conservativa.



**Figura 1.3: Esempio di immagine ottenuta tramite Risonanza Magnetica. L'elevata risoluzione spaziale della tecnica permette di visualizzare i cambiamenti che avvengono nel seno a seguito del trattamento (B), rispetto al seno non ancora trattato (A)**

#### **1.2.4. La Tomografia a Emissione di Positroni**

La tomografia a emissione di positroni<sup>10</sup> o PET è un'altra avanzata modalità di *imaging* che è sotto analisi per il suo potenziale ruolo nel monitoraggio della terapia. Al contrario della maggior parte delle altre modalità di *imaging*, come la mammografia a raggi X o la risonanza magnetica, che permettono di ottenere informazioni morfologiche, la PET fornisce informazioni funzionali, tipicamente del metabolismo del glucosio, consumato ad alti tassi dalle cellule tumorali, utilizzando un particolare radiofarmaco tracciante, il <sup>18</sup>F-FDG. Tramite la valutazione della quantità di questo radiofarmaco è possibile differenziare lesioni maligne da quelle benigne.

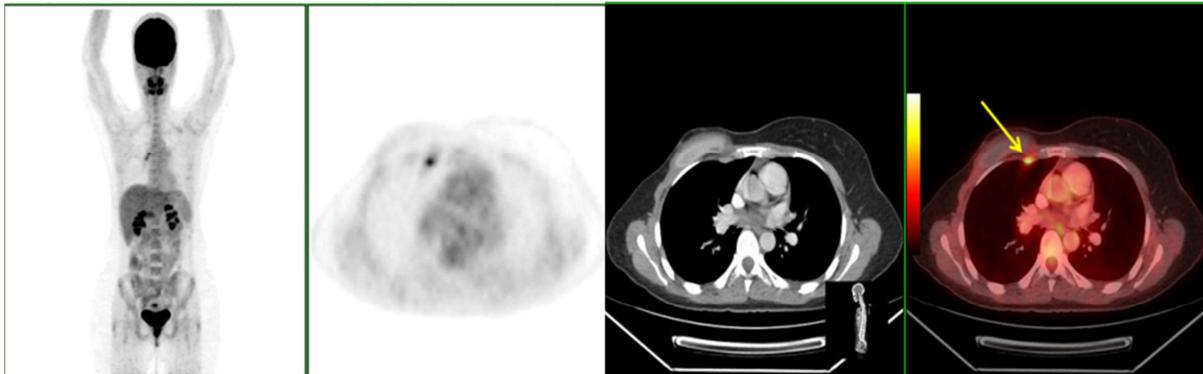
La caratteristica più importante di questa tecnica riguarda però la predizione della risposta patologica e la valutazione precoce di cambiamenti metabolici all'interno del tumore. Indagini accurate hanno, infatti, dimostrato che i cambiamenti metabolici del

---

<sup>10</sup> Il positrone è l'antiparticella dell'elettrone. Quando è emesso dal nucleo di un atomo, viaggia solo per brevi distanze. Durante il percorso infatti gli atomi adiacenti sono ionizzati e il positrone perde energia, rallentando. Il positrone si accoppia quindi con un elettrone andando incontro ad un'interazione di annichilimento che produce una coppia di fotoni con un'energia di 511 KeV; questi viaggiano in direzioni opposte raggiungendo i rivelatori di radiazione per l'imaging.

tumore, a seguito della terapia, possono largamente precedere i cambiamenti morfologici e possono essere individuati già circa 8 giorni dopo l'inizio del ciclo di chemioterapia. In particolare, è stata dimostrata la capacità di differenziazione affidabile tra tumori al seno responsivi e non responsivi alla terapia già dopo il primo ciclo di chemioterapia. Inoltre la PET ha dimostrato un'abilità maggiore, comparata alla mammografia e all'ecografia, nel predire la risposta patologica del paziente già dopo due cicli di chemioterapia neoadiuvante tramite la valutazione dell'andamento della concentrazione del tracciante  $^{18}\text{F-FDG}$  <sup>(2; 8)</sup>.

Tuttavia nella realtà clinica, nonostante le sue potenzialità predittive e l'alto contenuto informativo che offre, la PET è utilizzata come una seconda modalità di *imaging* quando i risultati di altre modalità sono ambigui principalmente perché è una tecnica molto costosa e prevede l'utilizzo di un tracciante radioattivo; il numero di indagini tramite PET dovrebbe rimanere quindi ridotto per singola paziente.



**Figura 1.4: Esempio di un'immagine ottenuta tramite la tecnica della PET in congiunzione a una tomografia computerizzata. Per l'importanza delle informazioni ottenibili, di carattere metabolico, la PET risulta una tecnica particolarmente interessante per la diagnostica. Il principale limite è tuttavia l'elevato costo <sup>(8)</sup>**

## **1.3. I principi dell'imaging ottico: la "Diffuse Optics"**

### **1.3.1. L'imaging ottico**

Nel precedente capitolo sono stati presentati alcuni dei più comuni e più utilizzati metodi di *imaging* del seno ma che tuttavia presentano alcuni svantaggi che vengono ora riassunti.

Il primo riguarda il costo elevato di funzionamento e manutenzione dei macchinari, in particolare quelli necessari alla PET e alla RM; inoltre questi macchinari sono spesso ingombranti, quindi inamovibili, e piuttosto delicati. Il secondo svantaggio riguarda la necessità di utilizzare agenti di contrasto da iniettare nel corpo della paziente, con il rischio di effetti collaterali, oppure di utilizzare radiazioni ionizzanti che alla lunga possono portare allo sviluppo di patologie. Non solo, la PET, ad esempio, necessita lo sviluppo, la sintesi e l'iniezione di agenti radioattivi, il che comporta problemi di sicurezza per la paziente e problemi di logistica legati alla necessità di avere strutture locali per il deposito di materiali radioattivi; questo ne limita la disponibilità nelle strutture ospedaliere. Questi elementi fanno in modo che il numero di indagini per paziente debba essere limitato. Il terzo svantaggio riguarda le informazioni che sono reperibili dai precedenti metodi di *imaging*: non tutte le tecniche sono sensibili a parametri metabolici del tessuto del seno, ma solo a quelli morfologici ed è stata precedentemente illustrata (si veda 1.2.1) l'importanza delle informazioni fisiologiche per una valutazione precoce dell'efficacia della terapia o per la previsione della risposta della paziente.

In generale, quindi, nonostante le attuali modalità di *imaging*, se usate in maniera complementare, rispondano alle esigenze della realtà clinica, sarebbe una grande innovazione riuscire a sviluppare un metodo di *imaging* che ne superi le limitazioni. In particolare si desidera un metodo di *imaging* che sia sensibile ai parametri fisiologici o metabolici come la vascolarizzazione dei tessuti cancerosi, che non utilizzi sorgenti che ne limiterebbero la frequenza d'utilizzo, questo utile soprattutto in fase di monitoraggio della terapia e che non sia invasivo; possibilmente dal costo contenuto e dal facile utilizzo.

Alle richieste di una tecnologia poco costosa, non invasiva, sensibile ai cambiamenti fisiologici e alla composizione del tessuto e che utilizzi sorgenti considerate sicure rispondono ottimamente le tecniche di *imaging* ottico, in particolare quelle di ottica diffusiva. Queste tecniche, basate sull'analisi del percorso della luce nei tessuti, utilizzano tipicamente delle sorgenti laser nello spettro del rosso-infrarosso a potenze non dannose per i tessuti e quindi le analisi possono essere eseguite anche quotidianamente. Possono essere concretizzate in strumenti compatti e poco costosi in cui non è richiesto nessun tipo di indagine invasiva. Infine le informazioni ottenibili sono spesso di carattere fisiologico o metabolico e in parte, limitatamente, morfologico.

Prima di presentare in dettaglio queste tecniche però, si rende necessaria una rimodulazione teorica dei fondamenti alla base delle tecniche di *imaging* ottico.

### **1.3.2. Dall'equazione del trasporto all'equazione della diffusione**

La propagazione della luce attraverso mezzi molto diffondenti quali sono i tessuti, detta anche *photon migration*, potrebbe essere descritta attraverso una teoria analitica basata sulle equazioni di Maxwell e considerando la natura ondulatoria della luce. Tuttavia a causa della complessa struttura di un mezzo come il tessuto, sul quale ricade l'interesse, l'utilizzo di una teoria elettromagnetica è molto difficile.

Un'alternativa è la teoria del trasporto radiativo: questa descrive la propagazione dei fotoni nei tessuti come quella di un flusso di particelle. Anche se matematicamente meno rigorosa della teoria completa elettromagnetica e anche se per la sua completa validità molte ipotesi devono essere introdotte, la teoria del trasporto radiativo dalla quale si ottiene l'equazione della diffusione ben si adatta all'utilizzo sulla maggior parte dei tessuti e permette di ottenere spesso delle soluzioni analitiche al problema della propagazione dei fotoni nei tessuti<sup>(3)</sup>.

La teoria del trasporto è il punto di partenza per la maggior parte delle formulazioni teoriche dell'ottica diffusiva. La quantità chiave in questa teoria è la radianza della luce,  $L(r, \hat{\Omega}, t)$  ( $Wcm^{-2}sr^{-1}$ ), definita come la potenza della luce per unità di area che si propaga lungo la direzione  $\hat{\Omega}$  alla posizione  $r$  al tempo  $t$ . La radianza è legata al campo

elettrico della luce tramite la relazione  $L \sim |E(r, \hat{\Omega}, t)|^2$ , dove  $E(r, \hat{\Omega}, t)$  è il campo elettrico in  $(r, t)$  che si propaga nella direzione  $\hat{\Omega}$ . La radianza  $L(r, \hat{\Omega}, t)$  è governata dall'equazione del trasporto, *Radiative Transport Equation (RTE)*, che è un'equazione di conservazione per la radianza in ogni volume infinitesimale all'interno del campione:

$$\begin{aligned} \frac{1}{v} \frac{\partial L(r, \hat{\Omega}, t)}{\partial t} + \hat{\Omega} \cdot \nabla L(r, \hat{\Omega}, t) & \qquad \qquad \qquad \text{Eq (1.1)} \\ = -\mu_t L(r, \hat{\Omega}, t) + Q(r, \hat{\Omega}, t) + \mu_s \int_{4\pi} L(r, \hat{\Omega}', t) f(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}') d\Omega' \end{aligned}$$

$f(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}')$  è la sezione d'urto normalizzata del singolo evento di *scattering* nel mezzo; fornisce quindi la probabilità che la luce venga diffusa nella direzione  $\hat{\Omega}'$  data la direzione incidente  $\hat{\Omega}$ .  $Q(r, \hat{\Omega}, t)$  ( $W \text{ cm}^{-2} \text{ sr}^{-1}$ ) è la potenza per unità di volume emessa dalle sorgenti alla posizione  $r$  al tempo  $t$  lungo la direzione  $\hat{\Omega}$ . La perdita di radianza al di fuori da ogni volume infinitesimale dipende dai coefficienti di assorbimento e di diffusione o *scattering* ed è formalmente espressa dal coefficiente  $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ . Qui  $\mu_s$  ( $\text{cm}^{-1}$ ) è il coefficiente di *scattering* della luce, definito come il reciproco della lunghezza di *scattering*, cioè la distanza media che un fotone percorre prima di subire un evento di *scattering*; in modo analogo si definisce  $\mu_a$ .  $v$  è la velocità della luce nel mezzo.

Il termine a sinistra dell'equazione Eq (1.1) è una particolare forma di derivata nota con il nome di derivata convettiva e descrive il tasso di variazione della radianza in un elemento infinitesimale attorno a  $r$  al tempo  $t$  lungo la direzione  $\hat{\Omega}$ . Questo deve eguagliare il termine a destra dell'equazione che rappresenta le perdite dovute all'assorbimento e allo *scattering* più i guadagni dalle sorgenti e infine i guadagni dovuti alla radianza diffusa in  $\hat{\Omega}'$ .

Per ridurre la complessità dell'equazione del trasporto che in molte applicazioni deve essere risolta numericamente, sono introdotte delle approssimazioni: la prima di queste è la cosiddetta approssimazione  $P_N$ . Questa prevede di scrivere la radianza come un'espansione in serie di armoniche sferiche. Inoltre si assume che la funzione  $f(\hat{\Omega}, \hat{\Omega}')$  dipenda solo dall'angolo formato tra i vettori d'onda incidenti e quelli diffusi in uscita;

questo porta a scrivere  $f(\widehat{\Omega}, \widehat{\Omega}') = f(\widehat{\Omega} \cdot \widehat{\Omega}')$ . Quando  $L(r, \widehat{\Omega}, t)$  è circa isotropica, è possibile un'altra semplificazione: la cosiddetta approssimazione  $P_1$ , che porta a scrivere:

$$L(r, \widehat{\Omega}, t) = \frac{1}{4\pi} \Phi(r, t) + \frac{3}{4\pi} \mathbf{J}(r, t) \cdot \widehat{\Omega} \quad \text{Eq (1.2)}$$

L'equazione Eq (1.2) introduce due importanti quantità, il primo è un termine isotropico il secondo un piccolo termine direzionale. Il tasso di fluena dei fotoni  $\Phi(r, t)(Wcm^{-2})$  è definito come la potenza per area che si muove radialmente verso l'esterno dal volume infinitesimale del mezzo alla posizione  $r$  al tempo  $t$ . Il flusso di fotoni  $\mathbf{J}(r, t)(Wcm^{-2})$  è invece definito come la potenza per unità di area emessa lungo una direzione qualsiasi: questo fa di  $\mathbf{J}(r, t) \cdot \widehat{\Omega}$  la potenza per area che viaggia lungo la direzione  $\widehat{\Omega}$  alla posizione  $r$  al tempo  $t$ . Si riportano le definizioni di flusso di fotoni e di fluena in formule:

$$\begin{aligned} \Phi(r, t) &\equiv \int_{4\pi} L(r, \widehat{\Omega}', t) d\Omega \\ \mathbf{J}(r, t) &\equiv \int_{4\pi} L(r, \widehat{\Omega}', t) \widehat{\Omega} d\Omega \end{aligned} \quad \text{Eq (1.3)}$$

Introducendo i risultati di Eq (1.2) e di Eq (1.3) nella Eq (1.1), e integrando su tutto l'angolo solido si ottiene

$$\frac{1}{v} \frac{\partial \Phi(r, t)}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{J}(r, t) + \mu_a \Phi(r, t) = S(r, t) \quad \text{Eq (1.4)}$$

$S(r, t)(Wcm^{-3})$  è la potenza totale per unità di volume emessa radialmente verso l'esterno dalla posizione  $r$  al tempo  $t$ , cioè:  $S(r, t) \equiv \int_{4\pi} Q(r, \widehat{\Omega}, t) d\Omega$ .

Se invece si introducessero i risultati di Eq (1.2) e di Eq (1.3) nella Eq (1.1), si moltiplicasse per  $\widehat{\Omega}$  e poi si integrasse su tutto l'angolo solido si otterrebbe l'equazione della legge di diffusione di Fick:

$$\nabla\Phi(r, t) = -3(\mu'_s + \mu_a)\mathbf{J}(r, t) \quad \text{Eq (1.5)}$$

Questa è valida solo nelle ipotesi di sorgente isotropica, cioè  $Q(r, \hat{\Omega}, t) = Q(r, t)$ , e di una lenta variazione temporale nel flusso dei fotoni  $\mathbf{J}$ . Qui,  $\mu'_s \equiv (1 - g) \mu_s$  è chiamato coefficiente di *scattering* ridotto, con  $g \equiv \langle \cos \theta \rangle$  dove  $\theta$  è l'angolo di *scattering*.  $g$  esprime la probabilità di un fotone di essere diffuso con un angolo  $\theta$ .

Sostituendo Eq (1.5) all'interno di Eq (1.4) si ottiene l'equazione della diffusione dei fotoni per il tasso di fluenza dei fotoni

$$\nabla \cdot (D(r)\nabla\Phi(r, t)) - v \mu_a(r)\Phi(r, t) - \frac{\partial\Phi(r, t)}{\partial t} = -v S(r, t) \quad \text{Eq (1.6)}$$

Qui è stato definito il coefficiente di diffusione dei fotoni come

$$D(r) \equiv \frac{v}{3}(\mu'_s(r) + \mu_a(r))$$

A livello microscopico, all'interno della approssimazione  $P_1$ , i fotoni viaggiano attraverso il mezzo seguendo dei percorsi casuali. Si immagina quindi che ogni fotone viaggi lungo segmenti retti fino a che subisce delle improvvise interruzioni; come risultato di queste interruzioni si ha che o la direzione di propagazione è modificata casualmente nel qual caso si parla di evento di diffusione oppure il fotone è assorbito e si parla di evento di assorbimento: la situazione è rappresentata in Figura 1.5. La lunghezza media dei segmenti è il cammino libero medio  $l_{tr}$  ( $1 - 100\mu m$  fino a  $1 mm$ ) che è approssimativamente  $1/\mu'_s$  dove  $\mu'_s = 10 cm^{-1}$  mentre la distanza percorsa in media da un fotone prima di venire assorbito è di circa  $100 mm$ , cioè  $\mu_a = 0.025 cm^{-1}$ .

Si ricorda che Eq (1.6) è stata raggiunta facendo svariate assunzioni tra cui approssimazione  $P_1$  che richiede che la radianza sia quasi isotropica, cioè indipendente dalla direzione in considerazione: questa isotropia è raggiunta quando  $\mu'_s \gg \mu_a$ , cioè il numero di eventi di diffusione è maggiore rispetto al numero di eventi di assorbimento, e quando le distanze di propagazione dei fotoni all'interno del mezzo sono grandi rispetto



### 1.3.3. Soluzioni all'equazione della diffusione: il metodo di Green

Per risolvere l'Eq (1.6) esistono vari metodi; una delle strategie più utilizzate prevede di trovare la funzione di Green per l'Eq (1.6) e poi utilizzarla per costruire soluzioni più generali<sup>11</sup>.

Nell'ottica diffusiva l'assunzione generale che si utilizza è quella di trattare i tessuti come mezzi omogenei: per tali mezzi la Eq (1.6) può essere scritta come

$$\hat{A} \Phi(r, t) = -vS(r, t)/D \quad \text{Eq (1.7)}$$

Dove  $\hat{A} \equiv \nabla^2 - \frac{\partial}{\partial t} - v \mu_a$ .

La funzione di Green nel dominio del tempo  $G_0(r, r_s, t, t_s)$ , deve quindi soddisfare

$$\hat{A}G_0(r, r_s, t, t_s) = -\delta(r - r_s)\delta(t - t_s) \quad \text{Eq (1.8)}$$

e le condizioni al contorno per la geometria di interesse.

La fluena nel mezzo omogeneo sarà data quindi dalla convoluzione tra la particolare funzione di Green dipendente dalla geometria in studio e il termine di sorgente  $vS(r, t)/D$  <sup>(10)</sup>

Nella realtà il tessuto è un mezzo intrinsecamente disomogeneo: tuttavia può essere considerato omogeneo, almeno al primo ordine per via della piccola granulosità delle disomogeneità presenti quali microstrutture di vasi sanguigni e organelli cellulari. Se invece si utilizza un modello di mezzo eterogeneo o perturbativo che meglio descrive la realtà della struttura del tessuto, la complessità delle soluzioni aumenta ed è necessario sviluppare algoritmi di analisi dedicati.

---

<sup>11</sup> Dato un operatore lineare differenziale in  $\mathbb{R}^n$ ,  $\hat{L}$  si definisce funzione di Green la soluzione per  $\hat{L}$  per il problema con sorgente puntiforme, cioè:  $\hat{L}G(X, S) = \delta(X - S)$  con X posizione generica e S posizione della sorgente. Supponendo che  $\hat{L}$  sia spazio invariante si può scrivere la soluzione  $U(x)$  per  $\hat{L}$  ad un problema con una sorgente qualsiasi  $f(x)$  come convoluzione tra la funzione di Green per  $\hat{L}$  e la sorgente  $f(x)$ .

### 1.3.4. Il problema diretto e il problema inverso

Il calcolo della fluena sulla superficie di un tessuto, data una particolare distribuzione spaziale delle proprietà ottiche di assorbimento e *scattering* viene normalmente chiamato 'problema diretto'. Quello che però è importante nelle tecniche di spettroscopia o tomografia è il processo inverso cioè quello di ricostruire la distribuzione spaziale delle proprietà ottiche in ogni punto all'interno del tessuto a partire da delle misure della fluena sulla superficie del tessuto stesso.

Sfortunatamente, il grande contributo che ha lo *scattering* durante la propagazione dei fotoni con lunghezza d'onda nel visibile e nell'infrarosso, fa sì che ogni misura della fluena sia sensibile a un maggior volume rispetto a quanto accade ad esempio nella tomografia a raggi X, tecnica nella quale lo *scattering* è molto ridotto. Il problema inverso nelle applicazioni di tomografia ottica è quindi intrinsecamente non lineare rispetto alle proprietà ottiche del tessuto e questo porta a una certa difficoltà computazionale nell'arrivare alla soluzione. Tuttavia, sono stati sviluppati innumerevoli approcci di semplificazione del problema inverso e per alcune applicazioni una linearizzazione è possibile.

Una volta che si sono ottenute le informazioni riguardo le proprietà ottiche del tessuto, si può eseguire un'ulteriore analisi che porta ad esempio alla determinazione della composizione del tessuto sfruttando la dipendenza dalla lunghezza d'onda dei coefficienti di *scattering* e di assorbimento. Questa dipendenza spettrale deriva a sua volta dalla dipendenza spettrale che hanno le molecole e i componenti principalmente responsabili di assorbimento e *scattering* nel tessuto.

Concretamente è possibile legare l'assorbimento spettrale ottenuto alla concentrazione dei principali cromofori utilizzando una legge di *Lambert-Beer* modificata e ottenendo quindi la relazione  $\mu_a(\lambda) = \sum_i \varepsilon_i(\lambda)C_i$  dove  $\varepsilon_i$  è il coefficiente di estinzione<sup>12</sup> dipendente dalla lunghezza d'onda che è tipicamente noto per i cromofori

---

<sup>12</sup> Il coefficiente di assorbimento molare di una specie chimica rappresenta l'assorbanza specifica di una soluzione a concentrazione molare unitaria, ad una data lunghezza d'onda, attraverso una cella di lunghezza ottica unitaria. L'assorbanza è definita come l'opposto del logaritmo

tissutali e  $C_i$  è la concentrazione dell' $i$ -esimo cromoforo. In questo modo, misurando  $\mu_a$  a diverse lunghezze d'onda si genera un sistema di equazioni accoppiate tramite la relazione precedente che permette di ottenere le concentrazioni dei cromofori: per stimare le concentrazioni di  $N$  cromofori si deve disporre di valutazioni di  $\mu_a$  ad almeno  $N$  lunghezze d'onda anche se una eventuale ridondanza di lunghezze d'onda permette di ridurre gli errori sistematici<sup>(2; 10)</sup>. Inoltre la scelta di opportune lunghezze d'onda delle sorgenti posizionate su particolari posizioni dello spettro dei cromofori aiuta nell'individuazione e nella discriminazione dei cromofori stessi all'interno del tessuto.

Per quanto riguarda il coefficiente di *scattering*, è possibile ottenere delle informazioni riguardo la densità e la grandezza dei centri di *scattering* e poiché sono noti i principali elementi responsabili della diffusione è quindi possibile migliorare la conoscenza della composizione del tessuto in questione. In particolare è spesso utilizzata la teoria di Mie<sup>13</sup> dello *scattering* per la quale  $\mu'_s(\lambda) = a\lambda^{-b}$  dove  $a$  e  $b$  forniscono informazioni sulla densità e sulla grandezza dei centri di *scattering*: ancora una volta, la conoscenza di  $\mu'_s(\lambda)$  permette di invertire la relazione e ottenere quindi i parametri  $a$  e  $b$  di interesse<sup>(12; 13)</sup>.

---

della trasmittanza, cioè la frazione di luce incidente che ad una data lunghezza d'onda attraversa un campione.

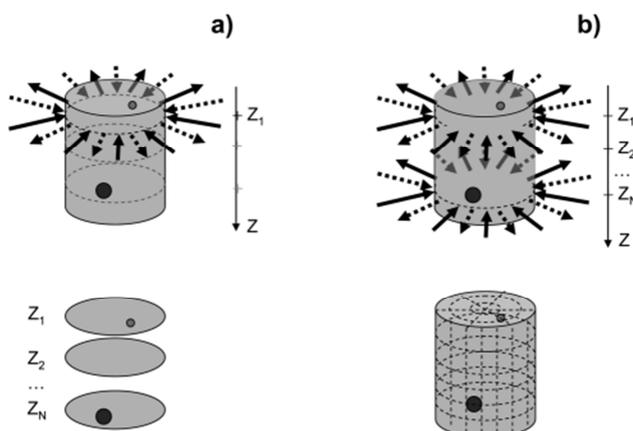
<sup>13</sup> Lo scattering Mie è una soluzione completa e matematicamente rigorosa del problema dello scattering di un'onda elettromagnetica su di una sfera o su di un cilindro

## 1.4. Classificazione delle tecniche di *imaging* ottico

Nel precedente capitolo sono stati illustrati i principi teorici fondamentali sui quali si basano le tecniche di *imaging* ottico diffusivo. È ora utile capire quali tecniche di *imaging* ottico esistono, che tipo di sorgenti utilizzano e in che modo vengono raccolti i fotoni che attraversano il mezzo.

Una prima grande distinzione che è possibile fare tra le tecniche che si basano sui principi dell'ottica diffusiva è basata sulla natura delle informazioni ottenibili. In particolare si può parlare di:

- **Spettroscopia.** Con il termine spettroscopia si intende una modalità di indagine di un mezzo, il tessuto nel nostro caso, mirata all'individuazione delle proprietà ottiche quali assorbimento e *scattering* di un mezzo e il loro andamento in uno spettro di lunghezze d'onda che nel caso di interesse è quello del vicino infrarosso. Se questa indagine viene effettuata utilizzando le basi dell'ottica diffusiva si parla quindi di Spettroscopia nel vicino infrarosso (*Near-Infrared Spectroscopy* o *NIRS*) o ancora Spettroscopia di ottica diffusiva (*Diffuse Optical Spectroscopy* o *DOS*). Questo tipo di indagini sono in genere eseguite puntualmente sul tessuto utilizzando un set di lunghezze d'onda<sup>(10)</sup>.
- **Topografia o tomografia.** Con questi termini ci si riferisce in generale a quelle tecniche che permettono di ottenere delle immagini del tessuto in considerazione in cui non siano necessariamente coinvolti procedimenti per l'ottenimento delle proprietà ottiche ma ad esempio semplici meccanismi per l'individuazione della morfologia del tessuto stesso. Le immagini ottenibili possono essere delle proiezioni bidimensionali del tessuto e allora si parla più correttamente di topografia oppure delle ricostruzioni 3-D, in cui l'informazione sulla profondità è inclusa, e il termine di tomografia è preferibile. Tuttavia spesso entrambe queste modalità si confondono in un unico termine che, se viene utilizzata l'ottica diffusiva, è Tomografia di ottica diffusiva (*Diffuse Optical Tomography* o *DOT*)<sup>(3)</sup>. La Figura 1.6 aiuta a capire la differenza tra topografia e tomografia.



**Figura 1.6:** Le frecce continue rappresentano le sorgenti, quelle tratteggiate i rivelatori.  
**a) misura di topografia:** per ogni livello di profondità  $Z$  si ottiene un'immagine bidimensionale  
**b) misura di tomografia:** si ottiene direttamente l'immagine 3D dell'intero volume <sup>(3)</sup>

Sebbene questa distinzione tra spettroscopia e tomografia tipicamente implichi grandi differenze negli algoritmi di analisi e nella ricostruzione dell'immagine per separare gli effetti dello *scattering* e dell'assorbimento, una diversa complessità della strumentazione utilizzata e una diversa potenza e sensibilità delle sorgenti e dei rivelatori, nella realtà è possibile tuttavia unire le tecniche di spettroscopia e tomografia in modo da ottenere delle immagini, e quindi una distribuzione spaziale, delle proprietà ottiche del tessuto in considerazione: è questo il caso dell'*imaging* ottico della mammella come è in genere eseguita.

Proseguendo nella classificazione delle tecniche che si basano sui principi dell'ottica diffusiva, queste possono essere distinte principalmente in base alla geometria delle sorgenti e rivelatori oppure in base al tipo di sorgente luminosa utilizzata <sup>(3; 10; 14)</sup>.

Nel primo caso si possono avere due configurazioni principali rappresentate in Figura 1.7. Si parla di:

- **Riflettanza:** si parla di misura in riflettanza quando i punti di ingresso e di uscita della luce sono posti dallo stesso lato del mezzo.
- **Trasmittanza:** in questo caso invece i punti di ingresso e di uscita sono posti su lati opposti del mezzo.

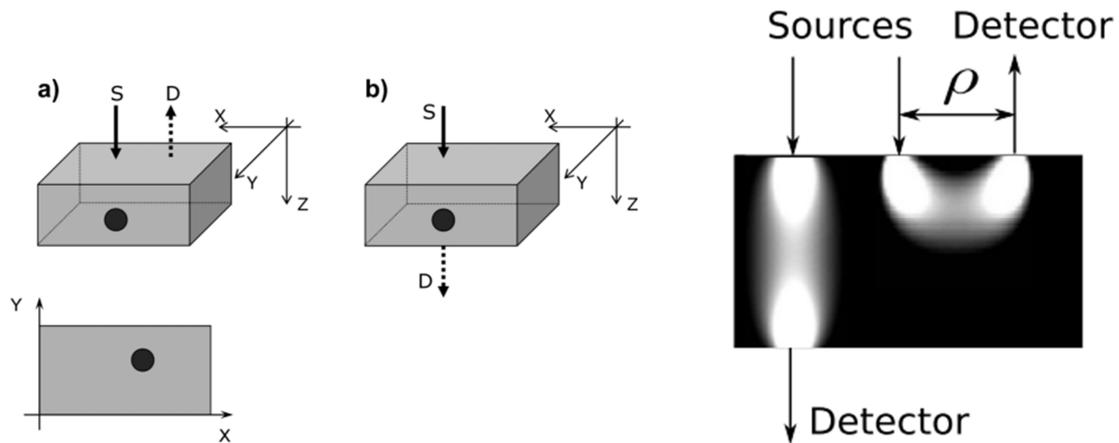


Figura 1.7: A sinistra: schema della geometria di a) riflettanza e b) trasmittanza. A destra: rappresentazione del tipico volume investigato nelle due diverse geometrie <sup>(3; 10)</sup>

Anche in questo caso, nella realtà, in alcune applicazioni questa distinzione non è così netta e delle configurazioni intermedie sono possibili.

La classificazione in base al tipo di sorgente utilizzata permette invece di individuare tre principali categorie:

- Luce Continua
- Luce Impulsata
- Luce a modulazione di ampiezza

I sistemi a **luce continua** misurano l'attenuazione della luce attraverso il tessuto causata dalla propagazione e sono tipicamente poco costosi e compatti; inoltre permettono una rapida acquisizione dei dati e sono caratterizzati da rivelatori e da un'elettronica di rivelazione semplice. Tuttavia presentano degli svantaggi: è difficile distinguere le proprietà di *scattering* e assorbimento del tessuto attraverso un'unica misura, presentano una forte sensibilità a variazioni dell'accoppiamento tra le fibre di lancio e raccolta della luce e la superficie del tessuto (ad es la pigmentazione della pelle) e si basano su una misura assoluta dell'intensità della luce. Il primo problema è legato al fatto che sia l'assorbimento sia lo *scattering* contribuiscono simultaneamente a ridurre il numero di fotoni riemessi: risulta quindi impossibile separare gli effetti se non effettuando molte misurazioni a distanze tra le fibre di ingresso e raccolta differenti e analizzare poi l'attenuazione esponenziale della luce riemessa oppure utilizzando sorgenti con più lunghezze d'onda.

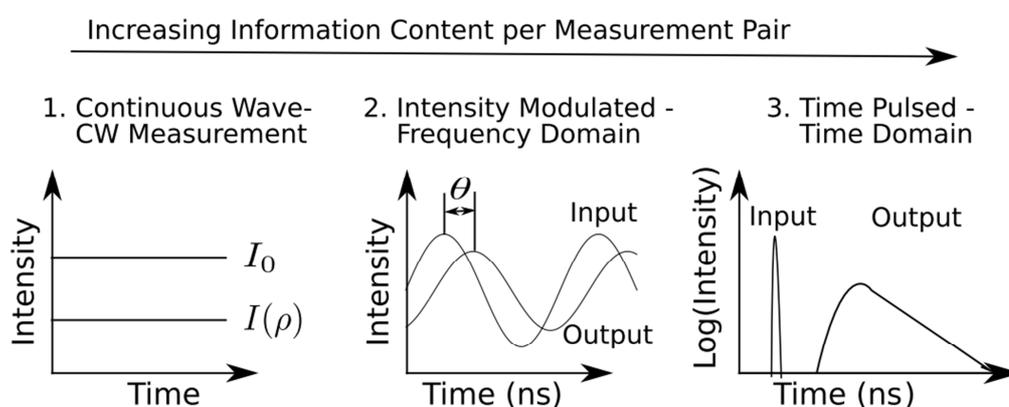
Se è utilizzata una **sorgente impulsata**, si parla di tecniche nel dominio del tempo. Degli impulsi della durata di un centinaio di picosecondi illuminano il tessuto. All'interno del tessuto gli impulsi sono attenuati a causa dell'assorbimento dei fotoni, e contemporaneamente vengono anche allargati temporalmente fino a qualche nanosecondo e ritardati, principalmente a causa dello *scattering* del mezzo: quindi i parametri ottici del tessuto sono ricavabili dall'analisi della forma dell'impulso in uscita utilizzando un opportuno modello teorico e in un'unica misura. In particolare, gli eventi di *scattering* rendono le traiettorie casuali dei fotoni più lunghe rispetto alla distanza tra la fibra di lancio e quella di raccolta, come mostrato in Figura 1.5, ritardando in questo modo i fotoni rilevati. Di conseguenza si allarga e si ritarda l'intervallo temporale del loro arrivo rispetto all'impulso incidente. Gli effetti dell'assorbimento sono invece più visibili sulla coda della curva ricostruita: in questa parte della curva, infatti, si rivelano fotoni che sono stati più tempo nel mezzo e quindi hanno una maggiore probabilità di essere assorbiti. L'assorbimento quindi tende ad aumentare la pendenza negativa della coda. Il sistema di misura riesce quindi a ricostruire la distribuzione temporale dei fotoni all'uscita del tessuto o il loro "tempo di volo", cioè il tempo che trascorrono nel tessuto. Nonostante le tecniche nel dominio del tempo siano state costose in passato, i costi si sono ridotti nel corso degli anni con l'utilizzo di diodi laser impulsati e l'introduzione di schede integrate per una particolare tecnica di misura che prende il nome di *Time Correlated Single Photon Counting* e che sarà presentata nel prossimo capitolo: quest'ultima era, infatti, in precedenza realizzata tramite singoli costosi moduli che svolgevano le diverse funzioni necessarie e che erano montati assieme.

Nei sistemi a **modulazione di ampiezza**, invece, la luce è emessa continuamente ma l'ampiezza è modulata a frequenze dell'ordine di decine o centinaia di megahertz. La propagazione all'interno del mezzo causa un'attenuazione, quindi una demodulazione, e un ritardo di fase della luce riemessa rispetto alla luce incidente. Le informazioni riguardo le proprietà ottiche del tessuto sono ottenute quindi misurando il decadimento dell'ampiezza e il ritardo di fase che avviene rispetto a un segnale di riferimento.

Per valutare quale sia la tecnica con il maggior contenuto informativo per misura si deve considerare che per ottenere dalle misure nel dominio della frequenza, lo stesso contenuto informativo delle misure nel dominio del tempo bisognerebbe utilizzare un numero di diverse modulazioni di frequenza in teoria infinito. Questo perché le misure

nel dominio della frequenza equivalgono a investigare lo spettro di Fourier delle misure nel dominio del tempo eseguite ad una sola frequenza: questo porta a dire che, in principio, tutte le frequenze sono contenute all'interno di un'unica misura nel dominio del tempo. Già da questa considerazione si intuisce l'impossibilità di realizzare una perfetta corrispondenza tempo-frequenza visto l'elevato numero di modulazioni che questa richiederebbe. Nella realtà si utilizza un set limitato di frequenze di modulazione (anche fino a 1 GHz) anche in vista del fatto che la funzione di risposta di uno strumento nel dominio del tempo, detta *Instrument Response Function* o *IRF*, non è una funzione del tipo delta di Dirac, che autorizzerebbe alla trattazione strettamente teorica, ma è una funzione impulsata con una larghezza finita il cui spettro non contiene un numero infinito di frequenze. La larghezza finita della *IRF* è causata a sua volta da una larghezza finita degli impulsi emessi dalle sorgenti e da finita risposta temporale che caratterizza il rivelatore e l'elettronica di rivelazione.

La Figura 1.8 ben riassume il principio di misura e il livello di contenuto informativo delle tre diverse modalità di misura: la tecnica con il più alto contenuto informativo per misura è quella che utilizza sorgenti impulsive e questo è il motivo per il quale quest'ultima è utilizzata nello strumento impiegato durante il lavoro di tesi. Inoltre le misure risolte in tempo sono preferibili per via del fatto che la larghezza degli impulsi delle sorgenti è in realtà spesso molto inferiore rispetto all'allargamento che questo subisce all'interno del mezzo a seguito dell'interazione con il tessuto riuscendo così ad approssimare l'impulso sorgente a un impulso ideale.



**Figura 1.8: Principio di misura e livello di contenuto informativo delle misure in continua, con sorgenti modulate in ampiezza e infine impulsive<sup>(10)</sup>**

## 1.5. La tecnica di misura *Time Correlated Single Photon Counting*

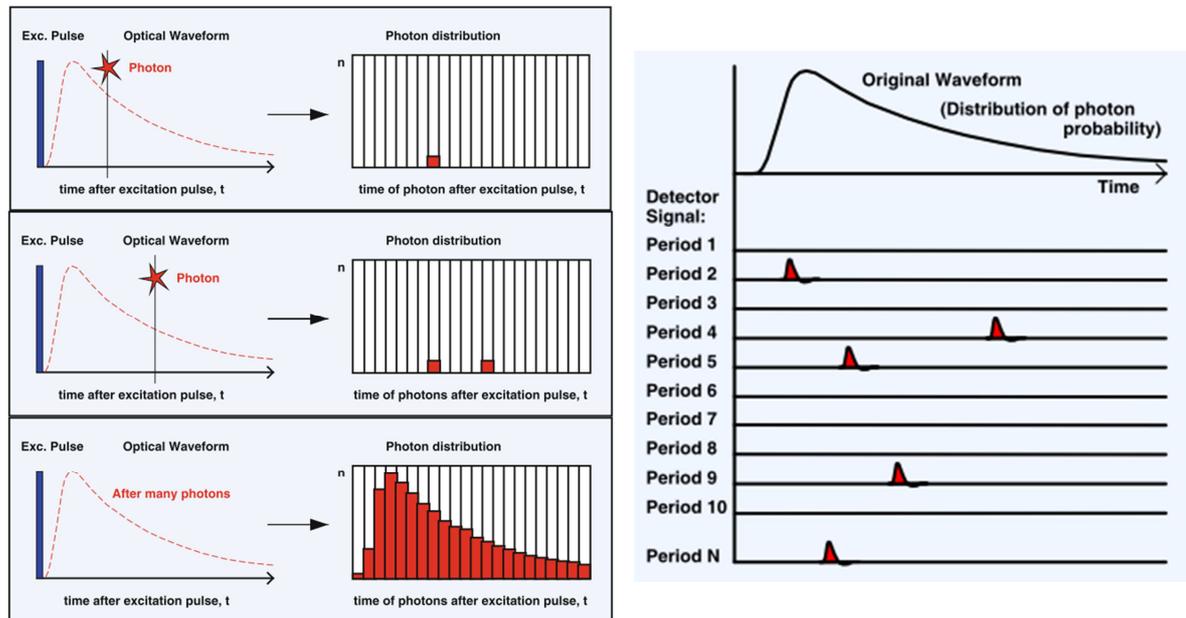
Esistono diverse modalità di rivelazione di fotoni le cui principali utilizzano intensificatori di immagini *gated*<sup>(15; 16)</sup>, *streak camera*<sup>(17; 18)</sup> o camere *Charge-coupled Device (CCD)*<sup>(19)</sup> nelle sue versioni potenziate. Per una completa trattazione delle singole modalità di rivelazione si rimanda alle corrispondenti voci di bibliografia.

È importante sottolineare tuttavia che ognuna delle tecniche ha dei vantaggi e degli svantaggi in particolare legati al tipo di sorgenti utilizzate per effettuare la misura e al tipo di applicazione. Nel tipo di applicazione di interesse, cioè quello della mammografia ottica, si utilizzano spesso delle sorgenti impulsate, i segnali in uscita dal tessuto possono avere una scala temporale, anche di qualche decina di nanosecondi, e infine, soprattutto, questi segnali sono a bassa intensità per questioni legate principalmente alla sicurezza della paziente. È comunemente accettato che, considerate queste caratteristiche, la maggior parte delle tecniche nominate non è perfettamente adatta per la mammografia ottica. In particolare, la *streak camera* ha delle ottime capacità di risoluzione ma una scala temporale di osservazione in genere ridotta, un costo elevato e presenta spesso una fenditura all'ingresso che limita il segnale processabile. Il *CCD*, invece, oltre ad un costo abbastanza elevato, può portare a delle difficoltà di tipo geometrico che rendono difficile l'esecuzione di una scansione del seno. Gli intensificatori di immagini *gated* infine permettono di ottenere un'immagine con una configurazione fissa, senza una scansione: in questo modo si evidenziano maggiormente le zone centrali del seno e meno i bordi. Inoltre permettono di ottenere una ridotta sensibilità

Esiste tuttavia una tecnica nota come *Time Correlated Single Photon Counting* che risulta particolarmente adatta per l'applicazione di interesse. Questa tecnica permette, infatti, di ottenere accurati risultati anche a basse intensità di segnale ed è inoltre caratterizzata da un'elevata risoluzione temporale. Una particolarità di questa tecnica è legata alla possibilità di indagare eventi su una scala temporale di qualche decina di nanosecondi, mantenendo all'interno di questa una buona linearità e una risoluzione anche di poche decine e fino a pochi picosecondi<sup>(20)</sup>. Infine, soprattutto, è una tecnica molto sensibile che permette di lavorare con segnali a bassa intensità, contando il singolo

fotone in arrivo sul rivelatore. Questi sono i principali motivi che hanno reso nel corso del tempo la *Time Correlated Single Photon Counting* una delle più utilizzate tecniche di rivelazione di singolo fotone utilizzando sorgenti impulsate e al suo impiego nello strumento di mammografia ottica con cui si è lavorato. Una limitazione di tale tecnica è tuttavia la necessità di impiegare delle sorgenti impulsate ad alto tasso di ripetizione per compensare la bassa intensità del segnale di luce raccolto. Inoltre i costi di realizzazione dell'elettronica di acquisizione possono essere anche elevati.

La tecnica di *Time Correlated Single Photon Counting* o *TCSPC* si basa sulla rilevazione di singoli fotoni di un segnale di luce periodico, sulla misura dei loro tempi di arrivo e la ricostruzione della distribuzione di fotoni dalle misure. Il metodo sfrutta il fatto per cui per segnali a bassa intensità, l'intensità di luce è generalmente così bassa che la probabilità di rilevare più di un fotone per periodo è estremamente ridotta tanto da poter trascurare completamente la probabilità di rilevare più fotoni: questa condizione si ottiene semplicemente attenuando la potenza del fascio di luce incidente nel mezzo fino a raggiungere un definito *count rate*. Sotto questa ipotesi, è possibile raccogliere i fotoni per un tempo pari a svariati periodi del segnale del laser, misurandone il loro tempo di arrivo: successivamente è possibile riordinare i fotoni all'interno di un unico periodo creando quindi un istogramma che ricostruisce il profilo dell'impulso in uscita dal mezzo. Nell'utilizzare questa tecnica in genere si impiegano delle sorgenti che hanno un alto tasso di ripetizione per compensare gli altrimenti lunghi tempi di misura necessari legati al fatto che si raccoglie solo un fotone per periodo.

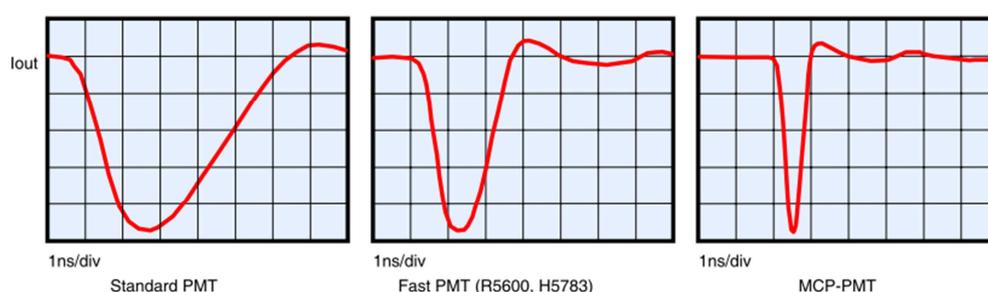


**Figura 1.9:** A sinistra. Principio della TCSPC: il processo di rivelazione produce la distribuzione dei fotoni nel tempo dopo numerosi impulsi di eccitazione. A destra: è mostrata la rivelazione al massimo di un fotone per periodo. <sup>(20)</sup>

Il principio di misura è meglio illustrato nella Figura 1.9. Il segnale prodotto dal rivelatore consiste in un treno di impulsi distribuito casualmente su vari periodi per via dell'ipotesi di singolo fotone: quando un fotone viene rilevato, viene misurato il tempo trascorso dal corrispondente impulso di ingresso e l'arrivo del fotone stesso. All'arrivo di un fotone è quindi associato il suo tempo di volo. La scala temporale della curva ricostruita è suddivisa in vari intervalli temporali o canali, e a ciascun intervallo è associato un contatore che è incrementato ogni qual volta il tempo di volo del fotone incidente ricade in quel canale temporale. In questo modo, si viene a creare un istogramma che rappresenta la forma dell'impulso ottico in uscita dal mezzo.

Questa tecnica è spesso preferibile a una misura analogica della luce riemessa da un mezzo: quest'ultima per essere eseguita richiederebbe all'elettronica di rivelazione una risoluzione elevata dell'ordine di una decina di picosecondi difficile da raggiungere con i comuni sistemi di rivelazione. Infatti la risoluzione temporale di un sistema di acquisizione analogico è limitata principalmente dalla larghezza di banda del rivelatore, e quindi dal minor tempo in cui il rivelatore riesce a tornare operativo dopo la rivelazione di un fotone. In linea di principio questo tempo è almeno pari, ma nella realtà superiore, alla larghezza della *Single Electron Response* o SER, ossia dell'impulso prodotto dal rivelatore a seguito dell'arrivo di un fotone: di conseguenza la larghezza della *Instrument*

*Response Function*, che determina la risoluzione, non può essere inferiore di quella della *Single Electron Response*, mostrata in Figura 1.10. Un'altra limitazione è che la luce emessa dal mezzo potrebbe essere troppo debole per creare una tensione analogica che rappresenti il flusso di fotoni visto il ridotto numero di fotoni per periodo emessi; inoltre, non è possibile in molte applicazioni utilizzare sorgenti di luce più potenti per ottenere un flusso di fotoni in uscita più intenso. La tecnica di *Time Correlated Single Photon Counting* rappresenta una soluzione a questi inconvenienti offrendo dei vantaggi: uno di questi riguarda la risoluzione temporale.



**Figura 1.10: *Single Electron Response* di diversi fotomoltiplicatori. Da notare la scala temporale di 1 ns/div: la minima larghezza della funzione è circa un ns<sup>(21)</sup>**

La risoluzione temporale di un sistema *Time Correlated Single Photon Counting* infatti è limitata dall'accuratezza con cui si riesce a determinare il tempo di arrivo del singolo fotone: questa è limitata dalla larghezza della *Transit Time Spread (TTS)*, una funzione che esprime la variabilità del tempo trascorso tra l'impatto del fotone sul rivelatore e la produzione dell'impulso di uscita. In altre parole la *Transit Time Spread* è l'incertezza temporale che il rivelatore introduce nella conversione di un fotone in un impulso elettrico. La larghezza della *Transit Time Spread* è tipicamente un ordine di grandezza più piccola di quella della *Single Electron Response*. La *Time Correlated Single Photon Counting* porta quindi una risoluzione temporale migliore rispetto a qualsiasi altra tecnica analogica. In Figura 1.11 viene mostrata la definizione della *Transit Time Spread*.

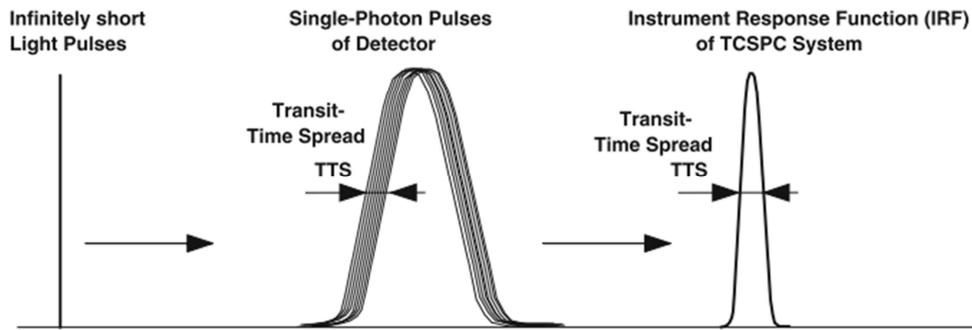


Figura 1.11: Illustrazione della definizione della funzione *TransitTime Spread*. La variabilità dell'impulso prodotto dal detector determina la larghezza della TTS e la risoluzione di un sistema TCSPC<sup>(20)</sup>

Un altro vantaggio riguarda l'efficienza di misura definita come

$E = (SNR_{reale}/SNR_{ideale})^2$ . Con SNR si intende il rapporto tra il segnale e il rumore associato.

Una tecnica ottica di rivelazione dovrebbe raccogliere ogni fotone con lo stesso peso, avere una *IRF* infinitamente stretta, avere dei canali temporali molto più stretti della larghezza del segnale da rivelare e un numero di canali sufficienti a coprire la durata del segnale: in questo modo si otterrebbe un rapporto segnale rumore ideale. La *Time Correlated Single Photon Counting* offre un'efficienza molto vicina a quella ideale per via dell'assenza di processi di modulazione del guadagno, insensibilità a fenomeni di fluttuazione del guadagno, ogni fotone è raccolto e processato a patto che l'elettronica sia sufficientemente rapida; inoltre permette la più stretta *IRF* per un dato rivelatore ed infine si possono creare canali con una larghezza temporale molto ridotta per ridurre l'errore di quantizzazione della scala temporale. La Figura 1.12 mostra l'efficienza di varie tecniche di rivelazione nel dominio del tempo mostrando come la *Time Correlated Single Photon Counting*, al contrario di altre tecniche, raggiunga un'efficienza unitaria su un'ampia gamma di *count rate* sul rivelatore.

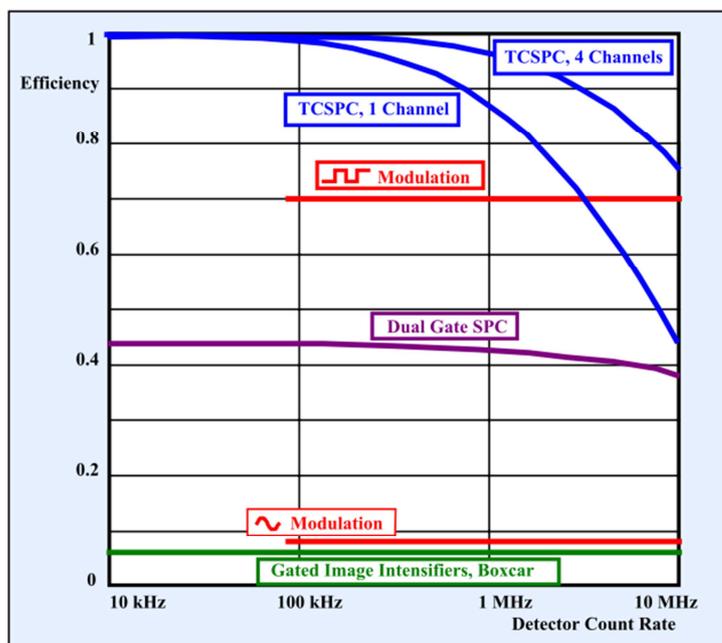


Figura 1.12: Efficienza di alcune tecniche di rivelazione risolte in tempo <sup>(21)</sup>

Nelle tecniche di *Time Correlated Single Photon Counting* bisogna tuttavia prestare particolare attenzione a un aspetto: il *count rate* di misura. Si è già detto che è necessario mantenere una bassa probabilità di registrare più di un fotone per periodo per garantire che l'istogramma dei fotoni in uscita rappresenti l'effettiva forma dell'impulso che si otterrebbe da una misura analogica risolta in tempo. Nel caso si eccedesse con il *count rate* di misura si andrebbe incontro ad alcuni effetti legati alla presenza di tempi morti del rivelatore e dell'elettronica: con questo termine si intende un periodo di tempo a seguito di una rivelazione di fotone in cui il sistema di misura è refrattario alla rivelazione di altri fotoni successivi.

Gli effetti introdotti tendono a modificare la forma del segnale ricostruito e quindi hanno un effetto anche sulla stima dei parametri ottici. Se infatti il numero di fotoni rilevati per periodo è maggiore di uno, il sistema di acquisizione tipicamente registra il primo fotone arrivato ma non i successivi. Questo porterebbe ad una sovrastima dei fotoni che giungono sul fronte di salita dell'istogramma, detti fotoni *early*, e una conseguente distorsione della curva come mostrato in Figura 1.13, con effetto di alterazione dei parametri ottici ricostruiti.

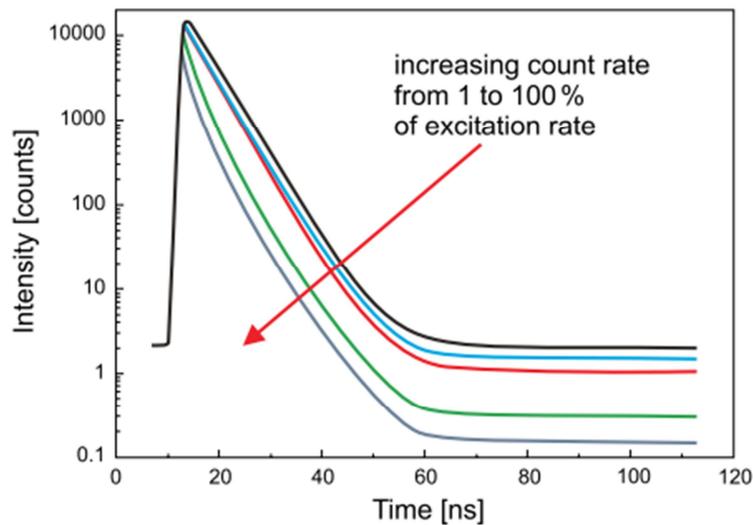


Figura 1.13: Rappresentazione della distorsione dovuta all'eccessivo conteggio di fotoni *early*<sup>(22)</sup>

Un altro effetto che si osserva ad alti tassi di ripetizione è quello definito come '*pile-up*': questo accade quando il tasso di ripetizione è talmente alto che viene ricostruita una curva di distribuzione dei fotoni sulla coda, non ancora completamente esaurita, di una precedente curva di distribuzione. Anche questo tipo di effetto comporta chiaramente delle distorsioni sulla curva che hanno particolarmente effetto sulla coda del segnale. La Figura 1.14 mostra gli effetti della distorsione per *pile up*.

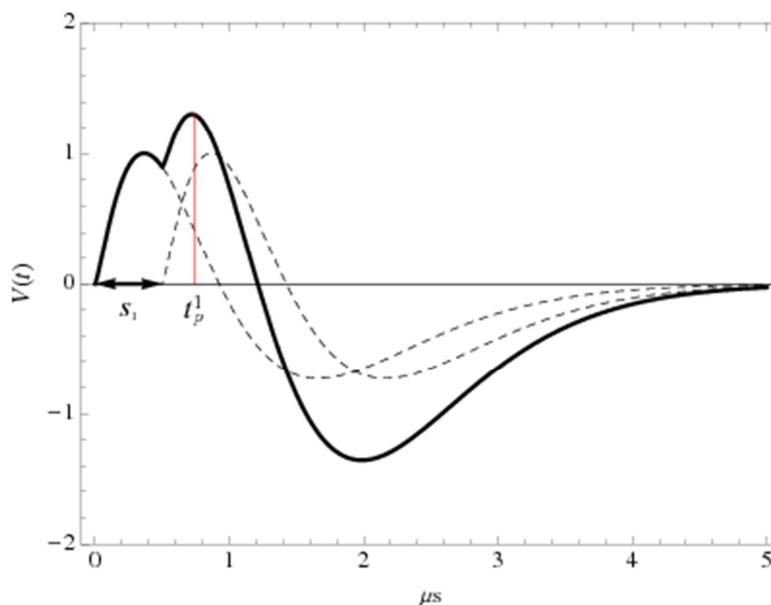


Figura 1.14: Viene presentata la distorsione per *pile up*: gli eventi sul rivelatore sono talmente vicini che il segnale del secondo fotone inizia sulla coda del segnale relativo al primo fotone<sup>(23)</sup>

Da considerazioni statistiche si è visto che per restare nell'approssimazione di singolo fotone ed evitare distorsioni e gli effetti di *'pile-up'*, il *count rate* di misura deve essere dall'1% al 5% della frequenza di ripetizione della sorgente<sup>(20; 21)</sup>.

## 1.6. Dalle origini ad oggi: l'imaging ottico del seno

### 1.6.1. Storia

Dopo aver presentato le basi teoriche dell'*imaging* ottico, veniamo ora a una delle applicazioni più importanti di questa tecnica: l'*imaging* ottico del seno che prende il nome di mammografia ottica. Nel corso dei decenni le tecniche di *imaging* ottico del seno si sono evolute enormemente: si presentano ora le principali tappe di questo percorso.

I primi passi che furono mossi nell'ambito dell'*imaging* ottico risalgono a metà dell'ottocento: l'abilità della luce di penetrare i tessuti, infatti, è stata utilizzata per la prima volta da Richard Bright, un fisico inglese che nel 1831 notò che la luce si poteva trasmettere attraverso la testa di bambini affetti da idrocefalo, una situazione patologica che prevede l'aumento di volume del liquido cerebro-spinale nella testa.

Successivamente, l'illuminazione della testa divenne una tecnica diagnostica accettata per l'individuazione dell'idrocefalo prima dell'avvento delle tecniche a ultrasuoni; la tecnica di illuminare una parte del corpo in modo da riuscire a guardarvi attraverso prese il nome di transilluminazione. Come estensione dello stesso concetto, Thomas Blizzard Curling, un chirurgo inglese, nel 1843 usò la transilluminazione per indagare una condizione di accumulo di fluido nel testicolo, nota come idrocele.

Bisogna però aspettare il 1929 per giungere al primo tentativo di utilizzare la transilluminazione sul seno. Max Cutler, medico di origini ucraine ma spostatosi negli Stati Uniti in tenera età e in seguito diventato un pioniere nella lotta al tumore al seno, tentò di eseguire la transilluminazione sul seno utilizzando una lampada elettrica: lo scopo era localizzare masse sospette e cercare di differenziare tumori molto vascolarizzati da cisti benigne basandosi sull'attenuazione della luce. Concluse che la transilluminazione fosse un valido aiuto per la diagnosi di un ampio insieme di condizioni e patologie ma che i risultati erano estremamente variabili tra le donne: non era quindi possibile distinguere le lesioni benigne da quelle maligne. Oggi ne conosciamo la causa: l'impossibilità di separare gli effetti di assorbimento e *scattering* tramite semplici misure

di attenuazione in continua. Un secondo svantaggio era il riscaldamento della pelle a seguito dell'illuminazione che creava notevoli disagi alle pazienti.

Per i limiti appena evidenziati, nei successivi anni la transilluminazione non ebbe molto successo, anche se aprì la strada all'ottica biomedica e alle tecniche ottiche utilizzate nell'ossimetria: tecnica che sfrutta le differenze negli spettri di ossi e de ossiemoglobina per valutare l'ossigenazione del sangue.

Negli anni 70 però si raggiunsero importanti traguardi con l'avvento di nuove sorgenti in combinazione con opportuni film sensibili alla luce o videocamere apposite. Frans F. Jobsis, un pioniere dell'ottica biomedica, per la prima volta utilizzò la "finestra del vicino infrarosso", cioè delle sorgenti tra i 700 e i 1000 nm, nella quale l'assorbimento e lo *scattering* dei tessuti sono relativamente ridotti; riuscì a indagare e misurare il grado di ossigenazione dell'emoglobina e la concentrazione della citocromo ossidasi, un enzima che è indicatore del metabolismo cellulare. Nel 1972 si riporta la prima applicazione della transilluminazione nel discriminare lesioni maligne e benigne: la tecnica fu chiamata diafanografia e negli anni seguenti si misero in commercio strumenti a due lunghezze d'onda per l'*imaging* del seno. Tuttavia la bassa sensibilità e specificità ne limitarono l'uso, facendo rimanere la mammografia a raggi X la tecnica di maggior utilizzo. Vi erano ancora, infatti, dei sostanziali problemi nella differenziazione degli effetti di assorbimento e *scattering* e non veniva fatta nessuna distinzione spettrale della luce emergente dal seno.

La svolta si ebbe negli anni 90: in quegli anni furono sviluppati i modelli matematici di propagazione della luce nel tessuto e molte delle tecniche nel dominio del tempo, della frequenza o in continua a più distanze: ciò permise di separare gli effetti di *scattering* e assorbimento riuscendo quindi ad ottenere i parametri ottici del mezzo. Nacque quindi quella che oggi si può definire la spettroscopia del vicino infrarosso che permette di valutare le concentrazioni dei principali costituenti dei tessuti: i concetti di *imaging* del seno sviluppati all'epoca sono validi anche oggi<sup>(3; 9; 24)</sup>.

Contestualmente si iniziarono a progettare e realizzare strumenti per la mammografia ottica che univano elementi di spettroscopia ad elementi di tomografia per via dei vantaggi che questa unione comporta. Molti strumenti, seppur utilizzassero sorgenti nel vicino infrarosso, non impiegavano però lunghezze d'onda maggiori di 900 nm: questo è dovuto, in parte, ad una parziale assenza di rivelatori con una buona

risposta in una tale regione spettrale e in parte ad una non completa conoscenza delle informazioni ottenibili da sorgenti con tali lunghezze d'onda. In particolare, sorgenti con una lunghezza d'onda >900 nm permettono di ottenere e porre l'accento sulle informazioni ricavabili dalle componenti di acqua, lipidi e soprattutto collagene. Infine il forte calo di segnale che si osserva oltre i 900 nm, per via dell'elevato assorbimento da parte dell'acqua, ha rallentato lo svolgimento di indagini in questo spettro.

È legato ad alcuni gruppi, in particolare quello di spettroscopia risolta in tempo presente al Politecnico di Milano e quello alla *University of California, Irvine* <sup>(2; 25; 26)</sup>, la realizzazione di strumenti di mammografia che impiegassero sorgenti con lunghezze d'onda maggiori di 900 nm, dove l'acqua e i lipidi possiedono infatti dei picchi nello spettro, riuscendo così ad ottenere una maggiore sensibilità appunto al contenuto d'acqua e di lipidi. Non solo, ma negli ultimi anni il gruppo del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano ha compiuto diversi sforzi per introdurre nel proprio strumento una sorgente con una lunghezza d'onda oltre i 1000 nm che permettesse di ottenere una sensibilità per il collagene <sup>(27; 7)</sup>. In questo spettro infatti si concentra il maggior contributo di questo componente, come si vedrà più avanti. La guadagnata sensibilità è stata ricercata anche in vista dell'individuazione dell'importanza e del ruolo che ha il collagene nella diagnostica e nella previsione della risposta tumorale come precedentemente detto (si veda 1.1.3).

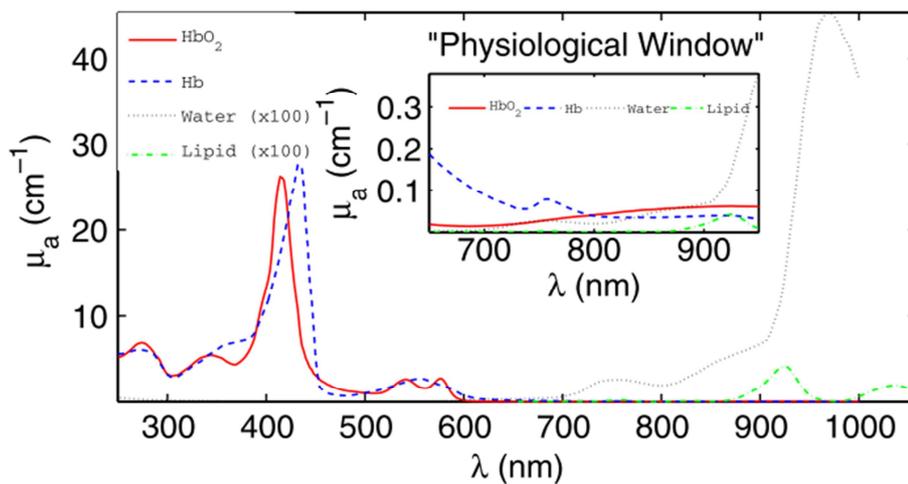
### **1.6.2. Informazioni ottenibili dalla mammografia ottica**

Nel corso degli anni, la mammografia ottica, si è rivelata come una tecnica con elevato potenziale e ha subito numerosi processi di validazione dei risultati attraverso il confronto con i più classici metodi di *imaging* del seno.

E' utile ora capire quali informazioni si possono ottenere da una tipica misura di mammografia ottica la quale unisce caratteristiche di spettroscopia e tomografia: le informazioni ottenibili dipendono molto dalla lunghezza d'onda delle sorgenti utilizzate. Le lunghezze d'onda utilizzate sono scelte in base a motivazioni sperimentali o teoriche che mirano a selezionare quelle frequenze che riducano il *cross-talk* in fase di

ricostruzione delle immagini oppure che riescano a fornire informazioni su precisi componenti del seno. Nella maggior parte delle applicazioni sono utilizzate delle sorgenti laser nello spettro del rosso fino al vicino infrarosso. Come già detto, in questo spettro, l'assorbimento della luce da parte dei tessuti è relativamente basso, e questo permette di andare relativamente in profondità nell'indagine ottica (qualche cm).

Inoltre, in questo spettro, i principali componenti del seno presentano delle particolari strutture spettrali, con picchi ben definiti che ne aiutano l'identificazione. Quando si parla di componenti del seno, si intendono i maggiori elementi presenti in volume all'interno del seno stesso e quelli che sono anche i principali responsabili dell'assorbimento della radiazione nel vicino infrarosso. Sono l'acqua, il collagene, i lipidi e l'ossiemoglobina e la deossiemoglobina. Un esempio di spettro dei costituenti nel vicino infrarosso è riportato in Figura 1.16 mentre la Figura 1.15 mostra lo spettro di assorbimento su un'ampia finestra di lunghezze d'onda.



**Figura 1.15: Spettro di assorbimento dei maggiori componenti tissutali su un ampia finestra di lunghezze d'onda. Lo zoom mostra la 'finestra fisiologica' nel vicino infrarosso: qui l'assorbimento dei costituenti è relativamente ridotto <sup>(10)</sup>**

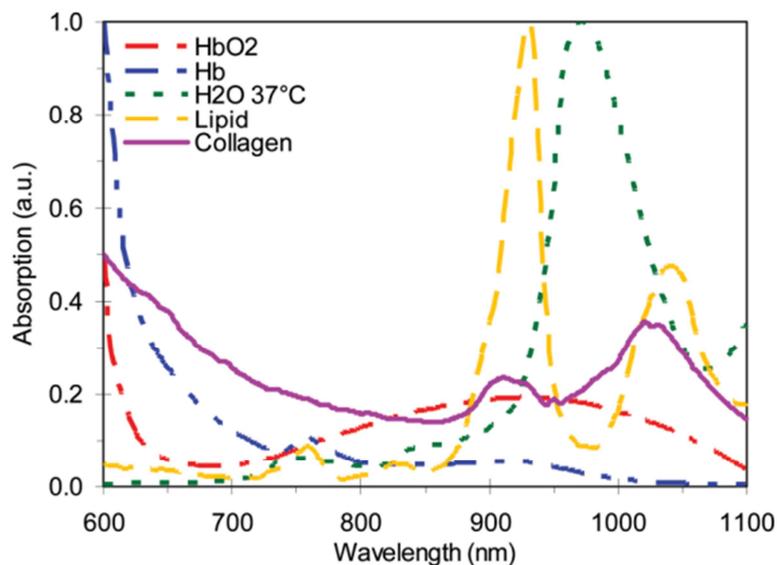


Figura 1.16: Spettro di assorbimento normalizzato dei principali responsabili dell'assorbimento nei tessuti: ossi e de-ossi emoglobina, acqua, lipidi e collagene <sup>(3)</sup>

Tuttavia, la composizione del seno è estremamente variabile da soggetto a soggetto e dipende fortemente anche dai cambiamenti fisiologici che avvengono durante il ciclo mestruale, la gravidanza o l'allattamento: questo rende l'indagine ottica molto complessa e inoltre fa sì che lo spettro di assorbimento complessivo del seno possa essere estremamente vario. Ne è un esempio lo spettro di assorbimento complessivo riportato in Figura 1.17: in base alla natura del seno, se più denso, quindi fibroso, o più adiposo, l'assorbimento può cambiare anche di un fattore tre, non solo, ma nel primo caso il picco dominante è quello dell'acqua, nel secondo, quello dei lipidi.

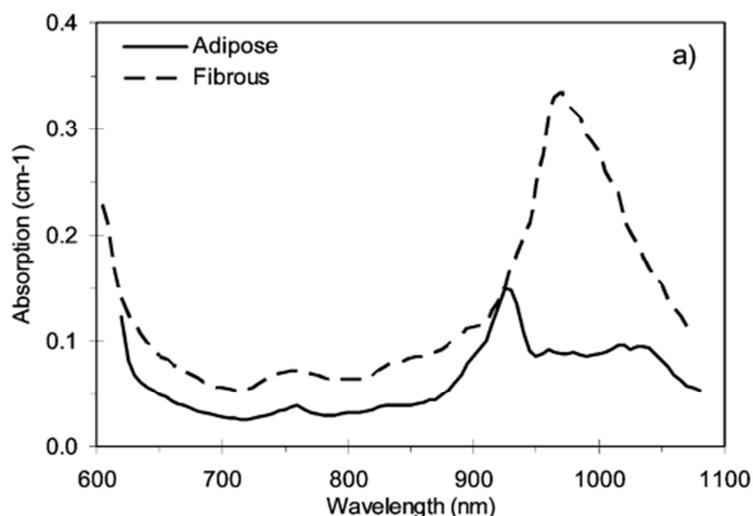
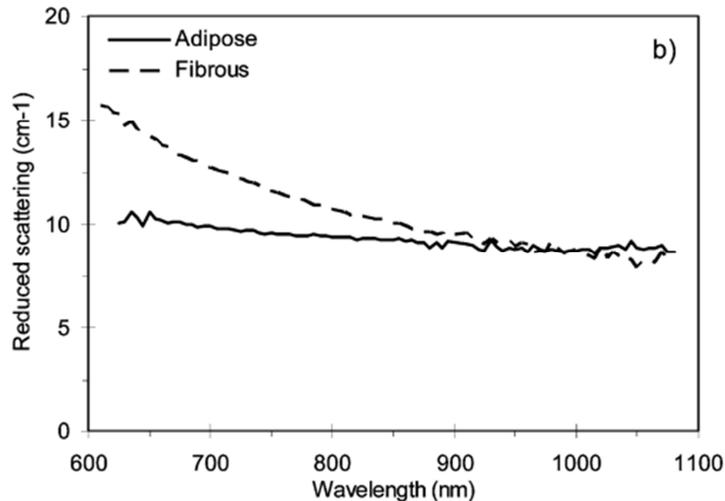


Figura 1.17: Spettro di assorbimento misurato *in vivo* da differenti tipi di seno: fibroso e adiposo <sup>(3)</sup>

In Figura 1.18 si mostra invece lo spettro di *scattering* in entrambe le situazioni di seno fibroso e seno adiposo: benché non siano visibili particolari strutture nei due casi, la pendenza della curva può aiutare nella distinzione delle due situazioni.

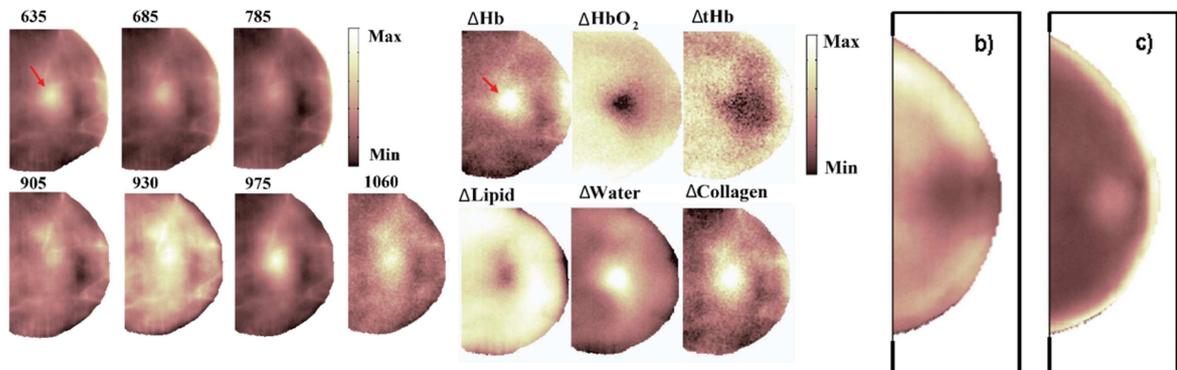


**Figura 1.18: Spettro di *scattering* misurato in vivo da differenti tipi di seno: fibroso e adiposo <sup>(3)</sup>**

Come precedentemente detto (si veda 1.3.4) è quindi possibile ottenere la composizione del seno basandosi sulla dipendenza spettrale di assorbimento e *scattering* e successivamente creare delle mappe che rappresentino la distribuzione spaziale o la concentrazione dei costituenti e dei parametri del sangue.

Delle immagini possono inoltre essere ottenute creando delle mappe della distribuzione spaziale dei soli coefficienti di *scattering* e di assorbimento. Accanto a questo tipo di rappresentazione esiste una particolare tecnica nota come *Gated Intensity Imaging* che permette di sottolineare la dipendenza dello *scattering* e dell'assorbimento dalla posizione. Le immagini ottenute con tale tecnica sono costruite contando, in funzione della posizione, il numero di fotoni raccolti all'interno di una determinata finestra temporale della curva di distribuzione dei fotoni stessi. Una finestra temporale posta in prossimità del picco della curva tende a sottolineare gli effetti dello *scattering* poiché questo, nel complesso, tende a ritardare la curva rispetto all'impulso originario facendo variare il numero di fotoni presenti all'interno di questa finestra a seconda del valore del ritardo, e quindi del coefficiente di diffusione. Immagini acquisite con una finestra posizionata sulla coda della curva contengono invece praticamente solo l'effetto

dell'assorbimento: infatti i fotoni che hanno una maggiore probabilità di essere assorbiti sono quelli che trascorrono più tempo all'interno del mezzo e quindi sono rivelati con maggior ritardo. Nel primo caso si parla di *early gate* e quindi i fotoni rilevati sono quelli *early*, nel secondo caso si parla invece di *late gate* e *late photons*<sup>(3)</sup>.



**Figura 1.19: Esempio di diversi tipi di mappe ottenibili da una misura di mammografia ottica. In ordine: mappa del contrasto di assorbimento a diverse lunghezze d'onda; mappa dei principali costituenti del seno; mappa dei conteggi nei *late gate* secondo la tecnica di *Gated Intensity Imaging*<sup>(12; 3)</sup>**

### 1.6.3. Risultati della mammografia ottica

Una volta ottenute delle immagini dei coefficienti di *scattering* e di assorbimento o le concentrazioni dei costituenti del seno, queste informazioni possono essere utilizzate in ambito diagnostico, per il monitoraggio della terapia, per la stima del rischio di sviluppare il tumore al seno oppure per la previsione della risposta terapeutica.

- Per quanto riguarda l'ambito della diagnosi, molti gruppi di ricerca si sono dedicati a cercare di trovare dei parametri che permettessero di discriminare lesioni maligne da quelle benigne: ad esempio è noto che in generale i carcinomi del seno sono caratterizzati da un forte incremento di emoglobina rispetto a una lesione benigna quale fibroadenomi e fibrocisti e questo è legato alla neo angiogenesi tipica delle lesioni tumorali. Nello stesso tempo, fibroadenomi e cisti risultano più assorbenti ad alte lunghezze d'onda (>975 nm) probabilmente a causa del contributo di acqua e collagene<sup>(24)</sup>.

In generale, si è riuscito a dimostrare come un contenuto di emoglobina maggiore, dalle due alle tre volte, rispetto al tessuto sano così come un elevato valore di

*scattering*, maggiore del 20-50% rispetto al tessuto sano, possa essere considerato come indice di malignità. Mentre la saturazione non sia considerata particolarmente un buon discriminante: per le lesioni benigne il grado di saturazione è comparabile con quello del tessuto sano, mentre per le lesioni maligne il livello di saturazione può essere sia al di sopra sia sotto al valore normale indicando diverse condizioni di perfusione. Inoltre si è confermato quanto già noto che le lesioni in generale siano caratterizzate da una più alta concentrazione di emoglobina. Per quanto riguarda invece i costituenti quali acqua e lipidi si è ottenuto che la prima è in concentrazione elevata nei carcinomi mentre i secondi sono a concentrazione minore nei carcinomi rispetto al tessuto sano dello stesso seno<sup>(1)</sup>.

Alcuni studi hanno evidenziato inoltre una maggiore concentrazione di collagene in una lesione rispetto al tessuto sano<sup>(12; 7)</sup>. Una differenziazione tra lesione benigna e maligna è inoltre possibile basandosi sulla concentrazione di ossiemoglobina e collagene essendo statisticamente più elevate le concentrazioni nel secondo tipo di lesioni: questi due parametri possono essere presi quindi come validi indicatori della malignità della lesione<sup>(12; 2)</sup>.

- La valutazione del rischio ha subito degli incoraggianti miglioramenti a seguito dell'introduzione di sorgenti con lunghezza d'onda maggiore di 900 nm. Questo spettro ha infatti notevolmente aumentato la sensibilità ai costituenti quali acqua, lipidi e collagene migliorando la capacità predittiva della mammografia ottica. La loro concentrazione, infatti, correla con il rischio di sviluppo del tumore al seno in quanto, in termini di costituenti del seno, studi hanno mostrato come un'alta densità, che come precedentemente detto (si veda 1.1.3) rappresenta un fattore di rischio, si traduca principalmente in una maggiore concentrazione di acqua e collagene e in una riduzione del contenuto di lipidi. Questi risultati sono inoltre compatibili con quanto atteso basandosi sui dati di mammografia a raggi X: infatti, l'acqua è un forte assorbente di raggi X mentre il tessuto adiposo è circa trasparente. Questo vuol dire che i seni radiodensi, e quindi propensi allo sviluppo del tumore, sono quelli con un alto contenuto d'acqua. Degli studi hanno anche dimostrato un'inclinazione ad un maggiore contributo di *scattering* per seni densi, mentre la saturazione non sembra variare eccessivamente con la densità e nemmeno il contenuto di emoglobina.

Si è già discusso in 1.1.3 il ruolo del collagene nella fase di diagnosi ma anche di valutazione del rischio di sviluppo del tumore. Gli studi riguardanti i primi tentativi d'individuazione e valutazione, tramite metodo ottico, del collagene sono principalmente legati al gruppo del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano<sup>(28; 7)</sup>.

Tramite questi lavori, la mammografia ottica ha studiato il collegamento esistente tra collagene e sviluppo ed evoluzione del tumore: i risultati sembrano indicare che la misura ottica sia una misura del rischio naturalmente non invasiva, ma soprattutto più diretta rispetto ad una mammografia X la quale è più sensibile al contenuto d'acqua che a quello del collagene che nel complesso può essere un miglior e più affidabile indicatore del rischio.

- Assieme alla diagnosi e allo *screening* che sono le più immediate applicazioni della mammografia ottica esiste un altro importante utilizzo: il monitoraggio della terapia e la risposta alla terapia neoadiuvante. E' stato osservato che nel caso di una risposta positiva alla terapia neoadiuvante avviene una riduzione nel contenuto di deossiemoglobina, acqua e potere diffusivo del seno; contemporaneamente si ha un aumento di contenuto lipidico. Nel caso di una risposta negativa alla terapia non sono stati riportati cambiamenti rilevanti di questi parametri. Basandosi su tali informazioni è quindi possibile distinguere i pazienti responsivi, che andranno incontro a una *pCR* e quindi un alto tasso di sopravvivenza, da quelli non responsivi da quattro settimane fino a un solo giorno dopo il primo trattamento con un grado di specificità e sensibilità che può arrivare anche al 100%. Questi studi hanno inoltre dimostrato come *l'imaging* ottico sia uno strumento particolarmente adatto per il monitoraggio della terapia neoadiuvante. Informazioni analoghe sono ottenibili anche con la risonanza magnetica nucleare ma è evidente il vantaggio della mammografia ottica in termini di costo e impatto sulla paziente<sup>(3; 24; 2; 1; 29)</sup>.
- Esiste poi un ulteriore campo in cui la mammografia ottica si sta inserendo: si tratta della capacità di prevedere la risposta terapeutica alla terapia neoadiuvante ancor prima di effettuare la terapia stessa. In particolare da studi preliminari si è notato come le pazienti che esibiscono una *pCR* alla terapia neoadiuvante hanno un più alto livello di saturazione del tessuto tumorale precedente alla terapia rispetto alle pazienti che non vanno verso una *pCR*. In questo caso si riporta una sensibilità del

75% e una specificità del 73.3% se si utilizza una soglia per la saturazione pari al 76.7%. Se, oltre alla saturazione si utilizzano anche altri parametri legati ai recettori di estrogeni la sensibilità sale al 100% e la specificità a 85.7%<sup>(26)</sup>. Altri studi hanno invece analizzato il ruolo della concentrazione di emoglobina prima dell'inizio del trattamento neoadiuvante scoprendo che questa è statisticamente indicativa per differenziare le pazienti che andranno incontro a una *pCR* da quelle che invece non saranno responsive: in particolare le pazienti considerate positive sono quelle che hanno una concentrazione di emoglobina in generale bassa<sup>(30)</sup>. Un altro esempio riguarda uno studio eseguito con un tipo di tomografia ottica dinamica che valuta in particolare i cambiamenti che avvengono durante una fase di trattenimento del respiro della paziente e che sembrano correlare con la risposta patologica<sup>(29)</sup>. Continuando nella presentazione degli studi, ne è stato eseguito uno, all'interno dello spettro 600-1000 nm, che ha permesso di correlare un particolare indice, ottenuto prima dell'inizio della terapia, con la risposta finale della paziente alla terapia neoadiuvante. Questo indice, costruito basandosi sulla funzione *heterogeneity spectrum function (HS)*, permette di caratterizzare le differenze spaziali del tessuto del seno affetto da tumore. La funzione *HS* è un marcatore biologico che può essere attribuito alla diversa distribuzione molecolare presente all'interno del tumore<sup>(31)</sup>. Sono stati eseguiti infine altri lavori che hanno portato all'individuazione di alcuni indici ottici che pesano il contenuto di lipidi ed emoglobina e che correlano con la completa risposta patologica<sup>(32)</sup>.

Una delle difficoltà nell'analisi dei dati di mammografia ottica sta nel valutare contemporaneamente variazioni di più costituenti e riuscire a correlarle con delle informazioni riguardo la natura e la struttura della lesione ed inoltre rendersi indipendenti dalla variabilità tra soggetti: per facilitare questo compito i gruppi di ricerca hanno spesso sviluppato degli indici ottici per il tessuto che racchiudono ad esempio le concentrazioni di più costituenti permettendo di valutare efficacemente dei contrasti. La mammografia ottica è in grado di individuare anche piccole variazioni localizzate di questi indici.

Nonostante i buoni risultati ottenuti, la mammografia ottica possiede delle limitazioni. Una di queste è la ridotta risoluzione spaziale ottenibile considerate le

elevate lunghezze d'onda utilizzate: lo stato dell'arte vuole una risoluzione di 4-7 mm. Assieme vi è anche l'effetto diffondente dei tessuti che, per la fisica della propagazione dei fotoni in questi, limita ulteriormente la risoluzione spaziale ottenibile. Questo porta ad una cattiva rivelazione delle lesioni se piccole in dimensioni<sup>(3)</sup>. Per questo motivo la mammografia ottica dovrebbe essere utilizzata in maniera complementare con altre tecniche di *imaging* che forniscano ulteriori informazioni strutturali soprattutto riguardo l'esistenza, la dimensione e la posizione della lesione: in questo caso si parla di approccio multimodale. Il risultato è un miglioramento in termini di specificità e sensibilità della mammografia ottica che permette di raggiungere livelli maggiori del 90%<sup>(1)</sup>. Ad oggi, le principali tecniche di *imaging* che sono affiancate alla mammografia ottica sono la mammografia X, la risonanza magnetica e l'ecografia. In genere è più frequente l'integrazione di approcci di risonanza magnetica con le tecniche ottiche, rispetto alla mammografia X. Continuando, è stato sviluppato un strumento multimodale in cui la tecnica ottica è integrata con la tecnica ad ultrasuoni: in questo strumento entrambe le modalità possono essere utilizzate contemporaneamente per la registrazione senza la presenza di interferenze. Infine ultimamente si sta ponendo l'attenzione sulla possibile combinazione tra *PET* e le tecniche ottiche: tuttavia attualmente non è possibile effettuare delle misurazioni contemporaneamente utilizzando questi due approcci<sup>(24)</sup>.

In realtà l'approccio multimodale differisce dallo scopo originale della mammografia ottica che mirava all'individuazione della lesione dall'immagine ottica stessa; tuttavia in queste condizioni il metodo ottico soffriva di una bassa specificità<sup>(1)</sup>. Oltre a una ridotta risoluzione spaziale la mammografia ottica soffre anche di una ridotta profondità di indagine che comunque dipende molto dalla geometria di misura utilizzata (riflettanza o trasmittanza) e dalla distanza tra le fibre di lancio e quelle di raccolta.

I risultati ottenuti dalla mammografia ottica nel corso degli anni sono in generale molto incoraggianti e validano la tecnica seppur con delle limitazioni. La possibilità di compiere analisi fisiologiche in modo non invasivo e continuamente nel tempo la colloca tra le tecniche di maggior interesse nel campo dell'*imaging* del seno. Tuttavia esistono ancora molte differenze tra i diversi gruppi di ricerca riguardo i protocolli di misura, l'acquisizione e l'analisi dei dati che rendono difficoltoso il paragone tra i risultati ottenuti.

## **1.7. Stato dell'arte degli strumenti utilizzati in mammografia ottica**

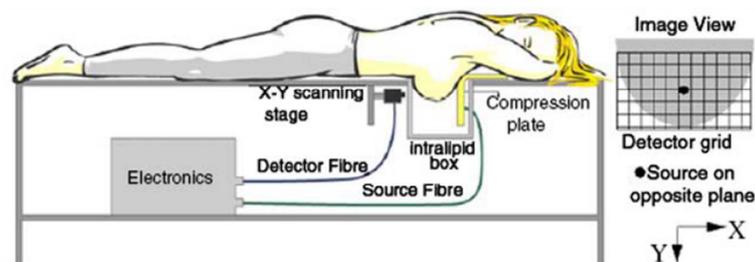
Prima di presentare lo strumento di mammografia ottica sulla quale questo lavoro di tesi è stato eseguito, è utile illustrare brevemente e sicuramente non in modo totalmente esaustivo, lo stato dell'arte degli strumenti utilizzati nella mammografia ottica.

Attualmente esistono vari sistemi di tomografia di ottica diffusiva che in genere richiedono una strumentazione complessa e componenti opto meccanici dedicati al posizionamento del seno della paziente.

Tra i sistemi sviluppati nell'industria, che utilizzano sorgenti continue, il sistema di tomografia di ottica diffusiva della *Philips (Laboratori di ricerca Philips, Olanda)* fu il primo a fare la sua comparsa sul mercato nel 1999. In studi recenti il sistema utilizza 253 sorgenti e 254 rilevatori attaccati a una coppa che sorregge e contiene il seno sotto esame. La coppa è riempita di un liquido che permette l'accoppiamento tra il tessuto e le fibre. Le misure sono effettuate utilizzando 4 lunghezze d'onda di eccitazione (690-730-780-850 nm). Il sistema ha un tempo di acquisizione di circa 10 minuti per entrambi i seni. Un altro sistema basato su una intensità debolmente modulata è stato sviluppato dalla *NIRx Medical Technologies (USA)* : utilizza 25 sorgenti e 25 rilevatori direttamente attaccati a ciascun seno senza l'utilizzo di un liquido di accoppiamento. Le misure sono eseguite con 4 lunghezze d'onda e con tempi di acquisizione di 0.37 secondi rendendo il sistema adatto al monitoraggio dei rapidi cambiamenti emodinamici.

I primi sviluppi di sistemi di mammografia ottica nel dominio delle frequenze sono dovuti a *Siemens Medical Engineering* e a *Carl Zeiss*. Entrambi i sistemi operavano in una geometria di trasmittanza con una coppia sorgente-rivelatore che effettuava una scansione del seno. Nell'ambito accademico invece un sistema di tomografia basato su sei diodi laser a lunghezze d'onda da 660–836 nm modulate a 100MHz è stato sviluppato al *Dartmouth College (New Hampshire, USA)*. Il trasporto della luce laser e la raccolta sono effettuati tramite fibre ottiche montate su degli anelli circolari aggiustabili posti a contatto sul seno. La rivelazione è affidata invece a dei fotomoltiplicatori posti alla fine delle fibre di raccolta.

La mammografia ottica risolta nel tempo è stata principalmente sviluppata e realizzata nella configurazione di trasmittanza per permettere la ricostruzione dei parametri funzionali attraverso l'intero volume del tessuto. Dei prototipi basati su una lieve compressione del seno tra due piastre planari e una scansione di tipo *raster*<sup>14</sup> di una coppia di sorgente-rivelatore a più lunghezze d'onda sono stati realizzati dal gruppo *Physikalisch-Technische Bundesanstalt* a Berlino e dal gruppo del *Politecnico di Milano*. L'azienda *Advanced Research Technologies (ART) Inc., Montreal* ha sviluppato uno strumento commerciale basato sugli stessi principi: il *Softscan* che utilizza quattro diodi laser impulsati, un canale per la rivelazione assiale e quattro per quella fuori asse per ottenere informazioni sulla profondità nella tomografia e riuscire a ricostruire immagini 3-D. Le principali differenze tra questo sistema commerciale e i sistemi accademici è che nel primo caso l'esame è effettuato in posizione prona con il seno leggermente compresso all'interno di una camera con un liquido che permette l'accoppiamento con le fibre come mostrato in Figura 1.20; nei sistemi accademici invece, la paziente è in una posizione supina o seduta.

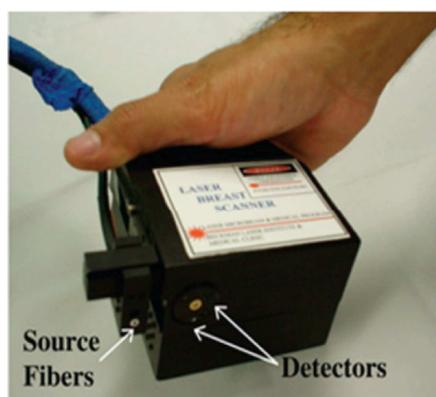


**Figura 1.20: Esempio di modalità di misura con la paziente prona e il seno a contatto con un liquido di accoppiamento**<sup>(14)</sup>

Sono stati realizzati anche dei sistemi ibridi che utilizzano diversi tipi di sorgenti in modo da poter sfruttare i vantaggi di ogni tecnica. Un esempio è il sistema sviluppato dal gruppo della *University of Pennsylvania* che utilizza sorgenti in continua e una modulazione a 70 MHz con sei lunghezze d'onda.

<sup>14</sup> La scansione di tipo *raster* è un tipo di scansione che si effettua su un piano X-Y. In particolare, una volta raggiunto il termine della scansione lungo l'asse X, si incrementa la posizione lungo l'asse Y e si effettua una nuova scansione in direzione opposta a quella precedente. Arrivato nuovamente al termine della scansione si ripete l'incremento lungo y e una nuova scansione è effettuata. Si prosegue così su tutta l'area di interesse.

Esistono poi una serie di sistemi hand-held che per via della loro semplicità e ridotta dimensione hanno un grande potenziale di utilizzo nella quotidianità clinica. Possono accedere a zone del seno, il sottobraccio ad esempio, che sarebbe difficile raggiungere con altri sistemi; tuttavia, la risoluzione spaziale ottenibile è limitata dalla geometria di riflettanza utilizzata e dai limiti di tempo legati alla scansione manuale sul seno. Questi elementi possono portare a inaccurately nella separazione del segnale proveniente dal tessuto tumorale da quello del tessuto sano circostante e a problemi associati alla dipendenza dei risultati dalla profondità e dalla dimensione del tumore. Un esempio di un sistema hand-held è quello realizzato alla *University of California Irvine's Beckman Laser Institute* rappresentato in Figura 1.21. Il sistema combina sette diodi laser (672, 800, 806, 852, 896, 913, and 978 nm) la cui ampiezza è modulate a 251 frequenze comprese tra 100 MHz e 700 MHz, in combinazione con un laser in continua che lavora nel *range* spettrale 650–1000nm con una risoluzione di 5 nm. Il *probe*, cioè il supporto su cui è montato il rivelatore, è mosso a passi di 1 cm sull'area di interesse del seno per visualizzare segni di tessuto malato o sano. Come già detto, la ridotta separazione tra sorgente e rivelatore limita la profondità di indagine dei fotoni e le misure sono limitate a pochi centimetri al di sotto del *probe*, con una scarsa sensibilità per i tessuti profondi. Un aggiornamento di prossima generazione prevede la miniaturizzazione del *probe* con 4 lunghezze d'onda 681, 783, 823, e 850 nm (con una banda di modulazione di 1 GHz)<sup>(2; 24)</sup>. Quest'ultimo strumento è di particolare interesse poiché allo stadio attuale risulta essere l'unico strumento, oltre a quello realizzato al *Politecnico di Milano*, operante con delle lunghezze d'onda maggiori di 900 nm e che quindi permette di ottenere una completa composizione del tessuto coinvolgendo infatti anche la componente del collagene.



**Figura 1.21: Strumento hand-held con un'unica coppia di sorgenti e rivelatori**<sup>(24)</sup>

## 1.8. Altre applicazioni dell'*imaging* ottico

Prima di passare a considerare l'attività del gruppo del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano nell'ambito della mammografia ottica si riportano alcuni esempi di altre applicazioni dell'*imaging* ottico. Le caratteristiche di non invasività e la possibilità di utilizzare sorgenti luminose non dannose infatti rendono le tecniche di *imaging* ottico interessanti non solo per l'*imaging* del seno ma anche per altre applicazioni.

- Una di queste riguarda l'*imaging* funzionale del cervello. In questo caso la richiesta è molto differente rispetto a quella nel caso del seno. Piuttosto che rilevare una anomalia all'interno del tessuto che è costante durante l'esame, come è il caso di un tumore, l'attenzione è volta a visualizzare la risposta del cervello ad uno stimolo in un periodo di pochi secondi. Si necessita quindi di sistemi di *imaging* ottico veloci e che sfruttino una ricostruzione lineare, cioè utilizzino una semplificazione del precedentemente citato problema inverso (si veda 1.3.4): questo permette di ottenere immagini dei cambiamenti delle proprietà ottiche. In particolare si eseguono misure dinamiche, cioè a seguito di stimoli che causano variazioni fisiologiche all'interno del cervello, mirate al calcolo dell'emoglobina ossigenata e non.

Sono stati eseguiti molteplici studi riguardo lo sviluppo del linguaggio, la risposta emotiva alla musica, riguardo situazioni patologiche come l'epilessia e il disordine post traumatico fino all'analisi delle funzioni cognitive in pazienti con patologie neuromotorie e all'analisi dell'accoppiamento neurovascolare, cioè la relazione tra l'attività neuronale e l'emodinamica, ottenendo risultati estremamente incoraggianti. Non solo, ma considerata la sicurezza e la parziale insensibilità al movimento, il metodo ottico è stato utilizzato anche nell'*imaging* funzionale del cervello di bambini, neonati e nati prematuri con risultati che sarebbe stato difficile ottenere, considerata l'età dei piccoli pazienti, utilizzando altri più classici metodi di *imaging*. In quest'ambito sono stati portati a termine vari studi di validazione, basandosi su informazioni in precedenza ottenute tramite ecografia, che hanno messo in luce le potenzialità dell'*imaging* ottico applicato ai neonati, soprattutto nel caso di *imaging* tridimensionale dell'intero volume del cervello.

- Un'altra applicazione dell'*imaging* ottico riguarda l'analisi ossimetrica, cioè la valutazione dell'ossigenazione e saturazione del sangue, in un muscolo lesa in fase di riabilitazione e più in generale in medicina sportiva.
- Inoltre, sono stati fatti molti tentativi per riuscire ad effettuare la diagnosi dell'artrite reumatoide: in questa condizione però l'approssimazione della diffusione non vale più dato il volume estremamente ridotto del dito. Una trattazione teorica completa dell'equazione del trasporto è quindi necessaria portando ad algoritmi di analisi e ricostruzione più complessi <sup>(9)</sup>.
- Le tecniche di *imaging* ottico hanno trovato posto anche al di fuori del campo biomedicale. Infatti, soprattutto per la loro capacità di ottenere informazioni sulla composizione chimica del mezzo in oggetto in modo non invasivo, le tecniche di *imaging* ottico sono utilizzate anche su opere artistiche o su antichi reperti come nel caso dello studio su dei resti lignei di una nave da guerra svedese del XVII secolo che affondò durante il suo viaggio inaugurale nel mar Baltico: a lungo rimasta immersa nell'acqua di mare venne recuperata solo nel 1961. Nel tempo, il legno andò incontro a processi di acidificazione e per evitare l'ulteriore deterioramento dei reperti si procedette ad una deacidificazione del legno e il processo venne strettamente seguito utilizzando una tecnica di spettroscopia del vicino infrarosso per la rilevazione di gas <sup>(33)</sup>.
- Un'ulteriore applicazione al di fuori del campo biomedicale è quella che prevede l'utilizzo dell'*imaging* ottico per stabilire la concentrazione di clorofilla all'interno di frutti, per poi valutarne il grado di maturazione. In questo modo, in maniera rapida ed economica si potrebbe stabilire se un frutto è da cogliere o no dall'albero: questo porterebbe a ridurre il numero di frutti che vengono successivamente, in fase di controllo, rifiutati perché troppo o troppo poco maturi con evidenti vantaggi economici ed ecologici <sup>(34)</sup>.

# Lo strumento per la mammografia ottica: il

## *MAMMOT*

In questo capitolo si descrive il sistema di mammografia ottica progettato e realizzato dal gruppo di ricerca del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano. Si continua poi illustrando i principali elementi innovativi che sono stati introdotti sullo strumento, confrontandoli con i corrispondenti che sono stati sostituiti.

### 2.1. Evoluzione del sistema di mammografia ottica

Dopo aver introdotto nel capitolo 1.7 lo stato dell'arte della strumentazione utilizzata nell'ambito della mammografia ottica si presenta ora lo strumento di mammografia ottica nel dominio del tempo, denominato *MAMMOT*, sviluppato dal gruppo di ricerca del Politecnico di Milano nel corso degli anni e che è passato attraverso vari processi di revisione: sull'ultimo di questi si è concentrato il lavoro di tesi.

Prima di descrivere in dettaglio la struttura della versione più recente del mammografo ottico, si preferisce delineare brevemente il percorso di revisione che questo ha subito in modo da poter meglio chiarire le motivazioni delle modifiche introdotte.

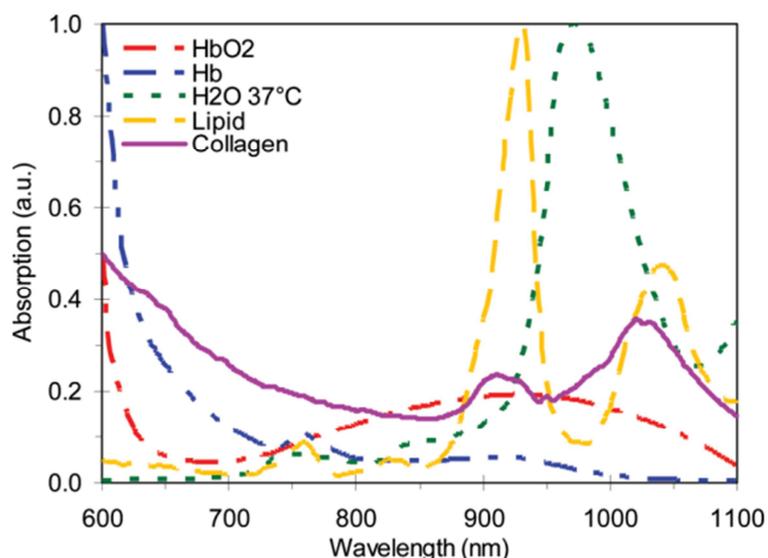
Con una prima versione del mammografo ottico è stato effettuato uno studio clinico su 200 pazienti per l'individuazione e la caratterizzazione di lesioni del seno benigne e maligne. Questo studio ha permesso di individuare caratteristiche positive ma anche limitazioni dello strumento. Ciò ha portato a un'evoluzione di quest'ultimo fino a raggiungere la versione attuale che ha rappresentato a sua volta il punto di partenza per la successiva evoluzione affrontata nel lavoro di tesi.

Una delle limitazioni più importanti osservata nella prima versione del mammografo riguardava il numero e il tipo di lunghezze d'onda utilizzate. La configurazione originale

dello strumento utilizzava quattro lunghezze d'onda: 680, 785, 915 e 975 nm. Le lunghezze d'onda erano scelte perché evidenziassero il contributo di deossiemoglobina, ossiemoglobina, lipidi e acqua rispettivamente. Uno studio successivo dimostrò che le lunghezze d'onda più corte erano utili nella rivelazione di piccole lesioni maligne tramite il loro alto contenuto di emoglobina e quindi nella successiva versione del mammografo è stata aggiunta una sorgente a 635 nm. La 785 nm è sempre stata presente nelle varie versioni e ha aiutato a ottenere informazioni sulla ossiemoglobina per confronto con le lunghezze d'onda più corte. Molti problemi di scarsa intensità di segnale hanno portato all'eliminazione della 915 nm che giace sul fronte di salita del picco di assorbimento dei lipidi.

Tuttavia, considerata la notevole importanza che ha lo spettro sopra i 900 nm soprattutto riguardo la possibilità di ottenere informazioni riguardo a acqua, lipidi e collagene, si è preferito comunque trovare delle valide alternative alla 915 nm.

La soluzione è stata trovata grazie a nuove potenti sorgenti che hanno permesso l'introduzione della lunghezza d'onda a 930 nm che corrisponde al picco di assorbimento dei lipidi e a 905 nm dove l'assorbimento dei lipidi è inferiore di un fattore due. La 975 nm è sul picco di assorbimento dell'acqua. L'assorbimento dei tessuti a 975 nm è dominato dall'acqua anche per seni adiposi. Infine è stata aggiunta una sorgente a 1060 nm per ottenere sensibilità al collagene: la scelta di questa particolare lunghezza d'onda dipende da vari fattori. Il *range* spettrale 1000-1100 nm è stato identificato come il migliore per l'analisi del collagene perché vi è un picco di assorbimento a 1020-1030 nm mentre il contributo di acqua e lipidi è ridotto rispetto alle basse lunghezze d'onda. Tuttavia esiste un numero limitato di diodi laser nello spettro 1000-1100 nm così la 1060 nm è una scelta adeguata perché è abbastanza vicina al picco di assorbimento del collagene ma l'attenuazione complessiva del tessuto è molto inferiore rispetto a 1020-1030 nm. Per una migliore visualizzazione della discussione si riporta nuovamente la Figura 1.16.



**Figura 2.1: Spettro di assorbimento normalizzato dei principali responsabili dell'assorbimento nei tessuti: ossi e de-ossi emoglobina, acqua, lipidi e collagene <sup>(3)</sup>**

Altre limitazioni della prima versione del mammografo riguardavano l'impossibilità di un'attenuazione della luce indipendente per ogni lunghezza d'onda: per questo motivo sono stati introdotti degli attenuatori circolari, uno su ogni percorso ottico delle lunghezze d'onda. E' stato inoltre migliorato l'algoritmo che valuta l'estensione dell'area del seno compresso di cui si vuole ottenere l'immagine. Questa avviene tramite una scansione che è effettuata per indagare l'intero volume del seno compresso. In particolare, i miglioramenti hanno permesso di avvicinarsi il più possibile al bordo del seno senza danneggiare, durante la scansione, i rivelatori utilizzati che sono dei tubi fotomoltiplicatori. Questi rivelatori, soprattutto quelli per la radiazione *NIR*, possono infatti essere seriamente danneggiati dall'eccessiva illuminazione che si può avere quando la scansione raggiunge le zone vicino ai bordi del seno compresso dove si ha quindi minore attenuazione. Per evitare questo danneggiamento, nella versione attuale dello strumento, due fotomoltiplicatori, uno per la radiazione visibile e uno per la radiazione infrarossa, possono acquisire la luce da due diverse aree di scansione. In particolare, quando ci si avvicina al bordo del seno, il fotomoltiplicatore per la radiazione infrarossa raggiunge una soglia di conteggi di fotoni e si chiude un'apertura sul suo cammino ottico impedendo così un'eccessiva esposizione alla luce. Tuttavia, la scansione continua fino a che la soglia sul numero di conteggi è raggiunta anche per il fotomoltiplicatore per la radiazione visibile. Questo ha permesso di eseguire delle scansioni su un'area più grande, almeno per lunghezze d'onda <900 nm, rispetto a

quanto fatto nella precedente versione nella quale si interrompeva la riga di scansione una volta superata la soglia di conteggi.

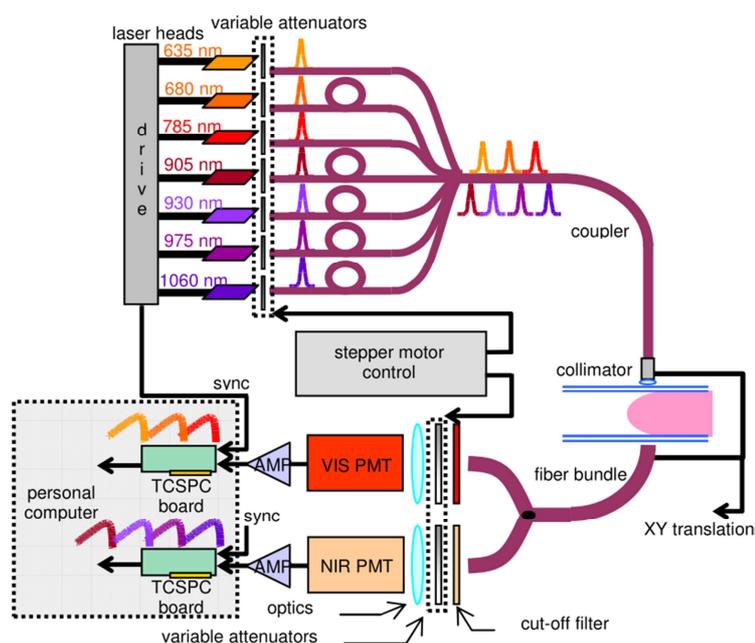
Questi cambiamenti in termini delle sorgenti utilizzate, nell'attenuazione del segnale e nell'algoritmo di scansione hanno portato all'attuale versione del mammografo la cui struttura è descritta nei prossimi paragrafi.

Lo strumento, portatile, il cui schema è riportato in Figura 2.2 è stato progettato e realizzato per ottenere delle immagini in trasmittanza del seno compresso nella stessa configurazione di una mammografia a raggi X convenzionale. Il mammografo ottico utilizza come sorgenti sette diodi laser impulsati (*LDH-P, PicoQuant, Germania*) rispettivamente alle lunghezze d'onda di 635, 680, e 785 nm (visibile, *VIS*), e di 905, 930, 975 e 1060 nm (vicino-infrarosso, *NIR*), con una potenza media di 1-5 mW, una durata di impulso di 300-800 ps e un tasso di ripetizione di 20 MHz. La banda spettrale in termini di larghezza a metà altezza è <5 nm per le lunghezze d'onda *VIS*, mentre varia tra 6 e 13 nm per quelle *NIR*. Un singolo driver (*PDL-808 "Sepia", PicoQuant, Germania*) controlla tutte le teste laser e gli impulsi di uscita sono opportunamente ritardati tramite delle fibre ottiche a profilo d'indice graduale (*graded index* dalle caratteristiche: 50  $\mu\text{m}$  di *core* e 125  $\mu\text{m}$  di *cladding*), usate per ridurre la dispersione geometrica. Le fibre sono poi combinate in un unico connettore *SMA*. Degli attenuatori circolari variabili controllati da un PC permettono la regolazione della potenza di illuminazione ad ogni lunghezza d'onda. Il seno è leggermente compresso tra due piastre di vetro parallele ricoperte da uno strato antiriflesso che riduce la rivelazione di luce spuria. Un ulteriore accorgimento è quello che vede la piastra inferiore in realtà composta di due piastre di vetro separate da un sottile strato di Mylar<sup>15</sup>: questo particolare materiale è stato scelto per ridurre gli effetti di una indesiderata propagazione guidata di luce che avveniva tra le piastre. La luce che riusciva, infatti, a oltrepassare la piastra superiore poteva in parte riflettersi su quella inferiore creando così delle riflessioni dovute alla propagazione guidata: una soluzione è di utilizzare un sottile strato di materiale diffondente, quale è il Mylar, per ridurre il peso delle riflessioni<sup>(35)</sup>. La luce in uscita dal seno è raccolta tramite una fibra lunga un metro e con un diametro di 5.6 mm, la cui parte distale è biforcata: ciascuna parte termina su di

---

<sup>15</sup> Mylar è uno dei nomi commerciali con il quale è conosciuto il polietilene tereftalato o polietilentereftalato.

un attenuatore circolare variabile per il controllo della luce durante le misure *in vivo* e durante l'acquisizione della risposta del sistema, poi in un tubo fotomoltiplicatore, uno per le lunghezze d'onda del visibile (*R5900U-01-L16, Hamamatsu, Giappone*) e uno per quelle del vicino infrarosso (*H7422P-60, Hamamatsu, Giappone*). Due schede per la rivelazione secondo la tecnica di *Time Correlated Single Photon Counting (SPC130, Becker&Hickl, Germania)* sono alloggiare in un PC e utilizzate per l'acquisizione delle sette curve di trasmittanza risolte in tempo. È effettuata una scansione del seno del tipo *raster* in modo continuo, acquisendo dati ogni millimetro con un tempo di 25 ms: una scansione completa impiega circa 5 minuti. Lo strumento, di dimensioni 50 cm larghezza per 80 cm profondità per 140 cm altezza, permette di acquisire immagini del seno secondo la vista cranio-caudale e obliqua, a 45 gradi, dal momento che l'unità di compressione del seno può essere ruotata fino ad un angolo di 90° sia in senso orario sia in senso antiorario.



**Figura 2.2: Struttura della versione attuale del mammografo ottico** <sup>(27)</sup>

Nonostante con la versione attuale del mammografo si siano superate alcune limitazioni della precedente versione, in uno studio condotto su 10 pazienti (sono state effettuate due viste per ogni seno per un totale di 40 immagini) si sono evidenziate alcuni limiti soprattutto riguardo l'intensità del segnale ottenibile. In particolare, sebbene il livello di segnale ottimo (in questo caso valutato a  $2 \times 10^5$  conteggi al secondo) in

generale sia stato raggiunto a tutte le lunghezze d'onda da 680 nm a 975 nm, a 635 nm è stato raggiunto nell'80% delle immagini e a 1060 nm solo nel 33% dei casi: nel caso del collagene la situazione peggiore si osserva per seni adiposi probabilmente per via della forte attenuazione causata anche, ma non solo, dall'elevato spessore del seno anche se compresso. Nel caso della 635 nm invece, la situazione peggiore si è osservata per seni fibrosi per via dell'alto contenuto di sangue e collagene presente nei seni di questo tipo. Tuttavia, un livello di segnale adeguato ( $4 \times 10^4$  conteggi al secondo) è sempre stato ottenuto per la 635 nm e nel 75% delle immagini a 1060 nm<sup>(12; 27; 7)</sup>. Si ricorda che in prossimità di una lunghezza d'onda di 1060 nm si osserva un forte attenuazione del segnale per via della presenza di un contributo di assorbimento da parte dell'acqua e lipidi, mentre a 635 nm si ha un forte assorbimento da parte del sangue e nel complesso un elevato valore di *scattering* del tessuto (si veda Figura 1.16, Figura 1.17 e Figura 1.18).

Le prestazioni dell'attuale mammografo sono buone ma in luce a quanto precedentemente detto sull'importanza e sul ruolo del collagene la nuova versione del mammografo mira ad un netto aumento dell'intensità del segnale raccolto, in particolare a 1060 nm e in generale a tutte le lunghezze d'onda. Una maggiore intensità del segnale potrebbe, infatti, migliorare le valutazioni e le analisi eseguibili sul componente collagene. Inoltre permetterebbe di produrre immagini anche di seni che seppur compressi risultano spessi e quindi con una forte attenuazione del segnale. Per questi motivi l'attuale mammografo ha subito un radicale processo di cambiamento che ha portato alla sostituzione del tipo di rivelatore utilizzato, del sistema elettronico di acquisizione e del sistema di gestione delle sorgenti laser. Sono state apportate anche delle modifiche di tipo meccanico e di tipo *software* al sistema di movimentazione e scansione. I cambiamenti introdotti hanno però tenuto in considerazione, tra le altre cose, degli aspetti legati ai costi e alle dimensioni di ingombro totali del mammografo ottico anche in vista di una possibile commercializzazione dello strumento. Questi aspetti saranno più chiari quando si parlerà più in dettaglio dei cambiamenti riguardanti l'elettronica di acquisizione.

Di seguito è riportata la struttura della nuova versione per permettere una più facile identificazione dei cambiamenti.

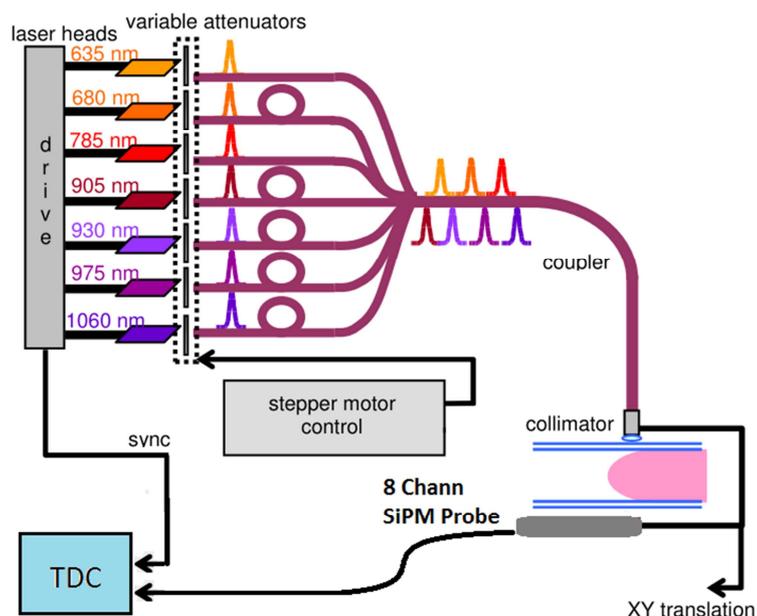


Figura 2.3: Struttura della nuova versione del mammografo

Come già accennato, le sostanziali differenze si hanno nel sistema di acquisizione, o anche detta elettronica di *timing*<sup>16</sup>, e nei rivelatori utilizzati: in particolare i fotomoltiplicatori sono stati sostituiti da rivelatori al silicio chiamati *SiPM* e le due *board* per *Time Correlated Single Photon Counting* sono state rimpiazzate da uno strumento digitale per il conteggio di fotoni noto come *Time to Digital Converter*, o *TDC*. Si è anche provveduto a un aggiornamento del driver di controllo delle teste laser. Nei capitoli successivi si illustreranno in dettaglio le modifiche apportate, saranno presentati i nuovi elementi introdotti, mettendoli a confronto con quelli sostituiti ed infine si analizzeranno le problematiche affrontate.

<sup>16</sup> Con il termine “elettronica di *timing*” ci si riferisce a tutti quei sistemi di acquisizione che permettono di associare ad un segnale in ingresso un tempo di arrivo riferito ad un segnale di sincronismo.



Figura 2.4: Il sistema di mammografia ottica MAMMOT

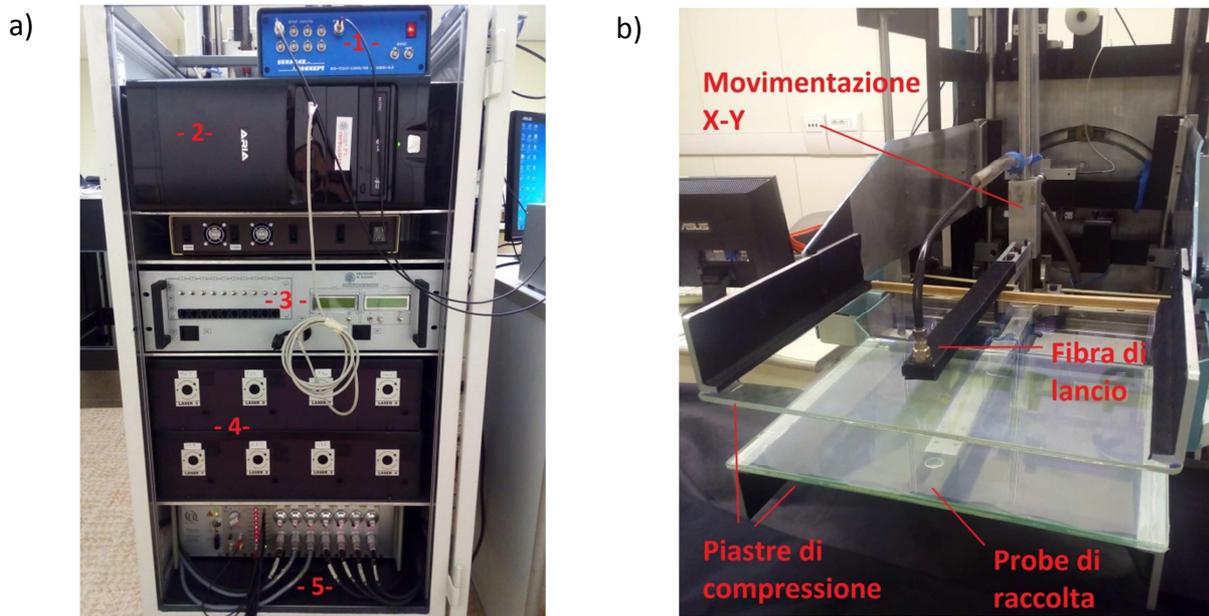


Figura 2.5: a) Vista lato operatore del MAMMOT. 1) TDC 2) PC 3) Sistema di gestione movimentazione X,Y e attenuatori variabili 4) Case attenuatori variabili 5) Driver delle teste laser Sepia II

b) Vista lato paziente: l'unità di compressione del seno. Il probe di raccolta in figura rappresenta già quello utilizzato nella attuale versione del mammografo. In quella precedente è sostituito da un *bundle* di fibre di raccolta.

## 2.2. Descrizione degli elementi innovativi

Nell'illustrare i cambiamenti introdotti, per comodità, si è preferito seguire il percorso che percorre la luce all'interno dello strumento MAMMOT: si presenta ora quindi il driver di controllo delle sorgenti. Successivamente ci si focalizzerà sui rivelatori e poi sul sistema di acquisizione. Infine si descriveranno brevemente le modifiche del sistema di movimentazione. Per ogni componente viene prima presentata la corrispondente versione attuale e poi la nuova versione proposta.

### 2.2.1. Le sorgenti

Il processo di evoluzione del mammografo ottico descritto, è legato a un lavoro e uno studio intensivo che è avvenuto nel corso degli anni. Nello specifico, per quanto riguarda la scelta delle particolari lunghezze d'onda elencate, questa è dovuta ad un processo di ottimizzazione in cui si è valutato tra le altre cose il contenuto informativo ottenibile dalle singole frequenze in base alla loro posizione all'interno dello spettro dei principali costituenti del seno a fronte anche della loro disponibilità commerciale.

Poiché questo processo intensivo di ottimizzazione, che ha permesso di selezionare le lunghezze d'onda tutt'ora presenti nel mammografo ottico, era già stato precedentemente compiuto, durante il lavoro di tesi non ci si è soffermati ulteriormente sull'aspetto della scelta delle frequenze ottimali e ci si è invece soffermati maggiormente su quegli aspetti legati alla rivelazione e all'acquisizione che verranno meglio analizzati in seguito.

#### *La configurazione di partenza: Il Sepia I*

In 2.1 si è detto che tutte le teste laser sono gestite da un singolo driver, il *PDL-808 "Sepia"*, PicoQuant, Germania: questo è un sistema a più canali per la gestione di diodi laser impulsati ed è rappresentato in Figura 2.6.



Figura 2.6: Driver di gestione delle teste laser, PDL-808 "Sepia", PicoQuant, Germania<sup>17</sup>

Il PDL-808, la cui struttura è presentata in Figura 2.7, è costituito da 8 alloggiamenti per i moduli "driver" che gestiscono altrettante sorgenti laser. Ogni driver permette, infatti, di controllare l'energia e la durata degli impulsi delle singole sorgenti laser muovendo un'opportuna manopola. Ciascun impulso, per ogni sorgente, è attivato da un segnale che deve essere fornito a ogni driver: il segnale è prodotto dai due moduli di "trigger" posti a lato degli 8 driver. In particolare uno dei due moduli di trigger, detto "oscillator", si occupa di produrre un segnale stabile di sincronismo a 80 MHz tramite un oscillatore a cristallo: da questo si possono ottenere delle frequenze di ripetizione (80, 40, 20, 10 e 5 MHz) che l'utente può selezionare. L'altro modulo di trigger, detto "sequencer", permette di attivare o disattivare ciascun driver. Non solo, il sequencer può generare ciclicamente i segnali di trigger necessari ai driver attivi per l'attivazione di un impulso della corrispondente testa laser come riportato in Figura 2.8.

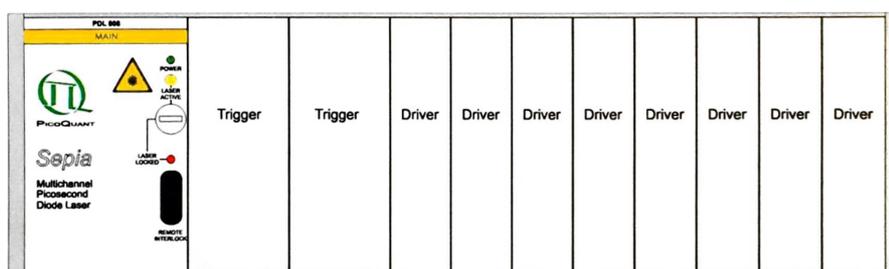
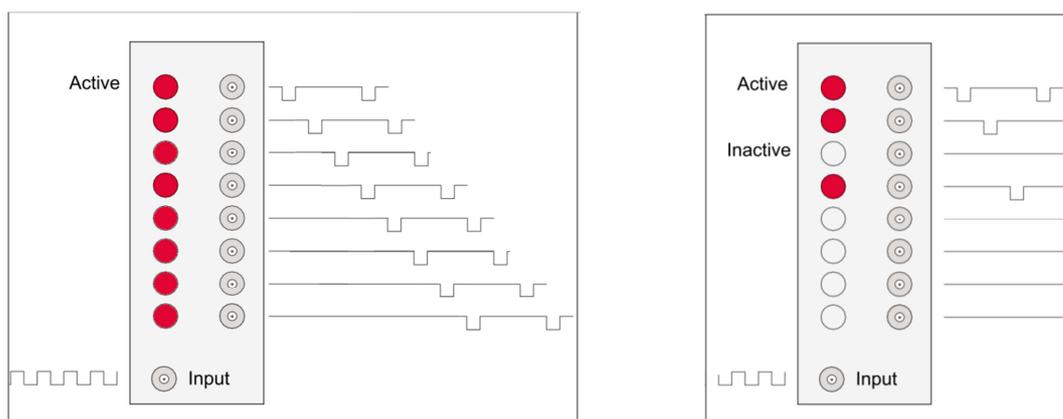


Figura 2.7: Struttura del PDL-808. Questo è composto di 8 alloggiamenti per i moduli driver e due alloggiamenti per i moduli trigger che producono i segnali di sincronismo da inviare ai primi<sup>18</sup>.

<sup>17</sup> Fonte: <https://www.picoquant.com/>

<sup>18</sup> Fonte: <https://www.picoquant.com/>



**Figura 2.8: Output del modulo sequencer con tutti i driver attivati<sup>19</sup> a sinistra. Ciascun impulso elettrico emesso dal sequencer attiva la generazione di un impulso di luce dalla sorgente laser gestita dal singolo driver. Output del modulo sequencer con solo 3 driver attivati a destra**

Quindi, quando tutti i driver sono attivi, il segnale di sincronismo a 80 MHz prodotto dall'oscillatore è diviso su 8 teste laser: questo vuol dire che ciascuna testa laser emette impulsi ad un tasso di ripetizione di 10 MHz. Quella appena descritta è in realtà una sola delle possibili configurazioni che si possono utilizzare per la produzione degli impulsi dalle teste laser ed è quella impiegata nel mammografo ottico.

### ***L'innovazione: Il Sepia II***

Come si è già detto nella nuova versione del mammografo si è eseguito un aggiornamento del driver delle teste laser: in particolare, si è sostituito il PDL-808 "Sepia", PicoQuant con una sua versione più recente, il PDL 828 "Sepia II", PicoQuant. La struttura e il principio di funzionamento sono simili tra le due versioni. Tuttavia in quella più recente sono state aggiunte ulteriori configurazioni possibili per il segnale in uscita dal sequencer, è stato ampliato il range di frequenza del segnale di sincronismo selezionabile dall'utente (da 196 KHz a 80 MHz, oppure in modalità continua), è stata progettata e sviluppata un'interfaccia software che permette di controllare l'intero strumento via USB e infine è stato introdotto un sistema di raffreddamento per migliorare la stabilità delle teste laser. Quest'ultimo punto è un importante fattore

<sup>19</sup> Fonte: <https://www.picoquant.com/>

poiché la precedente versione del *driver* soffriva di una stabilità ridotta: in particolare, anche dopo un periodo di riscaldamento dello strumento di circa 4 ore, non veniva ancora raggiunta una valida stabilità in termini di energia emessa. Come si mostrerà più avanti, invece, nella nuova versione del *driver*, si ottiene un notevole miglioramento della stabilità, raggiunta entro circa 4 ore.

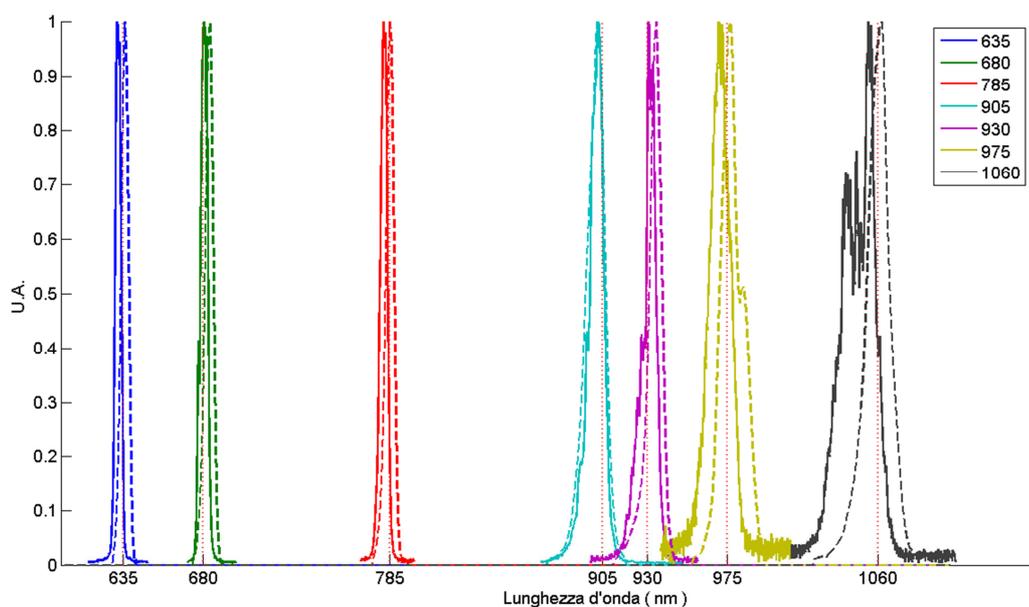
Oltre all'aggiornamento del *driver* di gestione delle teste laser, nella nuova versione del mammografo è stato necessario modificare opportunamente la durata temporale degli impulsi prodotti dalle singole sorgenti, riducendola, raggiungendo valori di larghezza a metà altezza di 150-300 ps. La necessità di ridurre la larghezza degli impulsi, legata a una caratteristica del nuovo tipo di rivelatore che sarà descritta in dettaglio in 2.2.2 – L'innovazione: Il SiPM, è avvenuta però a discapito della potenza media emessa dalle sorgenti. Tuttavia, come si vedrà nel prossimo paragrafo un elemento innovativo, in particolare la possibilità di utilizzare 8 rivelatori contemporaneamente, tende a ridurre l'impatto di una perdita di potenza di illuminazione per via della maggior efficienza di raccolta e rivelazione.

Per completezza si riportano in Tabella 2.1 le potenze emesse dalle singole teste laser prima e dopo l'operazione di ottimizzazione delle sorgenti. Si calcola inoltre il rapporto tra le due. Si può notare che è stata necessaria una riduzione di potenza da un minimo di un fattore 2 ad un massimo di un fattore 25: si valuterà in seguito se questa perdita di potenza è compensata dal maggior efficienza di raccolta e rivelazione.

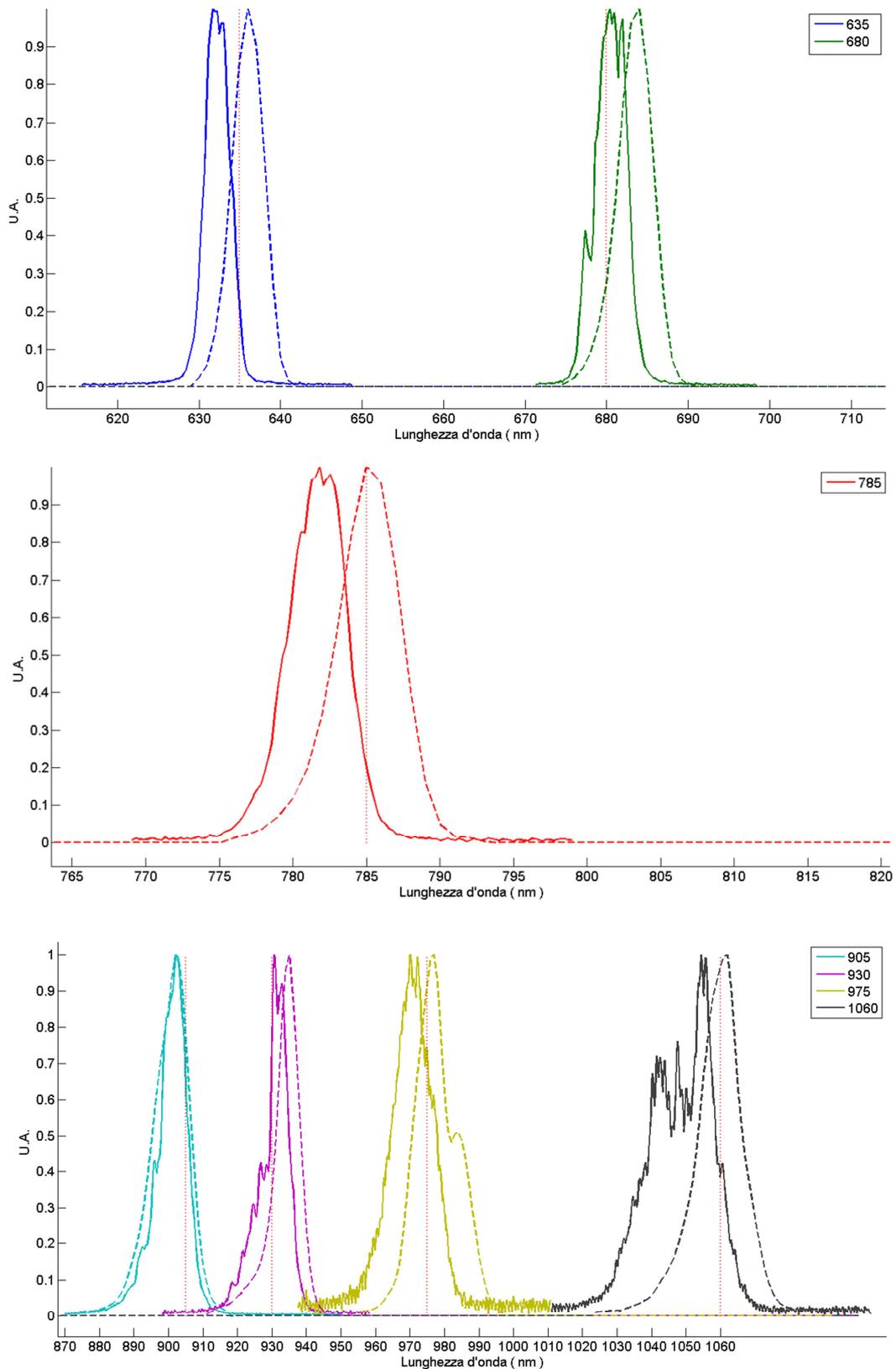
**Tabella 2.1: Potenze delle singole teste laser prima e dopo l'ottimizzazione. Si riporta anche il rapporto tra le potenze per quantificarne la perdita.**

Lunghezza d'onda (nm)	Potenza Prima ( $\mu\text{W}$ )	Potenza Dopo ( $\mu\text{W}$ )	Rapporto di perdita di potenza
637	950	130	7
683	1200	133	9
785	1100	128	9
905	1700	991	2
930	4200	210	20
975	4700	300	16
1060	3300	257	13

Nelle condizioni espresse dalla colonna “Potenza Dopo”, si è ottenuto uno spettro delle sorgenti laser utilizzate. Lo spettro completo, confrontato con quello relativo alle sorgenti con potenza descritta nella colonna “Potenza Prima”, è presentato in Figura 2.9 e degli ingrandimenti sono in Figura 2.10.



**Figura 2.9: Spettro delle sorgenti utilizzate prima (linea tratteggiata) e dopo (linea continua) la riduzione della durata temporale degli impulsi. I valori nominali delle lunghezze d'onda delle sorgenti sono indicati con la linea tratteggiata rossa**



**Figura 2.10: Ingrandimenti dello spettro completo prima (linea tratteggiata) e dopo (linea continua) la riduzione della durata temporale degli impulsi. I valori nominali delle lunghezze d'onda delle sorgenti sono indicati con la linea tratteggiata rossa.**

Si può notare nel complesso che nel corso degli anni vi sia stato un cambiamento dello spettro delle singole sorgenti e uno spostamento del baricentro dei picchi, in particolar modo per le lunghezze d'onda 680, 930 e 1060. Tuttavia, i picchi rimangono nell'intorno dei valori nominali indicati con la linea rossa tratteggiata presentando un massimo scarto di 9 ns per la 1060 e un minimo di 2 ns. In particolare, l'allargamento spettrale osservato per la 1060 nm lascia pensare ad un possibile disallineamento nell'accoppiamento in fibra a valle dell'attenuatore circolare presente sul percorso ottico oltre che un possibile degrado delle prestazioni della corrispondente testa laser.

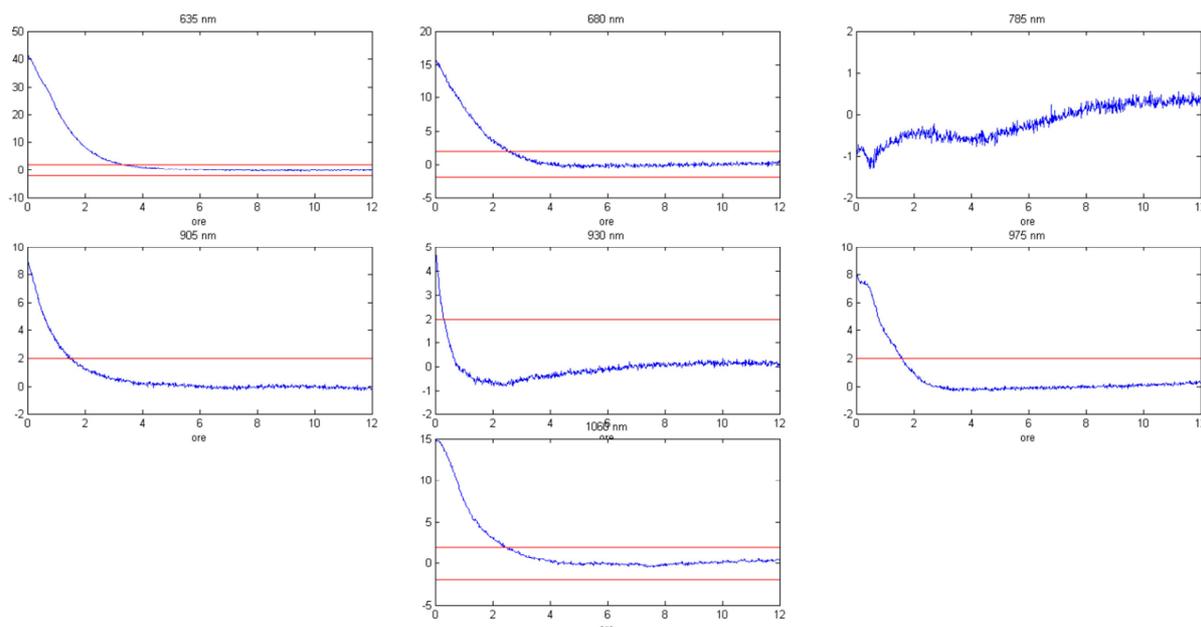
Si riporta inoltre in Tabella 2.2 la larghezza a metà altezza per lo spettro di ciascuna sorgente, prima e dopo l'ottimizzazione delle sorgenti.

**Tabella 2.2: Larghezza a metà altezza dello spettro delle singole teste laser prima e dopo l'ottimizzazione.**

Lunghezza d'onda (nm)	<i>FWHM</i>	<i>FWHM</i>
	Prima (nm)	Dopo (nm)
<b>637</b>	4,6	3,7
<b>683</b>	4,9	4,3
<b>785</b>	4,9	4,6
<b>905</b>	11,5	8,0
<b>930</b>	7,2	5,3
<b>975</b>	10,8	13,5
<b>1060</b>	12,8	19,0

Si osserva in generale una leggera riduzione del valore della larghezza a metà altezza, tranne che per la 1060 nm.

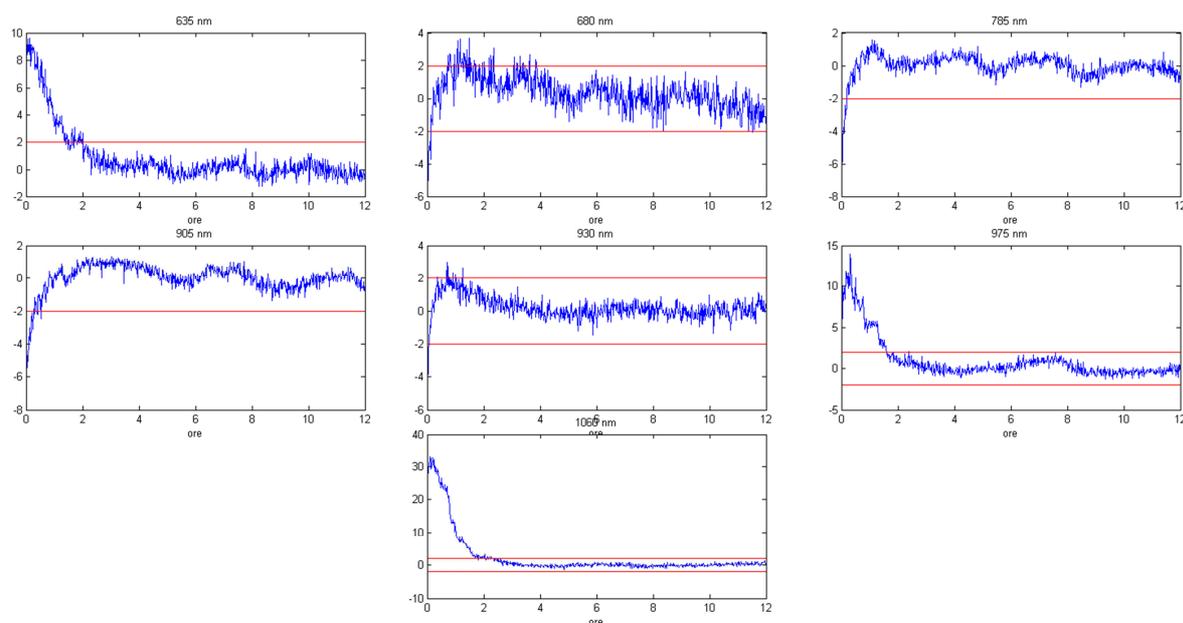
Si è eseguita inoltre una misura di stabilità per l'insieme delle sorgenti. In particolare si sono valutate le variazioni in termini di conteggi e larghezza degli impulsi lungo un lasso di tempo di 12 ore a partire da subito dopo l'accensione del sistema laser. I risultati per la variazione dei conteggi sono riassunti in Figura 2.11.



**Figura 2.11: Variazione percentuale dei conteggi rispetto alla media per ciascuna lunghezza d'onda. Le linee rosse indicano la zona di variazione all'interno del 2%**

Come si può notare dalla figura, le variazioni percentuali dei conteggi rispetto alla media, dopo 4 ore rimangono ben all'interno dell'intervallo di variazione del 2%, rappresentato dalle linee rosse.

Si riportano ora in Figura 2.12 i risultati della variazione della larghezza degli impulsi delle sorgenti valutata in termini di larghezza a metà altezza.



**Figura 2.12: Variazione percentuale della larghezza degli impulsi (FWHM) rispetto alla media per ciascuna lunghezza d'onda. Le linee rosse indicano la zona di variazione all'interno del 2%**

Anche in questo caso, dopo 4 ore di *warm up* la variazione percentuale della larghezza degli impulsi è contenuta all'interno del *range* di variazione del 2%.

Nel complesso si è mostrato quindi come dopo una fase di riscaldamento di circa 4 ore, il sistema di gestione delle sorgenti laser raggiunga un livello di stabilità molto elevato sia in termini di conteggi sia in termini di larghezza degli impulsi emessi.

## 2.2.2. Il rivelatore

### *La configurazione di partenza: Il fotomoltiplicatore*

Circa un secolo fa era inventato il tubo fotomoltiplicatore o *PMT*, dall'inglese *Photomultiplier Tube*. Nel corso degli anni le prestazioni si sono evolute e il loro costo, all'inizio elevato, è sceso, ma il funzionamento di base, rappresentato in Figura 2.13, è rimasto immutato: i fotoni impattano su una superficie che per effetto fotoelettrico emette elettroni che sono poi accelerati, attraverso differenze di potenziale crescenti, e moltiplicati per emissione secondaria da una serie di elementi metallici detti dinodi. Gli impulsi di corrente così prodotti possono quindi essere utilizzati dai circuiti di conteggio.

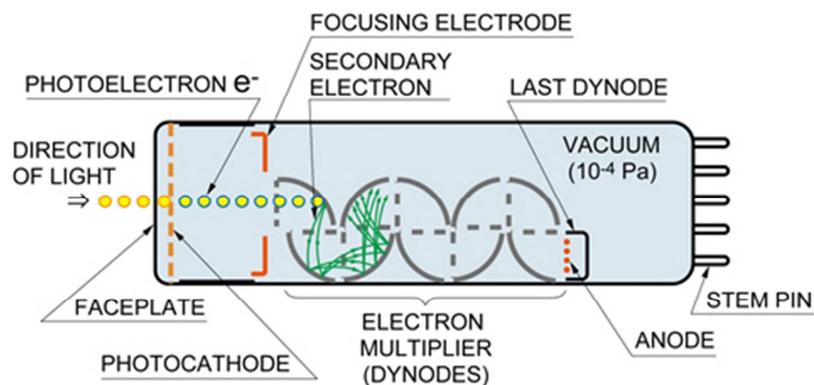


Figura 2.13: Principio di funzionamento di un tubo fotomoltiplicatore<sup>20</sup>

<sup>20</sup> Fonte: <http://www.hamamatsu.com>

I fotomoltiplicatori sono caratterizzati da un grande guadagno dell'ordine di  $10^6 - 10^7$  ed è possibile ottenere in casi particolare aree sensibili molto grandi, con diametro fino a 50 cm. Inoltre hanno una buona risoluzione temporale: il tempo di salita dell'impulso di uscita è inferiore al nanosecondo e alcuni *PMT* hanno una *Transit Time Spread*, che è minore di 250 ps. Inoltre il conteggio di buio è ridotto, pari in generale a qualche centinaio di fotoni al secondo. Tuttavia il più grande svantaggio dei *PMT* è che sono estremamente sensibili ai campi magnetici, alcuni tipi anche a quello terrestre. Inoltre l'efficienza quantica<sup>21</sup> è in genere dell'ordine del 25% e solo con particolari materiali si sale al 45%, ma contestualmente aumenta notevolmente anche il costo. Un ulteriore svantaggio riguarda l'elevata tensione richiesta (1000 – 2000 V) per il funzionamento del *PMT*. I *PMT* sono inoltre in genere ingombranti, estremamente sensibili ad eccessi di illuminazione con l'eventuale rischio di danneggiamento e, come precedentemente detto (si veda 2.1), si necessita di differenti rivelatori in base allo spettro di luce che si vuole rivelare.

Esistono delle alternative ai *PMT*, come ad esempio i fotomoltiplicatori ibridi che utilizzano elementi di silicio al posto dei dinodi come moltiplicatori di elettroni. Gli elettroni vengono poi raccolti da un diodo in silicio che produce coppie elettrone-lacuna. Il guadagno di tali sistemi è di circa 5000 e hanno ridotte fluttuazioni del processo di amplificazione rispetto al segnale prodotto. Queste fluttuazioni sono inoltre minori rispetto ai normali *PMT*<sup>(36)</sup>.

Il *PMT* montato sullo strumento di mammografia ottica utilizzato dal gruppo del Politecnico di Milano per la rivelazione della luce visibile è il modello *R5900U-01-L16* prodotto dalla *Hamamatsu Photonics, Giappone* (~3 K€). Questo fotomoltiplicatore, alimentato da una tensione di 900 V, è sensibile a fotoni tra 300 e 850 nm ed è caratterizzato da un guadagno di  $10^6$  grazie ad una struttura a 10 stadi di amplificazione. L'area efficace di raccolta è pari a  $0.8 \times 16 \text{ mm}^2$ . Il *PMT* ha una risposta temporale quantificata con un tempo di 600 ps per il fronte di salita dell'impulso in uscita e una larghezza di 180 ps per la *Transit Time Spread*. I conteggi di buio, causati dalla generazione termica di elettroni, sono mantenuti a 10 conteggi al secondo a 25°C<sup>(37)</sup>.

---

<sup>21</sup> L'efficienza quantica è definita in questo caso come il rapporto tra il numero di elettroni prodotti rispetto al numero di fotoni incidenti.

Per la rivelazione della luce infrarossa la scelta è limitata poiché non sono molti i *PMT* che si spingono in risposta spettrale oltre i 900 nm. Si utilizza il modello H7422P-60 della *Hamamatsu Photonics* (~5 K€) la cui risposta spettrale copre le lunghezze d'onda escluse dal precedente *PMT* fino a 1100 nm. Il dispositivo possiede un'area efficace di diametro pari a 5 mm e un conteggio di buio di circa 130 conteggi al secondo a 25°C. Per quanto riguarda le prestazioni temporali invece il fronte di salita dell'impulso in uscita ha una durata di circa 1 ns<sup>(38)</sup> e una *Transit Time Spread* di circa 200-350 ps<sup>(39)</sup>.

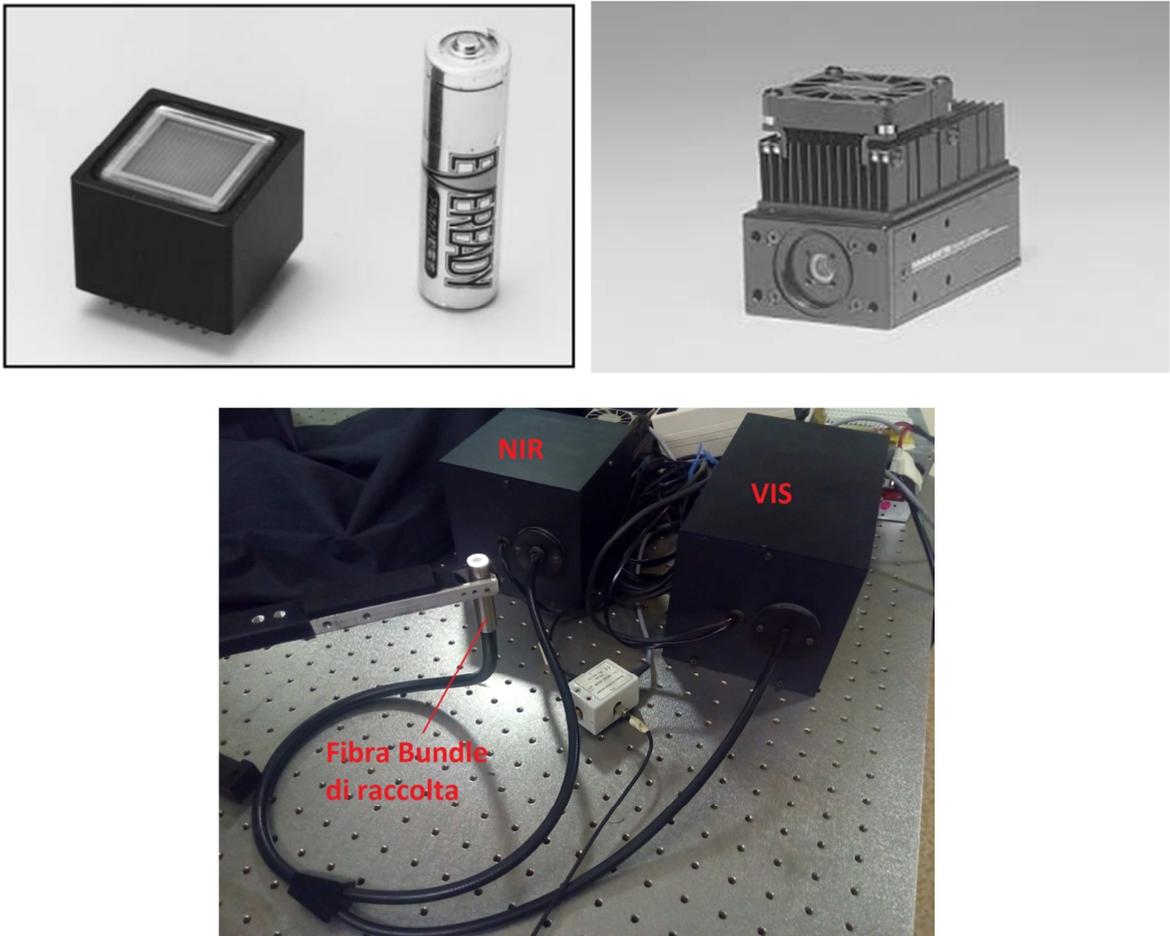
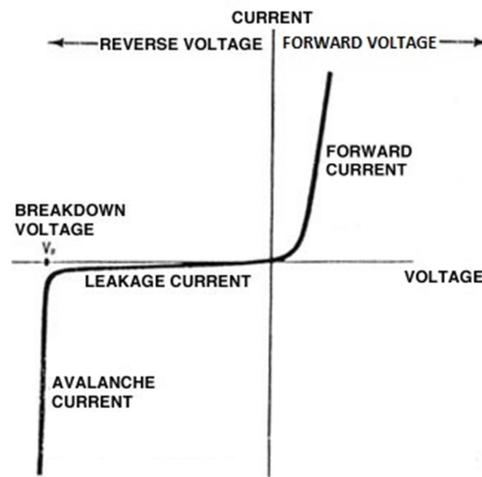


Figura 2.14: Sopra: sulla sinistra il fotocatodo del R5900U-01-L16 per la radiazione visibile, sulla destra il H7422P-60 per la radiazione infrarossa<sup>(38; 37)</sup>. Sotto, i due *PMT* con la fibra bundle di raccolta della luce in uscita dal seno.

**L'innovazione: Il SiPM**

Il *SiPM*, acronimo di *Silicon Photomultiplier* (Fotomoltiplicatore al silicio), è costituito da due componenti principali: un *Single-Photon Avalanche Diode* (Diodo a valanga da singolo fotone) o *SPAD* e la sua resistenza di *quenching* o spegnimento.

Uno *SPAD* consiste in un *Avalanche Photo Diode* (*APD*), utilizzato in un particolare stato di polarizzazione, oltre la tensione di *breakdown*: in queste condizioni un diodo entra in una modalità di funzionamento in cui la corrente prodotta cresce velocemente con la tensione applicata come si può vedere da Figura 2.15 che riporta la caratteristica tensione corrente di un diodo.



**Figura 2.15: Tipica caratteristica tensione corrente di un diodo**

Il funzionamento di un *APD* è rappresentato in Figura 2.16. Un fotone che incide sulla superficie del dispositivo crea una coppia elettrone-lacuna nella sottile zona drogata p. Gli elettroni poi migrano verso la zona ad alto campo elettrico verso la giunzione p-n dove creano elettroni secondari per ionizzazione che a loro volta creano elettroni terziari e via dicendo. Le lacune invece vengono accelerate in senso contrario a quello degli elettroni e possono ionizzare generando un'altra coppia elettrone-lacuna. Attraverso questa reazione positiva si viene a creare una valanga di elettroni, da qui il nome fotodiodo a valanga, che diviene poi un impulso misurabile, la cui ampiezza dipende dalla tensione di polarizzazione. La reazione positiva tuttavia è responsabile anche delle fluttuazioni statistiche nel processo di amplificazione che sono maggiori rispetto a quella dei *PMT*. Il guadagno ottenibile può essere di un fattore mille o più ma dipende dalla

tensione di polarizzazione a cui è sottoposta la giunzione, così come le fluttuazioni statistiche del processo di amplificazione.

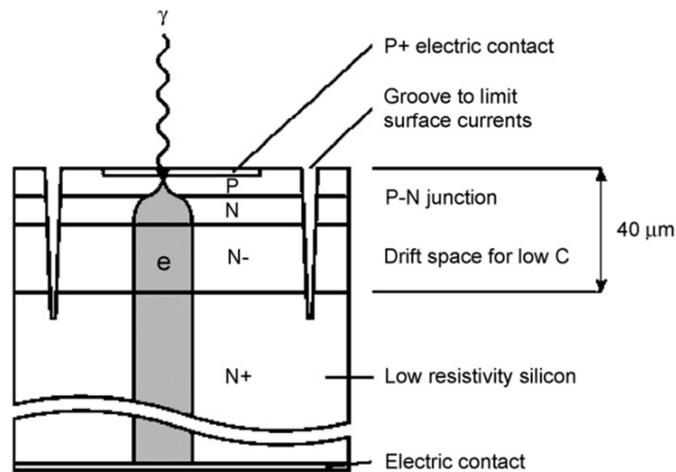


Figura 2.16: Struttura e principio operativo di un APD<sup>(36)</sup>

Se si polarizza un normale APD a una tensione di polarizzazione inversa maggiore di quella del *breakdown*, questo può essere utilizzato nella modalità “Geiger”, cioè risulta capace di rivelare il singolo fotone incidente producendo un impulso dalle caratteristiche ben definite, generando lo stesso segnale anche nel caso di rivelazione di due o più fotoni. In queste condizioni, infatti, il campo elettrico all’interno della giunzione è talmente elevato che un singolo portatore di carica generato nella zona di svuotamento della giunzione p-n riesce a innescare un processo di moltiplicazione a valanga, che si autosostiene grazie alla forte reazione positiva. In questo modo è possibile rilevare il singolo fotone che inneschi il processo di valanga e il dispositivo prende il nome di *Single Photon Avalanche Diode* o SPAD.

Se poi si riesce tramite un circuito, detto di *quenching* o spegnimento, a spegnere il processo di valanga poco dopo l’innescio, ad esempio abbassando momentaneamente la tensione di polarizzazione per poi ripristinarla, è possibile rivelare un successivo fotone e così via creando un rivelatore di singoli fotoni. Uno dei metodi per realizzare un circuito di spegnimento, rappresentato in

Figura 2.17, è quello di introdurre una resistenza di valore elevato, un centinaio di kΩ, in serie alla sorgente di tensione di polarizzazione di modo che la corrente di valanga si spenga facendo diminuire la tensione di alimentazione fino a valori prossimi

*breakdown*. La piccola resistenza in serie verso massa è necessaria per misurare l'impulso di corrente di valanga<sup>(36; 40)</sup>.

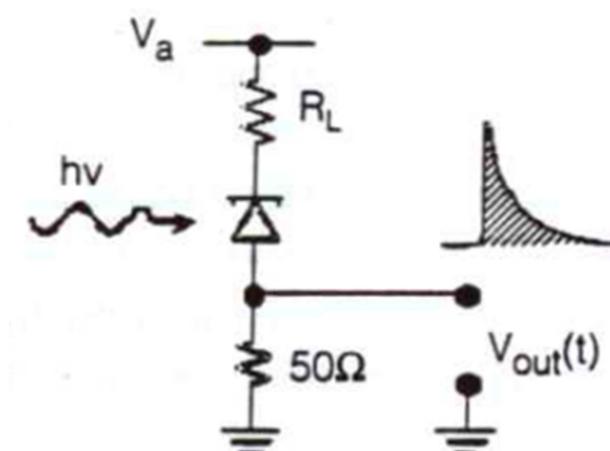


Figura 2.17: Schema elettrico del circuito di polarizzazione per lo spegnimento<sup>(40)</sup>

I primi dispositivi formati da un APD e un circuito di spegnimento, noti come *SiPM*, vennero realizzati in Russia alla fine degli anni 90 e da allora hanno seguito una forte evoluzione in termini di prestazioni: oggi, un *SiPM* consiste in un array di centinaia o migliaia microcelle. Ognuna include uno *SPAD* e la sua resistenza di *quenching*. Una possibile implementazione è rappresentata in Figura 2.18.

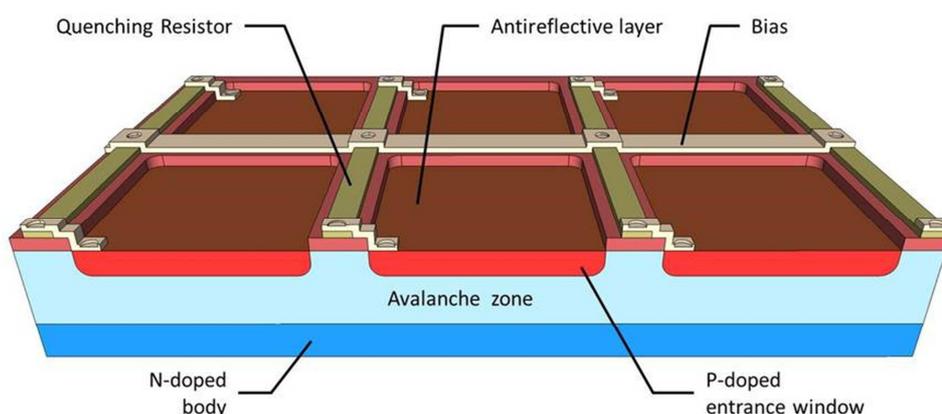


Figura 2.18: Struttura del singolo *SiPM* simile a quello utilizzato nel mammografo. Sono rappresentate 4 celle delle circa 400 presenti. La resistenza di spegnimento è integrata a lato della zona drogata p<sup>22</sup>

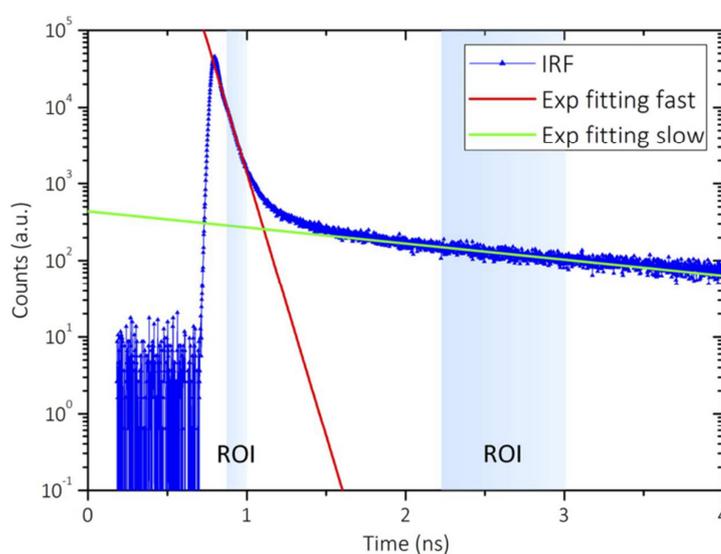
<sup>22</sup> Fonte: <http://www.ketek.net/>

Tutte le microcelle sono connesse in parallelo con un elevato *fill-factor* (anche maggiore del 60%) formando così un unico anodo e un unico catodo. Il dispositivo in uscita genera un impulso analogico con ampiezza proporzionale al numero di microcelle nella quale è stata attivata la valanga dal singolo fotone. Seppur un enorme sviluppo alla tecnologia dei *SiPM* nell'ultimo decennio sia arrivato dal campo della fisica delle alte energie, con lo scopo di sostituire i rivelatori fragili, ingombranti e costosi come i *PMT*, questi sono stati recentemente introdotti anche in campi dove vengono impiegati segnali a bassa intensità come l'ottica diffusiva. Un ulteriore esempio di applicazione commerciale dei *SiPM* lo si ha nei macchinari per la *PET*<sup>(41)</sup>. I *SiPM* sono particolarmente interessanti per sostituire i *PMT* nell'ottica diffusiva per svariati motivi<sup>(42; 36)</sup>:

- area attiva estesa (fino a qualche  $mm^2$ ) e una grande apertura numerica che portano ad una grande efficienza di raccolta;
- efficienza quantica >20% a 600 nm;
- guadagno dell'ordine di  $10^5 - 10^7$ ;
- copertura spettrale larga, da 350 nm a 1000 nm ;
- basso costo ( $\sim 100$  \$) ;
- compattezza, grazie all'elettronica integrata;
- robustezza per via della ridotta sensibilità ai campi elettromagnetici e a una forte esposizione alla luce e agli shock;
- tempo morto in principio nullo. Infatti, se una singola cella è attivata a seguito dell'arrivo di un fotone, tutte le altre sono pronte per la rivelazione dei successivi fotoni essendo le celle indipendenti tra loro. Nella realtà il tempo morto di misura è legato alla velocità dell'elettronica di *read out* e cioè da quell'elettronica che permette processare il segnale prodotto dal *SiPM*: in genere questa è limitata a tempi dell'ordine del nanosecondo.

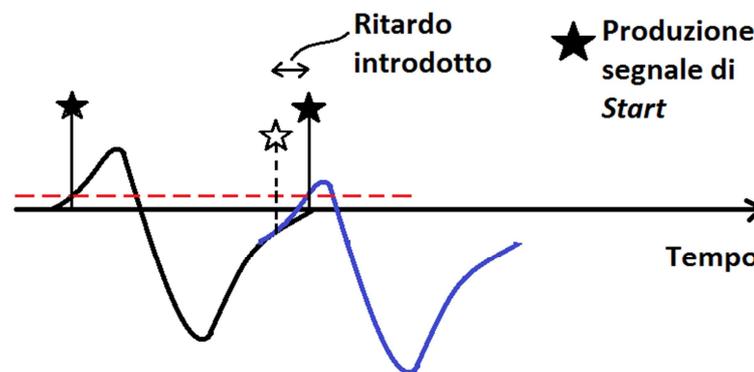
Negli anni passati tuttavia, i *SiPM* erano caratterizzati da un elevato rumore di fondo (qualche Mcps) di cui la generazione termica ne è la principale responsabile, e che sopraffaceva il debole segnale ottico e saturare l'elettronica di *TCSPC*: ciò li rendeva inutilizzabili per le tecniche *TCSPC*. Nel corso degli ultimi anni invece l'utilizzo dei *SiPM* nell'ottica diffusiva è cresciuto poiché le loro prestazioni in termini di rumore di fondo sono di gran lunga migliorate raggiungendo un valore di circa 100 Kcps. Un ulteriore

limite riguardava la risoluzione temporale dei dispositivi commerciali essendo in genere di alcune centinaia di picosecondi, quindi non particolarmente adatta per alcune applicazioni di tecniche nel dominio del tempo. In realtà, nella particolare applicazione del mammografo ottico, l'allargamento che subisce l'impulso laser attraversando il tessuto è in genere sufficientemente grande (dell'ordine di qualche nanosecondo) da non richiedere necessariamente prestazioni di molto inferiori a 200 ps in risoluzione temporale. Ultimamente tuttavia sono stati effettuati diversi studi, in particolare al Politecnico di Milano, che hanno permesso una caratterizzazione di alcuni *SiPM* e un miglioramento della risposta temporale attraverso un'elettronica dedicata, ottenendo i migliori valori di risoluzione al momento presenti sul mercato<sup>(42; 43)</sup>. È stata individuata, nei *SiPM* analizzati, una particolare coda nella risposta temporale di cui un esempio è mostrato in Figura 2.19: questa è, infatti, formata in realtà da due componenti, una molto veloce con una costante di tempo ridotta pari a circa 90 ps, e una seconda coda che inizia circa tre decadi al di sotto del picco, con una costante di tempo di qualche nanosecondo e che quindi limita il *range* dinamico a tre ordini di grandezza. I valori delle costanti di tempo sono variabili in base al dispositivo utilizzato ma sono utili per avere un'idea delle tempistiche relative delle due componenti delle code: nei primi studi effettuati non era ancora ben chiaro se questa composizione potesse avere degli effetti o meno sulla ricostruzione dei parametri ottici.



**Figura 2.19: Tipica *IRF* sulla quale sono evidenziate due zone di interesse (ROI). In queste zone è applicata una regressione esponenziale per calcolare le costanti di tempo del decadimento lento e di quello veloce. *SiPM Hamamatsu Photonics*<sup>(43)</sup>**

La natura della prima coda, quella con un decadimento veloce, è probabilmente legata all'elettronica di lettura del segnale la quale utilizza sostanzialmente un filtro passa alto (R-C). Si deve considerare, infatti, che il segnale proveniente dall'amplificatore posto a valle del *SiPM* è caratterizzato da un forte e molto veloce picco positivo seguito da uno negativo di centinaia di picosecondi di durata. Se un fotone incide durante questo picco negativo, producendo un segnale del tipo sopra descritto, il filtro passa alto potrebbe portare alla rivelazione ritardata del segnale stesso producendo quindi una "coda" nella risposta del sistema. In altre parole: il filtro passa alto può portare a variazioni della linea di base del segnale che si traducono in una rivelazione ritardata e quindi in una coda della curva. Lo schema in Figura 2.20 può aiutare nella comprensione.

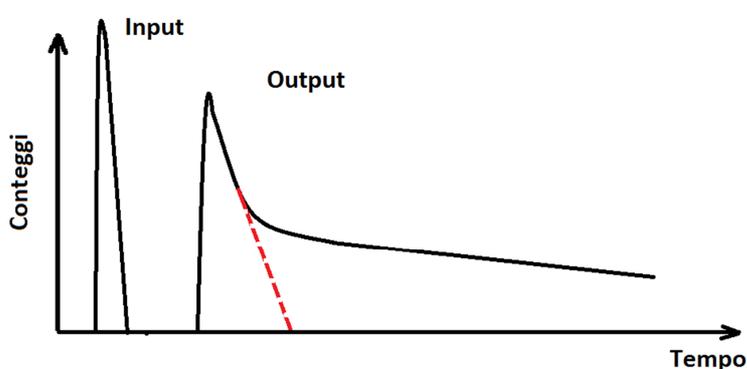


**Figura 2.20: Rappresentazione dell'effetto dell'elettronica di lettura del segnale proveniente dal *SiPM*. Gli impulsi prodotti hanno un rapido picco positivo seguito da uno lungo negativo (in nero). Se un altro fotone incide, produce un segnale (in blu) che si accavalla sulla parte negativa non ancora esaurita del precedente impulso: questo porta a una identificazione ritardata dell'arrivo del fotone stesso utilizzando una soglia fissa (tratteggio rosso).**

La seconda coda lenta invece potrebbe essere attribuibile alla generazione di portatori di carica nel substrato del dispositivo e non in prossimità della zona svuotata della giunzione p-n. I portatori generati lontano dalla giunzione, infatti, per essere amplificati (e cioè per generare la valanga) devono prima diffondere verso la giunzione stessa. Questo processo di diffusione richiede tempo che si traduce in una coda con una lunga costante di tempo nella risposta del rivelatore. Una discussione più approfondita è riportata in (43).

In 2.2.1 si è accennato alla necessità di ridurre la durata temporale degli impulsi delle sorgenti. Questo si rende necessario perché, da precedenti misure, si è compreso che il

*software* preposto alla stima dei parametri ottici dalla curva di distribuzione di fotoni non fornisce risultati corretti per via della presenza della coda lenta nella risposta del *SiPM*. Questa tende, infatti, a mascherare e alterare proprio quella zona della curva di distribuzione dei fotoni che contiene maggiormente l'informazione riguardo l'assorbimento del tessuto, come detto in 1.6.2 e come mostrato in Figura 2.21. L'informazione contenuta nella coda della curva risulta quindi ora maggiormente compressa per via della lunga costante di tempo rispetto al caso in cui non vi fosse nessuna distorsione.



**Figura 2.21: L'input è un impulso generato dalla sorgente laser. La linea continua rappresenta la curva di distribuzione di fotoni all'uscita del tessuto rivelata tramite il *SiPM*, quella tratteggiata rossa è il caso in cui non fosse presente la coda caratteristica del *SiPM* stesso. Quest'ultima distorce la curva in una zona di interesse per ricavare informazioni sull'assorbimento del tessuto.**

Questo effetto è maggiormente amplificato nel caso si utilizzassero degli impulsi di ingresso con una più alta durata temporale. In questo caso, infatti, ne consegue anche una maggiore durata temporale della curva in uscita dal tessuto, che comporta un'ulteriore compressione dell'informazione contenuta nella forma della curva.

Se si utilizzano quindi degli impulsi con elevata durata temporale in concomitanza con una rivelazione attraverso *SiPM*, gli effetti di ridotta sensibilità si sommano risultando in una complessiva impossibilità di stimare correttamente i parametri ottici. Per questo motivo, si è proceduto alla riduzione della durata temporale degli impulsi utilizzati che ora è dell'ordine di 150-300 ps.

Tutto ciò, come già detto, è stato compreso poiché a seguito della riduzione della durata temporale degli impulsi il *software* stimava correttamente i valori dei parametri ottici.

Nonostante le caratteristiche negative descritte, uno studio<sup>(42; 43)</sup> del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano ha dimostrato come, attraverso una mirata selezione dei dispositivi in commercio, assieme ad un'elettronica dedicata, si possano superare le limitazioni dell'utilizzo dei *SiPM* nelle tecniche nel dominio del tempo. Lo studio ha osservato, infatti, che il dispositivo selezionato presentava delle caratteristiche di efficienza di raccolta di fotoni maggiori della maggior parte dei rivelatori che rappresentano lo stato dell'arte nelle tecniche nel dominio del tempo e che era in grado di ricostruire correttamente le proprietà ottiche di *phantom*<sup>23</sup> solidi omogenei e *phantom* liquidi inhomogenei con inclusioni localizzate. Inoltre, il dispositivo ha mostrato di avere una risoluzione temporale intesa come *FWHM* pari a 57 ps, che rappresenta attualmente il miglior risultato riportato in letteratura. Presenta inoltre un *jitter*<sup>24</sup> temporale relativo al fronte di salita dell'impulso di uscita minore di 80 ps, riuscendo così a stabilire con molta precisione l'arrivo di un fotone.

Il rivelatore *SiPM* che è utilizzato sul mammografo ottico è in realtà composto da una matrice di otto *SiPM* indipendenti montati su un apposito supporto, il *probe*. Ciascun *SiPM* (modello C30742-11, *Excelitas Technologies, USA*) di cui uno schema è in Figura 2.18, ha un'area attiva di 1x1 mm<sup>2</sup>. Si realizza quindi, considerando 8 *SiPM*, un'area attiva totale di 8 mm<sup>2</sup>. In realtà il *fill factor* per il singolo dispositivo è pari al 51% e quindi l'area attiva reale è di 4 mm<sup>2</sup>. Il modello di *SiPM* possiede una *Transit Time Spread* di 200 ps ma con un'opportuna elettronica dedicata è stato possibile ridurre il *jitter* a circa 140 ps<sup>(42; 43)</sup>. Questi dispositivi hanno anche una discreta dipendenza del guadagno dalla temperatura quantificata in una variazione di circa il 2%/°C.

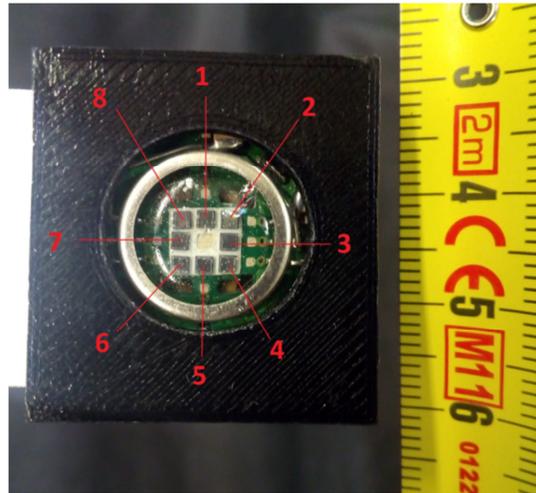
La possibilità di avere otto rivelatori integrati su una tale area attiva si traduce direttamente in una maggiore quantità di segnale raccolto che come già detto in 2.1 è uno dei principali scopi che si vuole perseguire nell'aggiornamento alla nuova versione del mammografo ottico.

In Figura 2.22 e Figura 2.23 sono mostrati rispettivamente l'insieme degli 8 *SiPM* utilizzati e il supporto che li sostiene e permette la loro movimentazione rigida.

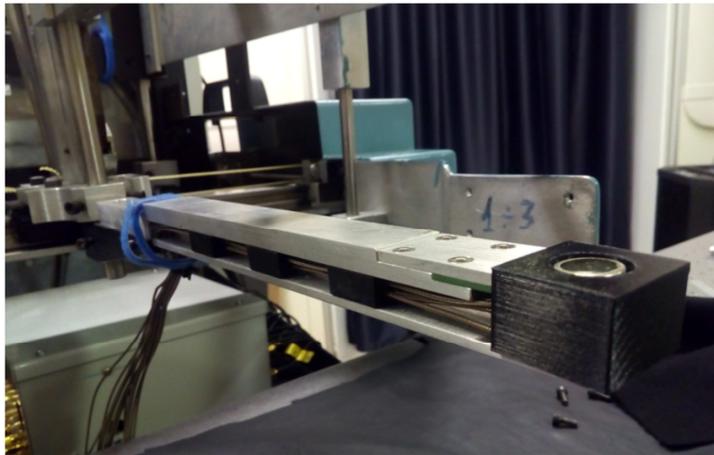
---

<sup>23</sup> Un *phantom* è un mezzo diffusivo creato in laboratorio in modo che abbia delle precise proprietà in termini di assorbimento e scattering

<sup>24</sup> Con il termine *jitter* si intende la fluttuazione di una o più caratteristiche di un segnale



**Figura 2.22:** Ingrandimento del supporto, o *probe*, su cui sono montati gli otto *SiPM* utilizzati nel mammografo ottico.



**Figura 2.23:** Il supporto sul quale sono montati gli otto *SiPM* e che è solidale con il sistema di movimentazione.

I segnali provenienti dagli 8 *SiPM* confluiscono in una scatola contenente 8 amplificatori utilizzati per portare la tensione di 1 mV del segnale del *SiPM* stesso a qualche decina di mV. Sono presenti anche dei discretizzatori che permettono di portare i segnali ottenuti nel formato dello standard LVTTTL, cioè con segnali logici di tensione >2 V.

### 2.2.3. Il sistema di acquisizione

Veniamo ora alla descrizione del sistema di acquisizione ossia quella strumentazione che prende in ingresso gli impulsi provenienti dal rivelatore che rappresentano l'arrivo di un fotone e produce in uscita un istogramma dei conteggi di fotoni ai diversi tempi di arrivo, ottenendo quindi la curva di trasmittanza desiderata. Nell'attuale versione questa strumentazione è rappresentata da due schede di conteggio di singolo fotone *SPC130*, *Becker&Hickl*; queste saranno sostituite da uno strumento digitale di misura del tempo chiamato *Time to Digital Converter (SC-TDC-1000/08 S, Surface Concept, Germania)*. I motivi di questa sostituzione sono illustrati nei prossimi paragrafi ma riassumendo, sono legati alla possibilità di utilizzare contemporaneamente 8 rivelatori collegati ad unico strumento di acquisizione il cui costo è contenuto rispetto alle schede *SPC130*. Inoltre il basso tempo morto del *TDC* lo rende meno sensibile ai limiti di *count rate* imposti dalle più classiche schede analogiche per *TCSPC*.

#### La configurazione di partenza: La scheda per TCSPC

La struttura principale della scheda *SPC130*<sup>(20; 21)</sup> è rappresentata in Figura 2.24. Questa è una scheda per *Time Correlated Single Photon Counting* che è integrata nel PC.

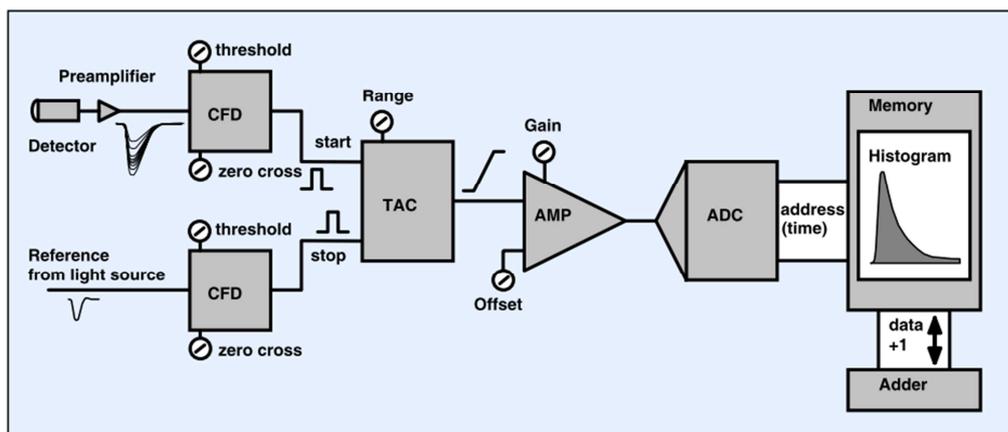


Figura 2.24: Architettura semplificata della scheda *SPC-130*<sup>(21)</sup>

Il rivelatore che in genere si accoppia con questo tipo di schede, è un *PMT*: questo genera degli impulsi per ciascun fotone incidente ma per via della variabilità del processo di amplificazione gli impulsi hanno un notevole *jitter* in termini di ampiezza. Se si utilizzasse un discriminatore a soglia fissa dell'impulso, questo potrebbe trasmettere il *jitter* in ampiezza dell'impulso in un *jitter* temporale dell'ordine del tempo di salita dell'impulso. L'alternativa è utilizzare un *Constant Fraction Divider (CFD)*: questo componente pone come livello di soglia per la discriminazione dell'arrivo di un fotone, una frazione dell'impulso che è costante ed indipendente dalla sua ampiezza riducendo così notevolmente il *jitter* temporale introdotto. In particolare il *CFD* permette di sincronizzarsi sul punto di attraversamento dello zero del segnale prodotto dalla somma dell'impulso di ingresso e una sua versione ritardata e invertita<sup>25</sup>. La Figura 2.25 rappresenta il *jitter* in ampiezza dell'impulso trasformato in *jitter* temporale tramite un comparatore a soglia fissa e quindi il *CFD* che rende indipendenti da questo effetto.

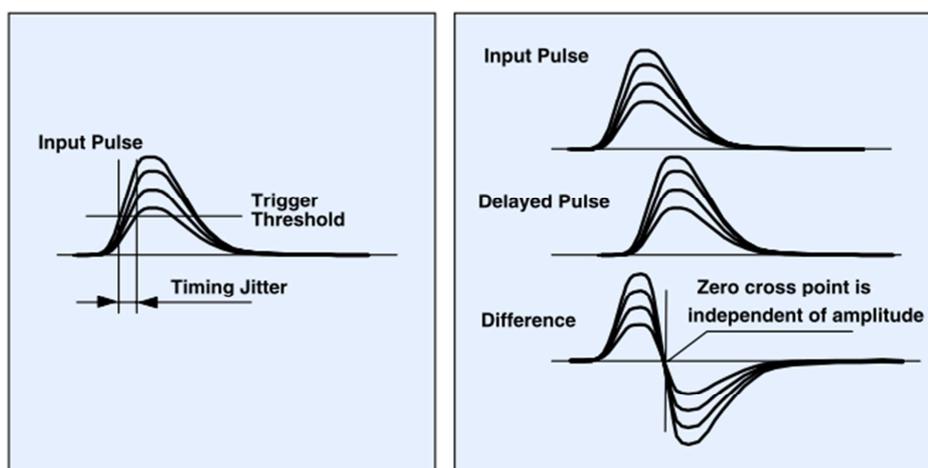


Figura 2.25: Discriminatore a soglia fissa a sinistra e discriminatore *CFD* a destra<sup>(21)</sup>

Un secondo *CFD* è necessario per il segnale di sincronismo proveniente dal laser. A volte, infatti, questo segnale è ricavato da un rivelatore *SPAD* che riceve una porzione del fascio laser e che, come già detto (si veda 2.2.2 - L'innovazione: Il SiPM) è caratterizzato

<sup>25</sup> Utilizzando un termine tecnico si parla di *trigger*, cioè quel livello di segnale attraversato il quale lo strumento di acquisizione genera un impulso che nel caso di interesse rappresenta l'arrivo di un fotone.

da fluttuazioni del processo di amplificazione i cui effetti sono ridotti tramite l'utilizzo di un *CFD*.

Gli impulsi in uscita dai *CFD* sono utilizzati come impulsi di *Start* e di *Stop* per un convertitore tempo-ampiezza, in inglese *Time to Amplitude Converter (TAC)*. Il *TAC* genera un segnale proporzionale al tempo intercorso tra l'impulso di *Start* e quello di *Stop*. In genere l'impulso di *Start* fa partire la carica di un condensatore e l'impulso di *Stop* la interrompe: se la corrente sul condensatore nell'intervallo tra i due impulsi è costante, allora la tensione finale sul condensatore è proporzionale al tempo intercorso e questo può essere quindi calcolato con estrema precisione. Il funzionamento del *TAC* è riportato in Figura 2.26.

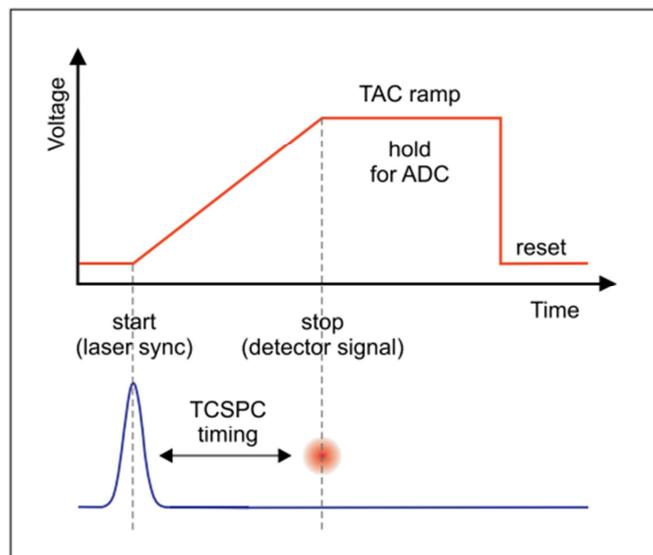


Figura 2.26: Principio di lavoro del *TAC*<sup>(22)</sup>

Il segnale prodotto dal *TAC* è prima amplificato tramite un amplificatore programmabile (*Programmable Amplifier, PGA*, "AMP" in Figura 2.24) e poi dato in pasto a un convertitore analogico digitale, in inglese *Analog to Digital Converter (ADC)*, che produce un equivalente digitale del tempo di arrivo dei fotoni: l'*ADC* deve lavorare con molta precisione perché deve risolvere il segnale proveniente dal *TAC* in migliaia di canali temporali che devono avere tutti la stessa durata. Infine l'uscita dell'*ADC* è utilizzata come un indirizzo di parola nella memoria di un PC e, incrementando il contenuto di questi indirizzi, si viene a creare la distribuzione temporale dei fotoni.

Tuttavia, la reale configurazione è spesso leggermente diversa: i segnali di *Start* e *Stop* sono invertiti. Se, infatti, si pensa che ci siano molti periodi in cui non è rivelato nessun fotone per l'ipotesi di bassa intensità del segnale (si veda 1.5), questo implica che in questi casi il *TAC* riceve il solo impulso di partenza ma non quello di *Stop* e quindi la rampa di tensione del *TAC* percorrerà la sua intera dinamica in una certa quantità di tempo. Durante questo tempo tuttavia la scheda non è in grado di rivelare ulteriori fotoni in arrivo e questo si traduce, quindi, in una maggiore quantità di tempo morto. Questi eventi non rappresentano un problema se si lavora a bassa frequenza di ripetizione del laser, ma per sorgenti tra i 50 e i 100 MHz il *TAC* dovrebbe essere resettato ogni 10 o 20 ns e quindi è preferibile un'alternativa per evitare sollecitazioni inutili dell'elettronica. L'alternativa è, appunto, la configurazione con i segnali di *Start* e *Stop* invertiti in modo da far partire il *TAC* solo quando è rivelato un fotone e fermarlo al successivo impulso di sincronismo per poi scaricare il condensatore. Questo implica che il *TAC* lavori ad un tasso di attivazione che è quello della rivelazione del fotone e non quello del gran più alto tasso di ripetizione degli impulsi di sincronismo, permettendo di ridurre così i requisiti in termini di velocità dell'elettronica. La Figura 2.24 rappresenta direttamente lo schema della scheda *SPC130* in quest'ultima configurazione.

Basandosi su questa struttura, la scheda *SPC130* permette di ottenere le seguenti prestazioni:

- Un minimo tempo di misura di 0.1 ms.
- Una minima durata di un singolo canale temporale dell'*ADC* pari a 813 fs.
- Una non linearità differenziale dovuta alla differente durata temporale dei canali che quindi assumono un diverso peso l'uno rispetto all'altro causando distorsioni nella ricostruzione della curva. Questa non linearità, minore di 2% rms, è causata principalmente dal *TAC* e dall'*ADC* ma anche da alcuni accoppiamenti tra gli impulsi di *Start* e di *Stop*, da accoppiamenti tra i cavi del rivelatore e di sincronismo, e infine tra i circuiti di *CFD*. Una buona schermatura dei cavi, delle sorgenti e del rivelatore aiuta a limitare la raccolta di rumore e quindi diminuire la non linearità differenziale.
- Un tempo morto in cui la scheda è refrattaria alla rivelazione di un successivo fotone, associato a ogni misura pari a 150 ns. Questo limita il massimo *count rate* utilizzabile e può introdurre attenuazioni e perdita di conteggi nella curva ricostruita ed errori

nella valutazione dell'intensità. Le cause del tempo morto sono legate al tempo necessario per attivare l'ADC, una volta che il TAC ha ricevuto l'impulso di *Stop*, ai tempi di operazione di conversione del sistema digitale e infine a un tempo di assestamento del TAC dopo la scarica del condensatore. Il peso di ciascun elemento dipende dalle condizioni operative quali ad esempio la durata impostata della spazzata temporale del TAC e dalle impostazioni utilizzate per la scheda. Nella Figura 2.27 si rappresenta la composizione delle principali operazioni responsabili del tempo morto.

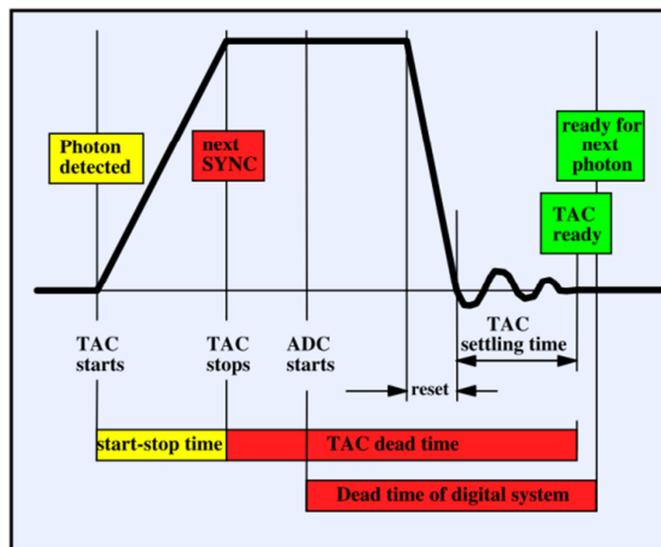


Figura 2.27: Diagramma temporale di una rivelazione di fotone e relativo tempo morto (21)

- Un *count rate* di saturazione dell'elettronica di 10 MHz, ma un *count rate* utile con il 50% di perdite di conteggi pari a 5 MHz. In particolare, la Figura 2.28 esprime la relazione tra il *count rate* del rivelatore, espresso in termini di frazione del tempo morto della scheda, e il *count rate* registrato dalla scheda: la particolare relazione è quasi del tutto dovuta all'effetto del tempo morto della scheda che causa una perdita di conteggi. Questa perdita di conteggi tuttavia è anche funzione delle condizioni operative.

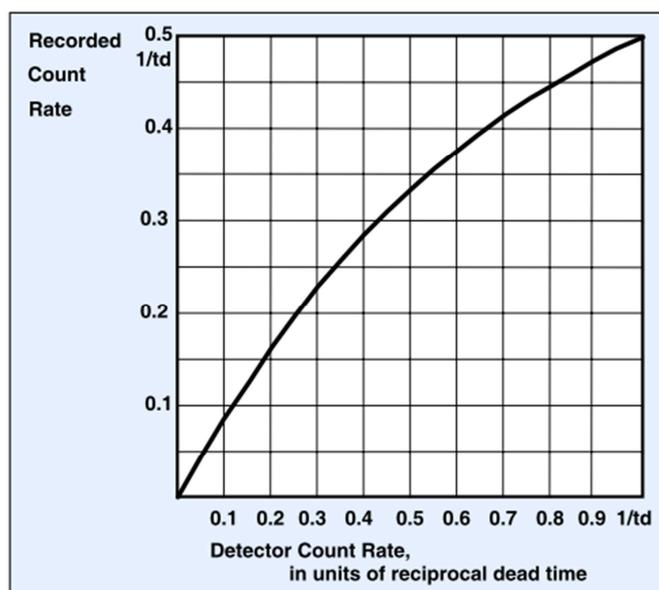


Figura 2.28: *Count rate* registrato dalla scheda con tempo morto  $t_d$  rispetto al *count rate* reale di ingresso di un rivelatore <sup>(21)</sup>

- Un massimo numero di conteggi per canale temporale pari a 65535 conteggi

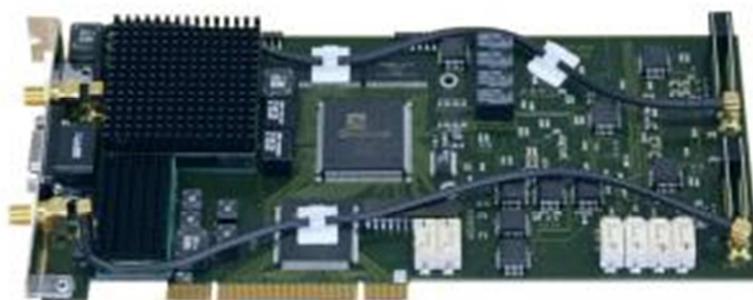


Figura 2.29: Scheda *SPC130* <sup>(21)</sup>

### *L'innovazione: Il TDC*

Il *Time-to-Digital Converter*, detto *TDC*, è uno strumento digitale originariamente sviluppato negli ambiti della fisica delle alte energie per la rivelazione di eventi che fornisce una misura digitale del tempo al quale questi sono avvenuti.

Nel caso in esame, il compito del *TDC* è di raccogliere i segnali provenienti dai rivelatori, elaborarli e successivamente fornire in uscita la distribuzione dei tempi di arrivo dei fotoni rivelati. Lo schema di funzionamento del *TDC* utilizzato (*SC-TDC-1000/08*

S, Surface Concept, Germania) nella nuova versione del MAMMOT è rappresentato in Figura 2.30.

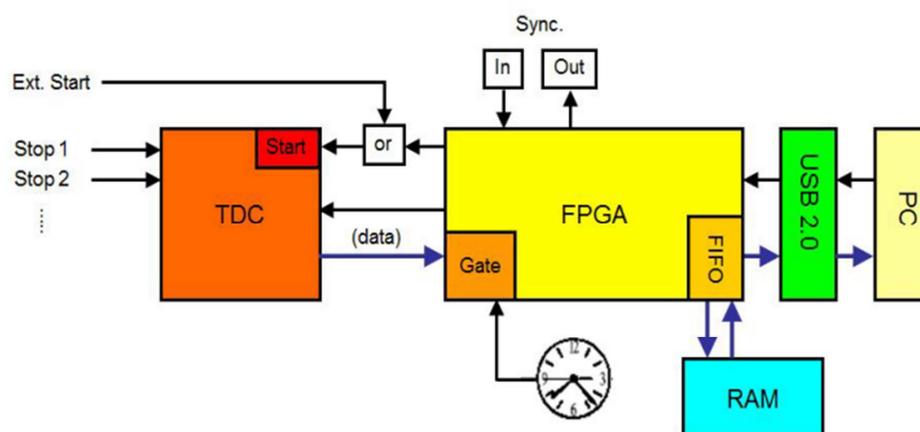
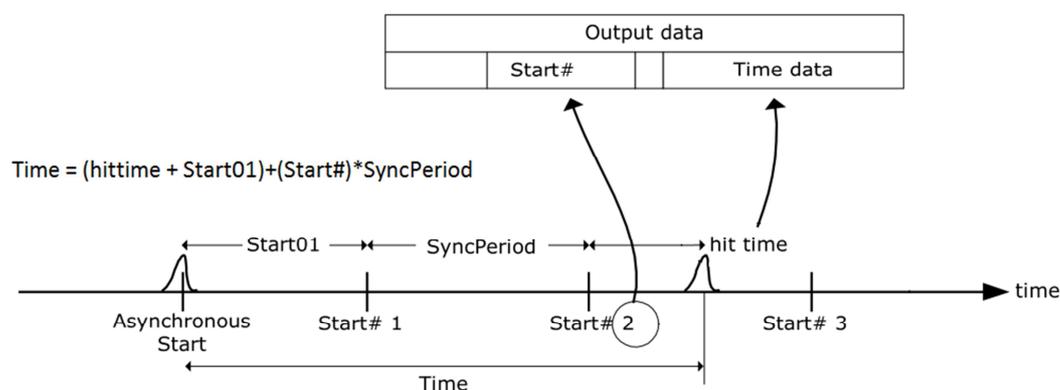


Figura 2.30: Schema e principio del TDC della Surface Concept<sup>(44)</sup>

Il segnale di *Start* è rappresentato dal segnale di sincronismo che è prodotto dal *driver* delle sorgenti laser e che è estratto da un'uscita del *sequencer* del *Sepia*, mentre i vari segnali di *Stop* sono rappresentati dai segnali provenienti da altrettanti rivelatori nel momento di rivelazione di un fotone. Il blocco denominato "TDC" nello schema di Figura 2.30 si occupa di raccogliere i segnali di *Start* e di *Stop*, di eseguire un'opportuna digitalizzazione degli impulsi analogici in ingresso e calcolare quindi le differenze temporali tra i segnali di *Stop* riferiti a quello di *Start*. In particolare, uno schema del calcolo del tempo di arrivo è riportato in Figura 2.31. Dopo l'arrivo di un primo segnale sul canale di *Start* ("Asynchronous Start" in Figura 2.31), il TDC è capace di generare al suo interno un proprio segnale di *Start* (con un periodo pari a "SyncPeriod"). Una volta giunto il segnale di *Stop* (che giunge in prossimità dell'evento di "hit"), l'intervallo temporale trascorso tra questo segnale e il rispettivo segnale di *Start* esterno, è misurato rispetto all'ultima ripetizione del segnale di *Start* interno. Il numero dell'impulso del segnale interno di *Start* cui si riferisce l'evento di *Stop* è aggiunto nel dato di output di modo che il blocco "FPGA" possa ricostruire l'ordine degli eventi. Detto in altre parole: il TDC è in grado di misurare il tempo di arrivo di un impulso esterno di *Start* in base ad un proprio *clock* interno. Allo stesso modo misura il tempo di arrivo di un impulso di *Stop*, sempre riferito al proprio *clock* interno e successivamente calcola la differenza degli

istanti di arrivo e questo è il dato in uscita che viene reso disponibile una volta digitalizzato e quindi discretizzato.



**Figura 2.31: Schema di misura del tempo di arrivo di un impulso di *Stop* all'interno del *TDC*<sup>26</sup>: “Asynchronous Start” rappresenta il segnale di Start proveniente dal segnale di sincronismo del laser. “Start” il segnale del sincronismo interno. “hit time” è l’arrivo del segnale di *Stop*. Il dato in uscita contiene il numero della ripetizione dell’impulso interno di *Start* (Start#) e il tempo tra l’ultima ripetizione di questo e l’istante di “hit”. “Start01” è il tempo che intercorre tra il segnale di *Start* esterno e la generazione di segnale interno di *Start***

Il blocco “*FPGA*”, acronimo di *Field Programmable Gate Array*, cioè un circuito integrato programmabile, si occupa invece di gestire i così detti *time stamp* cioè i valori delle differenze temporali provenienti dal *TDC*, di riorganizzarli in base al numero dell’impulso del segnale interno di *Start* e renderli disponibili per il PC. Ha quindi principalmente una funzione di interfaccia tra il *TDC* e il PC. In particolare, la *FPGA* salva in una memoria *First-In-First-Out* del dispositivo il valore dell’intervallo di tempo trascorso, che è un valore digitale, assieme ad un identificativo dell’impulso di *Start* corrispondente. Successivamente questi dati vengono trasferiti ad una memoria *RAM* che permette un più facile interfacciamento con il PC. In questo modo nella memoria si accumulano dei dati che sono i tempi di arrivo dei fotoni e che possono essere poi riordinati per ottenere gli istogrammi di distribuzione temporale dei fotoni. La riletture della memoria avviene definendo un blocco virtuale detto “*pipe*” che ha il compito di scorrere la memoria, leggerla e liberarla al tempo stesso e successivamente produrre

<sup>26</sup> Fonte: <http://www.acam.de>

l'istogramma. Questo è poi trasmesso al computer tramite una comunicazione seriale USB 3.0.

Per completezza si riporta il diagramma a blocchi completo del *TDC* in questione.

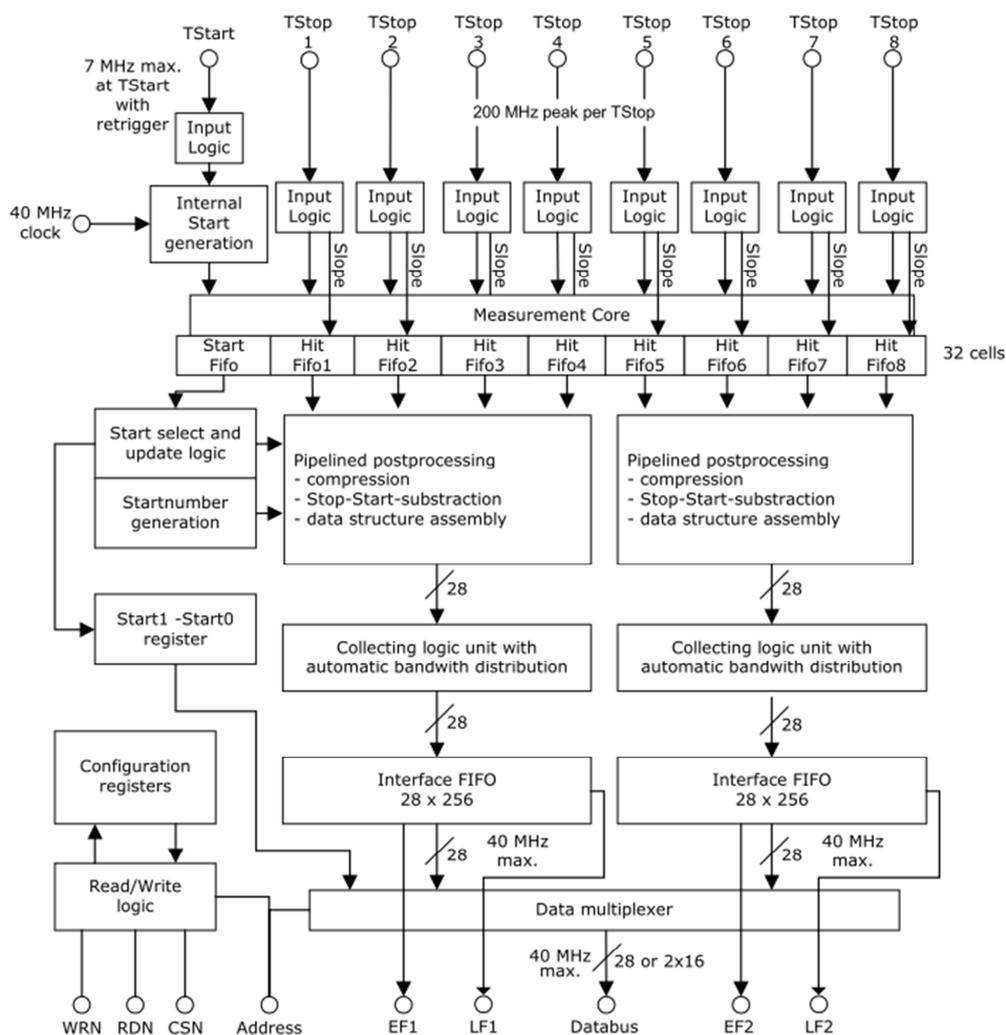


Figura 2.32: Schema a blocchi del *TDC* utilizzato<sup>27</sup>

Il *TDC* utilizzato sullo strumento di mammografia ottica è il *SC-TDC-1000/08 S*, *Surface Concept, Germania*, rappresentato in Figura 2.33, che per comodità di terminologia sarà chiamato semplicemente *TDC*. Questa versione dello strumento è equipaggiata con otto canali di *Stop* e un canale di *Start*. Su ogni canale la risoluzione temporale del bin, ossia la larghezza temporale in cui è divisa la scala dei tempi dell'istogramma, è pari a 82.3 ps, tuttavia il *jitter* intrinseco del *TDC* è di circa 100 ps. Lo

<sup>27</sup> Fonte: <http://www.acam.de>

strumento possiede un limite sulla frequenza del segnale che è possibile fornire sul canale di *Start* e cioè la frequenza del segnale di *retrigger*: questo limite è fissato a 7 MHz. Per quanto riguarda il massimo *count rate* ottenibile dallo strumento bisogna considerare due aspetti principali: il primo è il massimo tasso di trasferimento di dati che, utilizzando la comunicazione seriale USB 3.0, è di circa 60 Mcps, il secondo limite riguarda le prestazioni del *chip* di conversione che non può processare impulsi di *Stop* se questi hanno una distanza temporale tra di loro minore di 5.5 ns. Nel complesso il *chip* è in grado di processare 40 Mcps distribuiti su tutti gli ingressi (5 Mcps per ingresso).



Figura 2.33: TDC modello SC-TDC-1000/08 S della Surface Concept<sup>(44)</sup>

Queste caratteristiche, cioè una buona risoluzione temporale, il ridotto tempo morto e l'alto tasso di conteggi al secondo processabile, rendono lo strumento compatibile e molto interessante per le applicazioni *TCSPC* e per questo motivo si è deciso, anche tramite questo lavoro di tesi, di analizzare più in dettaglio le prestazioni e il comportamento del *TDC* all'interno del mammografo ottico. Un ulteriore vantaggio è il costo ridotto dello strumento ( $\sim 6000$  € per 8 canali) se paragonato a quello della scheda *SPC130* ( $\sim 8.000$  € per canale). Inoltre, come già detto, il *TDC* permette la connessione contemporanea di otto rivelatori: questo si traduce in una maggiore quantità di segnale raccogliabile e un miglioramento della significatività statistica dei dati rispetto all'unico rivelatore per *range* spettrale che caratterizza l'attuale versione del mammografo. Se anche si volessero utilizzare otto *SiPM* collegati ad altrettante schede di rivelazione *SPC130*, *Becker&Hickl* il costo necessario sarebbe troppo elevato e si avrebbero inoltre alcuni problemi di ingombro, dissipazione di potenza e alloggiamento

di un così alto numero di schede all'interno di un PC: tutti fattori che non sono favorevoli per una eventuale commercializzazione dello strumento di mammografia.

Tuttavia il lavoro di tesi svolto ha portato alla luce alcune problematiche e alcuni limiti dello strumento che verranno affrontate in dettaglio nel prossimo capitolo. Queste si possono riassumere in due punti

- La forte non linearità della scala dei tempi
- Il tempo morto di misura

Infatti, a fronte di un costo minore, i *TDC* sono in genere caratterizzati da una minore linearità e risoluzione temporale rispetto ai più classici sistemi di acquisizione, qual è la scheda *SPC130*, che utilizzano il *TAC* per la conversione temporale al posto di una conversione digitale. I sistemi di acquisizione che utilizzano il *TAC* d'altro canto hanno un ridotto numero di canali di ingresso, risultano più sensibili a disturbi esterni e la scala temporale di misurazione è in genere limitata. Al contrario, i *TDC*, per via della loro natura digitale, hanno una maggiore facilità di parallelizzazione che si traduce in un grande numero di canali disponibili e in una scala temporale che si estende anche a decine di microsecondi. La scelta del *TDC* da utilizzare è ricaduta sul modello *SC-TDC-1000/08 S* poiché è uno dei pochi strumenti commerciali che possiede 8 canali, un tasso di trasmissione di dati al PC maggiore di 1 Mcps per canale e una larghezza del canale temporale ridotta (82 ps).

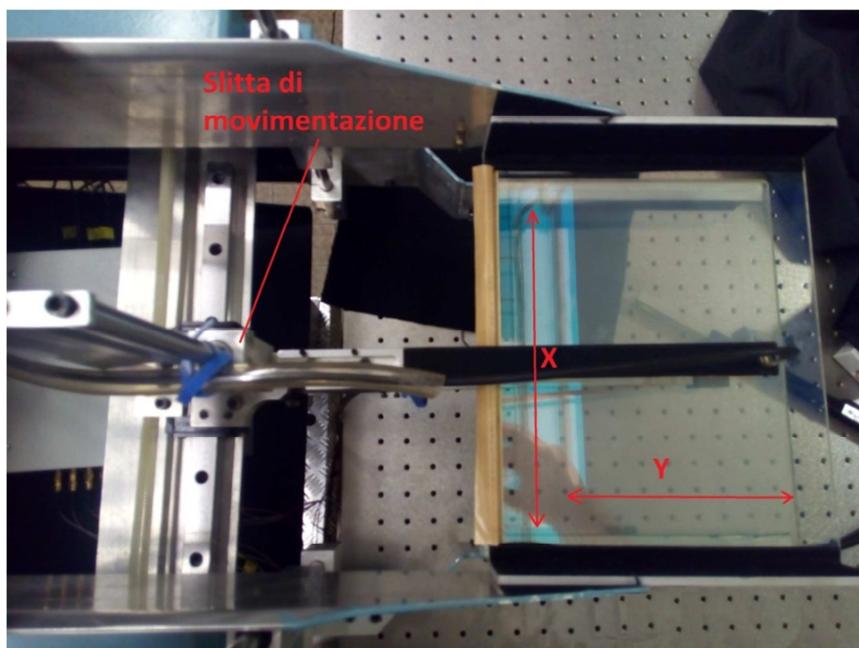
#### **2.2.4. Il sistema di movimentazione**

Nel paragrafo 2.1 si è accennato al fatto che il mammografo ottico possiede un sistema per la movimentazione del *probe* e per la scansione: ciò risulta indispensabile per poter eseguire le misure di spettroscopia, punto per punto percorrendo la superficie del seno compresso.

Il sistema di movimentazione che era in precedenza montato sul mammografo ottico ha subito importanti interventi di modifica e aggiornamento: in particolare, i cambiamenti che sono stati introdotti riguardano principalmente alcuni aspetti meccanici

e altri aspetti *software* per la gestione dei motori responsabili della movimentazione stessa.

Il sistema di movimentazione è composto da due motori elettrici passo-passo che permettono di eseguire dei movimenti sia lungo l'asse X sia lungo l'asse Y. L'asse X è definita lungo la direzione parallela al petto della paziente mentre l'asse Y lungo la direzione perpendicolare. Si riporta in Figura 2.34 una vista dall'alto di una parte del sistema di movimentazione in cui sono evidenziate le direzioni X e Y di scansione e la slitta di movimentazione che permette una traslazione lungo X.



**Figura 2.34: Vista dall'alto del sistema di movimentazione. Lungo l'asse X si eseguono movimenti in una direzione che è parallela al petto della paziente, mentre lungo l'asse Y i movimenti sono perpendicolari al petto della paziente. E' evidenziata inoltre la slitta di movimentazione che permette la traslazione lungo l'asse X.**

Per quanto riguarda gli aspetti meccanici sono state introdotte alcune componenti che hanno permesso di ridurre la rumorosità e le vibrazioni del sistema di movimentazione complessivo. In particolare, lungo la direzione Y la movimentazione avviene attraverso una vite senza fine messa in rotazione da uno dei due motori: per ridurre i contributi di rumore e vibrazioni sono stati introdotti dei giunti flessibili che fungono da raccordo tra il motore e il sistema di trazione. Lungo l'asse X invece la movimentazione avviene tramite una cinghia che trascina la slitta, mostrata in Figura 2.34, sulla quale sono montati sia il supporto per la fibra di lancio sia il *probe*. Per ridurre

lo sforzo del motore sono stati introdotti dei giunti elastici che permettono una maggiore flessibilità.

Per quanto riguarda invece le modifiche di tipo *software* si è proceduto ad un radicale aggiornamento del *driver* di gestione dei motori: questi cambiamenti hanno aperto alla possibilità di gestire in maniera efficace sia il numero di giri al secondo eseguibili dai motori sia la frazione di passi con cui questi si devono muovere. Questo aggiornamento è stato eseguito con lo scopo di ridurre il rischio di una perdita di passi quando l'unità di compressione è ruotata anche di 45°, condizione che mette sotto sforzo soprattutto il motore relativo allo spostamento lungo l'asse X. Inoltre le schede utilizzate per la gestione dei motori sono state poi, previa opportune riprogrammazioni, estese anche alla gestione dei motori che governano l'attenuazione della luce alle singole lunghezze d'onda in modo da uniformare il protocollo di gestione dell'intera movimentazione dello strumento.

Tutti i cambiamenti introdotti che sono stati descritti, sono volti a un miglioramento della gestione del sistema di movimentazione sia in termini di rumore e vibrazione ma soprattutto in termini di assenza di perdita di passi e stabilità. Farà parte del capitolo successivo una caratterizzazione del sistema di movimentazione e quindi una verifica dei risultati previsti.



# Capitolo III

## Caratterizzazione dello strumento di mammografia ottica

In questo capitolo si effettua una caratterizzazione del mammografo ottico, in particolare modo riguardo il nuovo sistema di acquisizione introdotto e il sistema di movimentazione e scansione presente. Vengono individuate e analizzate alcune problematiche riguardo il sistema di acquisizione, proponendo quindi delle soluzioni.

### 3.1. Caratterizzazione del *Time-to-Digital Converter*

Dopo aver considerato, nel capitolo precedente, l'innovazione che è stata introdotta relativamente al sistema di acquisizione, si vuole ora discutere più in dettaglio delle prestazioni e delle problematiche legate al *TDC* effettuandone quindi una caratterizzazione. In particolare si discuterà della non linearità differenziale che è stata riscontrata e del tempo morto di misura. Per evitare confusione, si specifica che con questo termine, in questo capitolo, si intende il tempo in eccesso rispetto al valore nominale del tempo di acquisizione, che è necessario allo strumento per completare una misura. Si ricorda inoltre che lo strumento possiede 8 canali indipendenti di acquisizione e un'ulteriore difficoltà è la gestione contemporanea di questi.

#### 3.1.1. La non linearità differenziale

La non linearità differenziale (*Differential Non Linearity, DNL*) è la non uniformità della larghezza dei canali temporali di un sistema di misura, nel caso di interesse del *TDC*. Poiché il numero di fotoni raccolti in un dato canale temporale è proporzionale alla larghezza del canale stesso, ogni non uniformità si manifesta come una distorsione del numero di conteggi della curva di distribuzione dei fotoni: cioè può risultare

nell'introduzione di errori in fase di ricostruzione dei parametri ottici. È quindi importante identificare e caratterizzare questa *DNL* per poter effettuare delle opportune compensazioni.

Durante il processo di caratterizzazione del *TDC* si è notato che lo strumento, per ognuno degli otto canali è affetto da *DNL* la cui causa principale è da ricercarsi nella non linearità dei meccanismi di conversione temporale all'interno della *FPGA* e quindi nei diversi percorsi logici che i segnali di *Stop* percorrono a seconda del loro istante di arrivo.

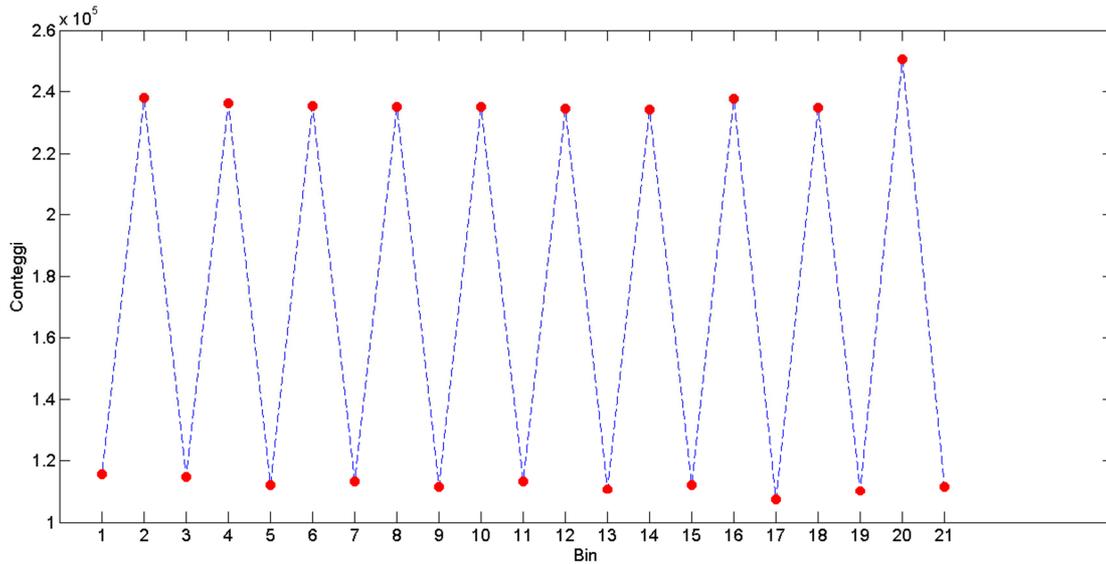
Per caratterizzare la *DNL* è necessario eseguire una misura di buio cioè una misura in cui il rivelatore non è illuminato da nessuna sorgente luminosa, eccetto eventuale luce ambiente, o da una sorgente continua. In entrambi i casi si utilizza una sorgente di luce scorrelata rispetto al segnale di sincronismo utilizzato che quindi non possiede nessuna particolare struttura temporale che impedirebbe la caratterizzazione.

Per ottenere la *DNL* con un buon rapporto segnale rumore ogni canale temporale dovrebbe contenere un numero di conteggi maggiore di  $10^5$ . È, infatti, noto <sup>(21)</sup> che il numero di fotoni rivelati da una sorgente luminosa d'intensità costante sia governato da una statistica *Poissoniana* per la quale il rapporto segnale rumore vale:

$$SNR = \frac{S}{N} = \frac{S}{\sqrt{S}} = \sqrt{S}$$

con  $N = \sqrt{S}$ . Questo porta a dire che nel caso di  $S = 10^5$  il rapporto segnale rumore vale 1000 che è un valore elevato e offre un'alta affidabilità statistica. È importante avere un buon rapporto segnale rumore soprattutto se si vuole utilizzare il numero di conteggi per compiere delle correzioni della non linearità. Infatti, in questo caso la fluttuazione di Poisson che si ha su ogni conteggio si potrebbe trasmettere e riflettere in una fluttuazione temporale in fase di correzione, introducendo quindi errori sull'asse dei tempi e incertezze riguardo al posizionamento delle curve di distribuzione.

In Figura 3.1 è mostrato l'effetto che la *DNL* ha su di una misura di buio acquisita con un numero medio di conteggi per canale pari a  $1,8 \times 10^5$ .



**Figura 3.1: Ingrandimento di una curva di buio. In ascissa il numero di bin, in ordinata il numero di conteggi. Ogni punto rosso rappresenta il numero di conteggi che ricadono in quel preciso bin temporale. Si nota l'andamento oscillatorio dei conteggi dovuto alla *DNL*.**

Si nota un comportamento oscillatorio dei conteggi di buio, anche se, idealmente, ogni bin dovrebbe contenere lo stesso numero di conteggi: la deviazione da questa situazione è caratterizzata dal valore picco-picco normalizzato per il valor medio dei conteggi, cioè

$$\varepsilon_{DNL} = \frac{N_{DNL_{max}} - N_{DNL_{min}}}{\bar{N}_{DNL}}$$

Nel caso in questione il valore di  $\varepsilon_{DNL}$  raggiunge l'82%: la non linearità differenziale rappresenta quindi una forte distorsione per le misure effettuate con il *TDC*.

Si riporta in Figura 3.2 inoltre l'andamento delle fluttuazioni dei conteggi rispetto al valor medio. Questo andamento è calcolato come

$$\Delta N = \frac{N_i - \bar{N}}{\bar{N}}$$

Dove  $N_i$  il numero di conteggi che l'*i*-esimo bin contiene e  $\bar{N}$  è il valor medio dei conteggi.

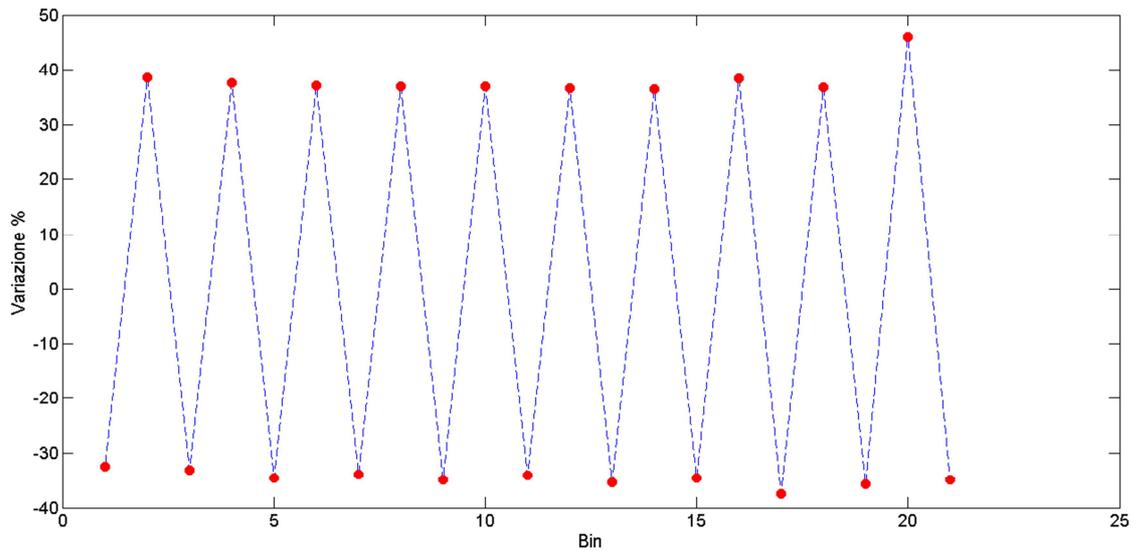


Figura 3.2: Variazione percentuale dei conteggi rispetto alla media a causa della *DNL*.

Da notare che le fluttuazioni percentuali rispetto al valor medio arrivano anche al 50%.

Come già accennato la presenza di questa non linearità si ripercuote anche sulla curva di distribuzione temporale dei fotoni. Un esempio ne è la Figura 3.3 che mostra una tipica curva di distribuzione ottenuta senza una correzione della *DNL*.

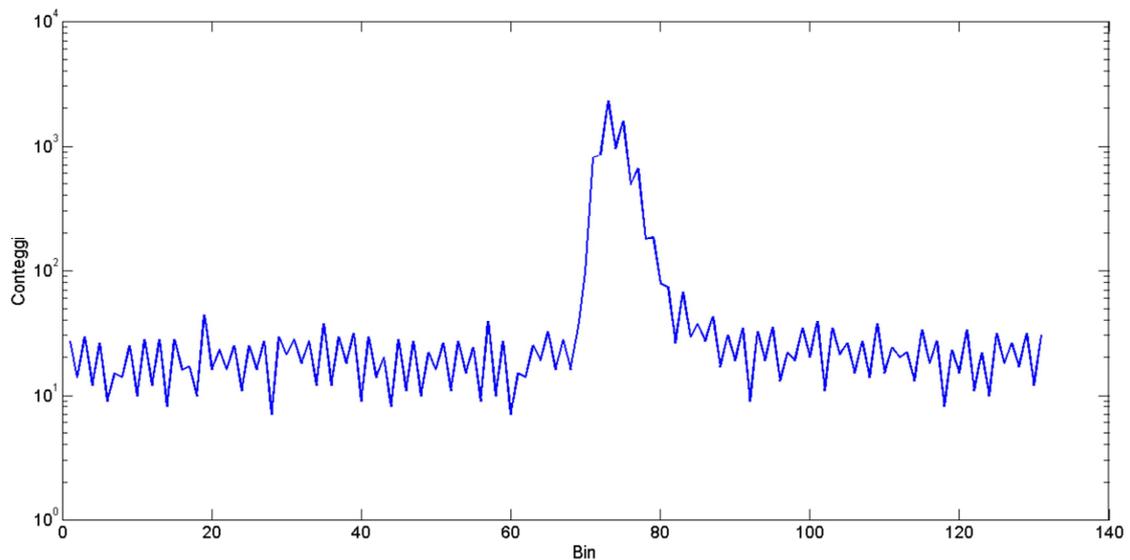


Figura 3.3: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta senza correzione della *DNL*. *FWHM* = 136,7 ps. L'andamento frastagliato è legato alla *DNL* e al diverso peso di ciascun bin.

La forma della curva è caratterizzata dalla forte presenza di picchi lungo tutto il profilo, che è quindi deformato. Nel caso specifico questo ha un notevole impatto durante l'estrazione dei parametri ottici.

Durante il lavoro di tesi sono stati proposti principalmente tre metodi per correggere la non linearità differenziale, tutti mirati all'equalizzazione della larghezza dei bin. Le correzioni proposte sono di tipo *software* e sono state implementate all'interno di un programma sviluppato nel corso degli anni dal gruppo di ricerca che lavora nell'ambito della spettroscopia risolta nel tempo. Il programma *TRS*, acronimo di *Time Resolved Spectroscopy*, si occupa totalmente dell'acquisizione dei segnali provenienti dai rivelatori, interfacciandosi con il sistema di acquisizione, della loro visualizzazione e del loro salvataggio.

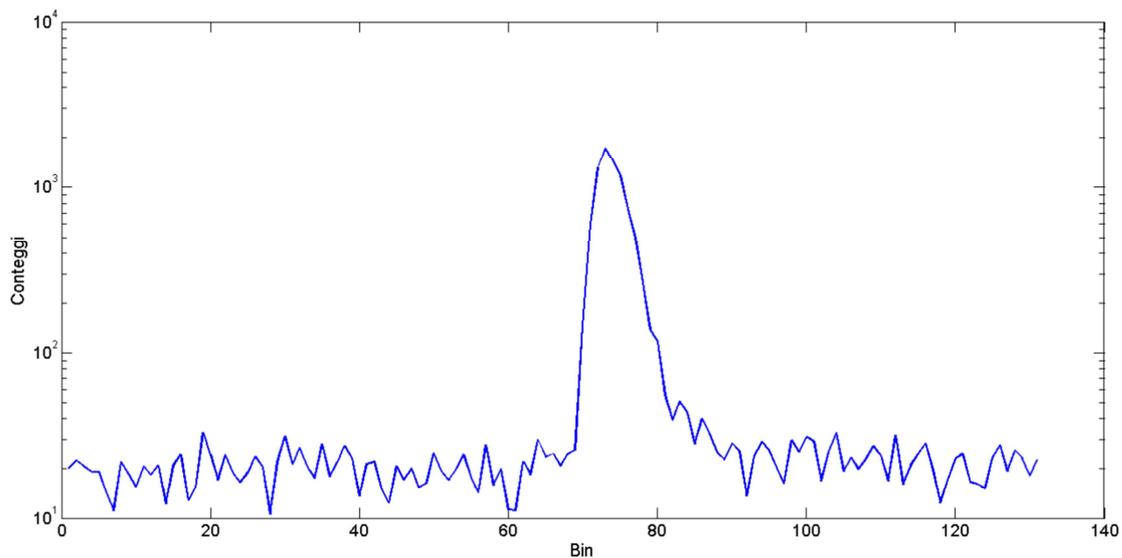
Si presentano ora le caratteristiche di ciascun metodo e la loro implementazione; a seguire un confronto tra i vari metodi.

### **Metodo di correzione #1**

Un primo metodo di correzione della *DNL* che per comodità chiameremo *met\_1* prevede come primo passo di ottenere quelli che sono chiamati i coefficienti di non linearità, *NonLinDt* nel codice *Matlab* (*R2010, The Mathworks Inc. Natick, USA*) sottostante. Questi coefficienti sono nient'altro che il risultato della divisione tra l'array contenente i conteggi di buio per bin, *DCR*, e il valor medio di questi conteggi su tutti i bin, *MeanVal*. In questo modo si riescono ad ottenere dei valori, *NonLinDt* appunto, che esprimono, bin per bin, la frazione di conteggi in eccesso o in difetto rispetto al valor medio che ciascun bin contiene. Questi valori servono poi per eseguire la correzione vera e propria: questa si ottiene dividendo la curva da correggere, *NonLinArray*, per il vettore di coefficienti di non linearità. In questo modo, bin per bin, si compensa la diversa durata temporale del bin stesso tramite una diminuzione o un incremento di conteggi. Si riporta il codice *Matlab* utilizzato per meglio chiarire i passaggi.

```
% DCR = Curva di buio
% NonLinDt = Coefficienti di non linearità
% NonLinArray = Curva da correggere
% LinArray = Curva corretta
% MeanVal = valor medio dei conteggi su tutti i bin
...
MeanVal = mean(DCR(first_bin:last_bin));
NonLinDt = DCR(first_bin:last_bin)/MeanVal;
LinArray = NonLinArray(first_bin:last_bin)./ NonLinDt;
...
```

Nella Figura 3.4, si riporta l'effetto che questo tipo di correzione ha sulla curva di distribuzione di fotoni di Figura 3.3, cioè quella curva priva di ogni tipo di compensazione della *DNL*.



**Figura 3.4: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta con correzione della *DNL* secondo il met\_1. *FWHM* = 360,7 ps. Il profilo liscio è legato alla compensazione della *DNL***

Come si può notare, a seguito della correzione, il profilo è ora più liscio rispetto a quanto riportato in Figura 3.3. Tuttavia si osserva anche un aumento notevole della larghezza a metà altezza della curva, rispetto a quella non corretta, che passa da 136 ps a 360 ps. Il basso valore della larghezza della curva non corretta può essere legato alla presenza di picchi lungo il profilo che possono portare a un'errata valutazione, per difetto, della larghezza stessa. L'allargamento della curva è complessivamente dovuto all'effetto della correzione della *DNL* che tende a eliminare il profilo frastagliato della

curva e la conseguente sottostima della larghezza. Inoltre, un procedimento che si rende necessario eseguire sulla curva, chiamato *refolding* e presentato in 3.1.2, può anch'esso avere come effetto un allargamento della curva finale.

Questi aspetti sono stati analizzati in seguito tramite delle prove di estrazione dei parametri ottici. Infatti, non necessariamente una maggiore larghezza della curva implica un peggioramento nella valutazione delle proprietà ottiche del mezzo in esame. Ciò che è, infatti, realmente importante nella stima dei coefficienti di assorbimento e di diffusione è il profilo che la distribuzione di fotoni possiede poiché da questo, tramite un procedimento di regressione, è possibile estrarre le informazioni desiderate come sarà descritto più avanti.

### ***Metodo di correzione #2***

Il secondo metodo di correzione, chiamato *met\_2*, è invece basato su un'interpolazione lineare della curva da correggere. In questo modo, basandosi sulla stima della larghezza degli intervalli temporali (non equamente spaziat) della scala non lineare, si esegue un ricampionamento della curva in una scala lineare con intervalli temporali equamente spaziat. In particolare, la curva da correggere, *NonLinArray* nel codice sottostante, subisce un processo di interpolazione, basato sulla conoscenza della non linearità della scala temporale di partenza, attraverso il quale lo stesso asse dei tempi diventa lineare tramite il ricampionamento: la nuova variabile prende quindi il nome di *LinArrayInterp*. L'asse dei tempi lineare, *TimeLin*, è costruita utilizzando una larghezza del bin che deve essere minore della larghezza nominale del bin nella scala non lineare. L'asse dei tempi non lineare, *TimeNonLin*, è costruita basandosi sui coefficienti di non linearità in precedenza introdotti che, moltiplicati per la larghezza nominale del bin (*factor* nel codice) stimano la larghezza effettiva di ciascun bin. Si fa notare come in questo metodo di correzione si agisca sull'asse dei tempi rendendola lineare, mentre, nel *met\_1*, la correzione della *DNL* si limita a una compensazione dei conteggi, ma nessuna operazione è eseguita sull'asse dei tempi. Il vantaggio di lavorare con l'asse dei tempi lineare è quello di poter conoscere esattamente i valori temporali per ciascun bin, senza

fluttuazioni di larghezza e quindi di conteggi. Anche in questo caso si riporta il codice *Matlab* per una migliore comprensione del procedimento.

```
% TimeNonLin = asse dei tempi non lineare
% NumChannLin = numero di canali presenti nell'asse dei tempi lineare
% linear_factor = larghezza del bin nella scala linear
% LinArrayInterp = curva corretta interpolata linearmente

...
% ottenimento dei coefficienti di non linearità che esprimono la larghezza
% effettiva di ciascun bin
MeanVal = mean(DCR(first_bin:last_bin));
NonLinDt(first_bin:last_bin) = factor*DCR(first_bin:last_bin)/MeanVal;

% ottenimento asse dei tempi non lineare come concatenamento dei
% coefficienti di non linearità
for ib=first_bin:last_bin
TimeNonLin(ib)=sum(NonLinDt(first_bin:ib));
end
TimeNonLin(1:first_bin-1)=[];

% ottenimento asse dei tempi lineare
NumChannLin = ceil(sum(NonLinDt(first_bin:last_bin))/linear_factor);
TimeLin=0:linear_factor:NumChannLin*linear_factor;

% correzione ed interpolazione
LinArrayInterp=interp1(TimeNonLin,NonLinArray,TimeLin,'linear');

...
```

La Figura 3.5 riporta la curva di misura ottenuta a seguito della correzione: come si può notare anche in questo caso, il profilo della curva è molto più liscio rispetto al caso in cui non sia eseguita nessuna correzione. La larghezza a metà altezza della curva con questo metodo è leggermente inferiore rispetto al caso del `met_1` ma come in precedenza accennato questo non implica necessariamente una migliore stima dei parametri ottici. Quello che è maggiormente importante è, infatti, una corretta ricostruzione del profilo della curva.

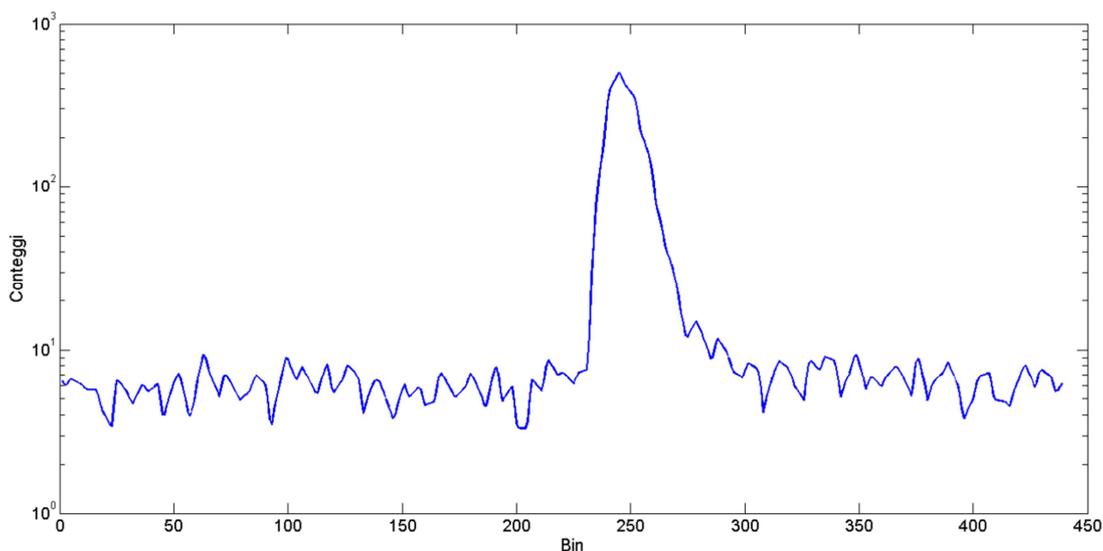


Figura 3.5: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta con correzione della *DNL* secondo il met\_2. *FWHM* = 351,4 ps. Il profilo liscio è legato alla compensazione della *DNL*.

### Metodo di correzione #3

L'ultimo metodo sperimentato, chiamato met\_3, si basa su una ridistribuzione dei conteggi dei fotoni dalla scala non lineare, cioè affetta da *DNL*, a una scala dei tempi lineare. L'algoritmo implementato nel codice prevede la divisione di ciascun bin non lineare in un certo numero di bin dalla larghezza fissata: il numero di conteggi presente nel bin non lineare viene quindi equamente diviso sul numero di bin lineari contenuti in quello non lineare. Tuttavia in genere il numero di bin lineari contenuti all'interno di quello non lineare non è un numero intero e questo porta ad avere delle frazioni di bin (lineari) da dover riempire: il problema si è aggirato riempiendo un bin intero con una frazione di conteggi al posto di riempire una frazione di bin con un numero intero di fotoni.

Si presenta inoltre il codice *Matlab* tramite il quale è stato implementato l'algoritmo per meglio comprenderne la logica.

```

itt = first_bin;      % indice che scansiona la scala temporale non lineare
it = 1;              % indice che scansiona la scala temporale lineare
ntt = last_bin;      % ultimo canale di NonLinArray
nt = NumChannLin;    % lunghezza del vettore LinArray
dtt = NonLinDt;      % array dei coefficienti non lineari
dt=linear_factor;    % larghezza del bin della scala lineare
rtt = NonLinDt(first_bin); %resto del canale non lineare
rt = dt;              % resto del canale lineare che deve essere riempito

while(itt<ntt)       % ciclo che scansiona l'intera lunghezza di NonLinArray

    if(rt >= rtt)

        % la dimensione del canale lineare è maggiore di quella del resto del
        % canale non lineare

        if(it<nt)
            LinArray(it) = LinArray(it) +(NonLinArray(itt)/dtt(itt))*(rtt);
        end
        itt=itt+1;      % si incrementa l'indice del vettore NonLinArray
        rt =rt- rtt;    % si calcola la frazione di canale lineare ancora da
riempire
        rtt = dtt(itt); % si assegna a rtt un nuovo valore di NonLinDt

    else

        % la dimensione del canale lineare è minore di quella del resto del
canale
        % non lineare

        if(it<nt)
            LinArray(it) =LinArray(it)+ (NonLinArray(itt)/dtt(itt))*(rt);
        end
        it=it+1;        % si incrementa l'indice del vettore LinArray
        rtt =rtt- rt;   % si calcola la frazione di canale non lineare che
deve essere ancora ridistribuita
        rt = dt;

    end
end
end

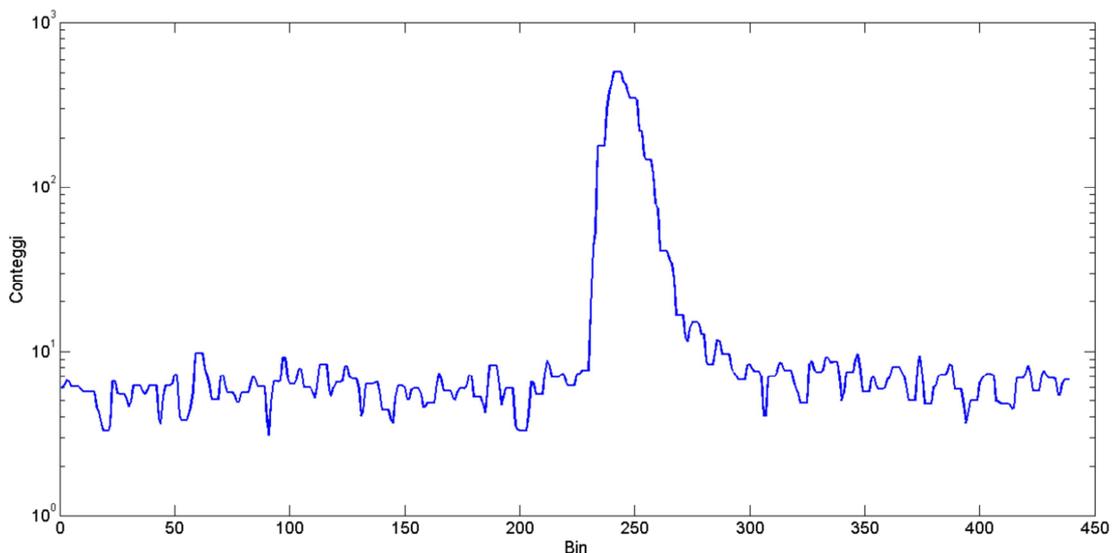
```

S'immagini di suddividere l'*itt-esimo* canale non lineare di durata *dtt* in un certo numero di canali lineari la cui durata è *rt*: questo numero è calcolato tramite la divisione  $dtt(itt)/rt$ . Fissato l'*itt-esimo* canale non lineare, si calcola ora il numero di fotoni che devono ricadere in ciascuno di questi canali lineari tramite la relazione

$NonLinArray(itt) / (\frac{dtt(itt)}{rt})$ . Si continuano a riempire i successivi canali lineari con questo numero di fotoni, entrando nella condizione “else “ di “  $if(rt \geq rtt)$  ”, e sottraendo a ogni ciclo alla durata del canale non lineare un valore pari alla durata del canale lineare ( $rtt = rtt - rt$  nel codice), fino a che il risultato di questa sottrazione, nel codice  $rtt$ , è una frazione di canale non lineare minore della durata di quello lineare. In questo modo si ricade all’interno della condizione “  $if(rt \geq rtt)$  ” e si dovrà inserire nel successivo canale lineare una frazione di fotoni corrispondenti al resto  $rtt$  e non all’intero canale lineare  $rt$ : per calcolare questa frazione bisogna effettuare la divisione

$$NonLinArray(itt) / (\frac{dtt(itt)}{rtt}).$$

Ancora una volta si riporta in Figura 3.6 l’effetto della correzione della *DNL* su una curva di misura.



**Figura 3.6: Curva di distribuzione dei fotoni ottenuta con correzione della *DNL* secondo il met\_3. *FWHM* = 344,1 ps. A seguito della compensazione della *DNL* il profilo assume una leggera caratteristica a gradini.**

In questo caso la larghezza a metà altezza raggiunge il valor minimo rispetto agli altri due metodi. Tuttavia, un aspetto da notare è che per via della natura stessa della correzione effettuata, la curva tende ad assumere un leggero aspetto a gradini. Ancora una volta, questa particolarità non necessariamente andrà a inficiare la ricostruzione dei parametri ottici del tessuto.

### *Analisi spettrale dei metodi di correzione*

Nei paragrafi precedenti si sono presentati i tre metodi di correzione sperimentati e si sono presentate le loro caratteristiche in termini di larghezza e forma della curva corretta. Non è possibile tuttavia, a questo livello, raggiungere una conclusione definitiva riguardo a quale sia il migliore dei tre metodi perché un vero confronto andrà eseguito studiando la capacità di ricostruzione dei parametri ottici.

Tuttavia, si procederà ora a un nuovo confronto dei loro effetti che permette di comprendere meglio la natura e gli effetti delle tre correzioni. In particolare è stata eseguita un'analisi spettrale di una curva di buio non ancora corretta per valutare eventuali strutture periodiche che si potessero quindi facilmente individuare nel dominio delle frequenze. In seguito è stata eseguita la stessa analisi per la curva di buio corretta secondo le tre diverse modalità per verificare quale metodo portasse ad una migliore riduzione ed eventualmente all'eliminazione delle componenti periodiche rilevate. Infatti, quello che ci si aspetta da uno spettro di una curva di buio è l'assenza di qualsiasi struttura periodica poiché la curva deriva da una raccolta di fotoni provenienti da una sorgente scorrelata dal segnale di sincronismo quale può essere una luce in continua o la luce ambiente. Di conseguenza, una presenza di periodicità nello spettro è da imputare a una non linearità differenziale periodica nel numero di bin.

L'analisi spettrale è stata eseguita tramite il *software Matlab* e si riporta il codice di implementazione:

```
...
% lunghezza del vettore della curva di buio
N=length(DCR);

% definizione della funzione di apodizzazione: in questo caso un triangolo
ApodVector=1:N/2;
ApodVector=[ApodVector flip(ApodVector)];
ApodVector=ApodVector/sum(ApodVector); % per la conservaione dell'energia

% calcolo del numero di punti in cui calcolare la DFT
N=2^nextpow2(N);

% si toglie la componente continua al segnale DCR
DCR=DCR-mean(DCR);

% apodizzazione del segnale DCR
DCR=DCR.*ApodVector;

% calcolo della DFT di DCR su N punti
FFT_DCR=fft(DCR.*ApodVector,N);

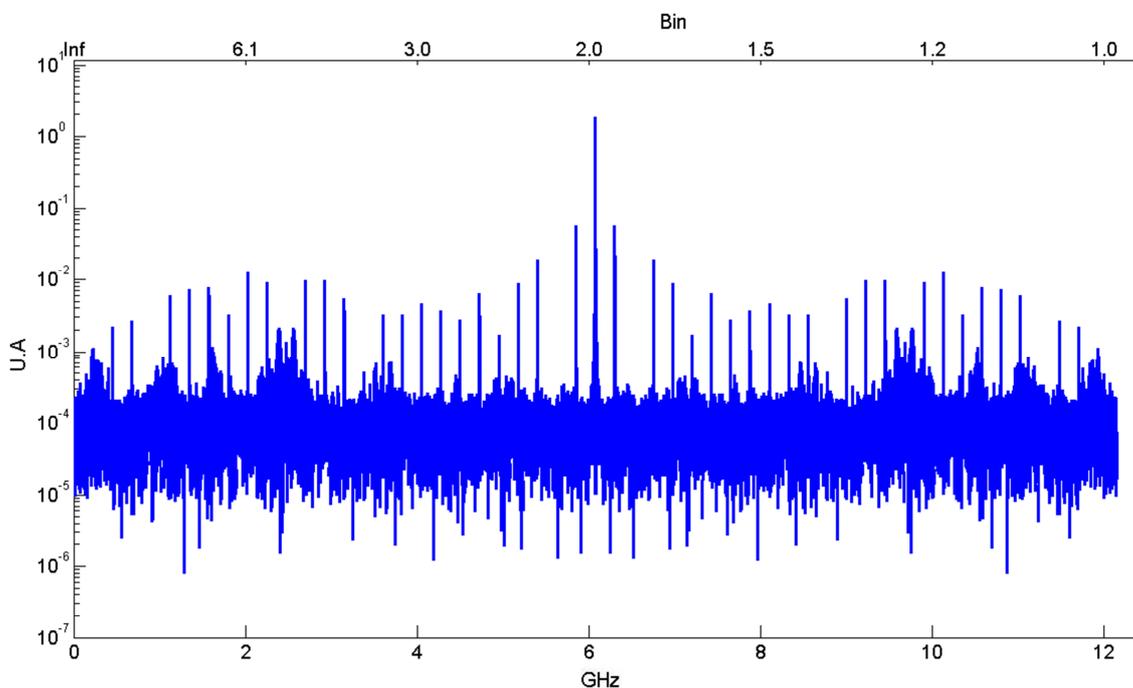
% si considera solo il modulo di FFT_DCR e si effettua una normalizzazione
FFT_DCR=abs(FFT_DCR)/N;
```

L'analisi spettrale si è basata sull'utilizzo della funzione "*fft(X,n)*" che rappresenta l'implementazione del calcolo della trasformata di Fourier discreta o *DFT* cioè la trasformata di Fourier di segnali discreti. Questa funzione permette inoltre di definire un numero  $n$  di punti sul quale calcolare la trasformata che deve essere almeno pari alla dimensione del vettore  $X$  di cui si calcola appunto la trasformata. Più  $n$  è elevato, maggiore sarà la risoluzione dello spettro ottenuto. Si è deciso di utilizzare un numero  $n$  di punti pari alla potenza del due più prossima al valore  $N$  della dimensione del vettore  $DCR$  che ha permesso di ottenere una risoluzione accettabile: la scelta del valore di  $n$  è legato anche a questioni dovute all'implementazione della funzione "*fft*" che preferisce avere  $n$  come potenza del 2.

Nel codice è implementato un altro accorgimento che è l'apodizzazione della funzione  $X$  di cui si vuole ricavare lo spettro: questo passaggio nient'altro è che una moltiplicazione della funzione  $X$  per una funzione finestra, nel nostro caso un triangolo. L'apodizzazione è un passaggio consigliato per ridurre gli effetti di non considerare un segnale infinito nel calcolo della *DFT*: teoricamente, infatti, questa dovrebbe essere

calcolata su un segnale temporalmente infinito ma nella pratica i segnali che si utilizzano sono sempre finiti. Questo però equivale a considerare un segnale infinito moltiplicato per un rettangolo che lo limiti temporalmente e nel campo delle frequenze equivale ad una convoluzione tra le trasformate di questi due segnali: tuttavia questa convoluzione introduce delle distorsioni nella trasformata ideale del segnale. La moltiplicazione del segnale  $X$  per una funzione triangolo permette di pesare di meno i limiti estremi del segnale stesso che sono inoltre quelli sui quali ricade il fronte di salita o discesa della funzione rettangolo: in questo modo si riesce a ridurre le distorsioni introdotte dalla natura finita del segnale  $X$ .

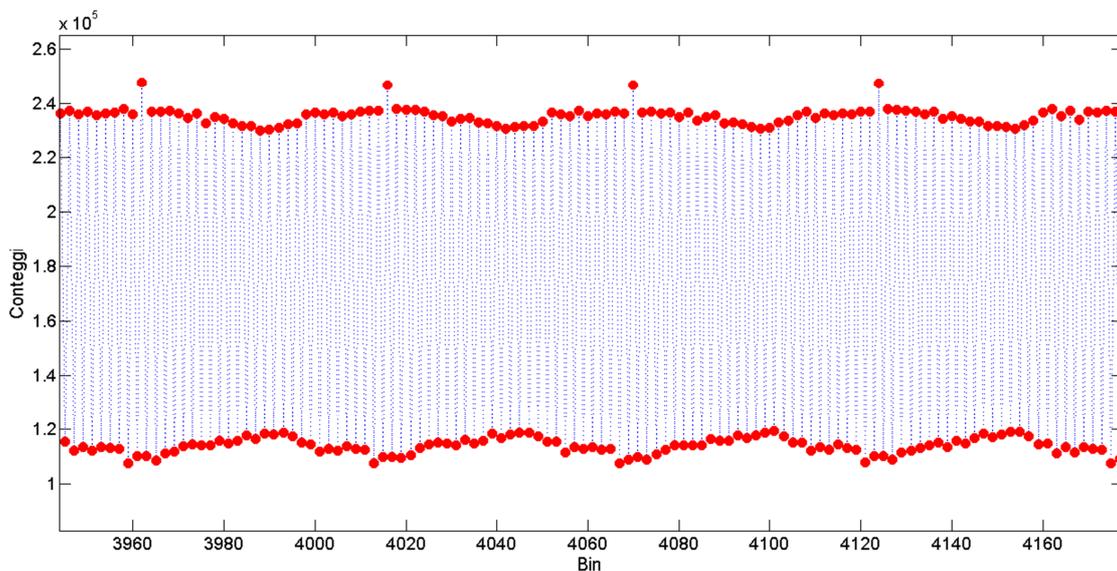
La Figura 3.7 rappresenta lo spettro di una curva di buio: in particolare questa curva è stata ottenuta rispettando la statistica di singolo fotone, cioè utilizzando un *count rate* pari all'1% della frequenza del segnale di sincronismo. Sono state effettuate numerose ripetizioni della misura per ottenere un numero medio di conteggi per canale pari a  $1,8 \times 10^5$ . Questa curva, per via dell'elevato numero di conteggi per canale, è stata utilizzata per effettuare le correzioni della *DNL* e cioè praticamente per calcolare i coefficienti di non linearità.



**Figura 3.7: Spettro della curva di buio utilizzata per effettuare la correzione. Sono chiaramente visibili delle strutture periodiche a 6 GHz e inferiori**

Sull'asse delle ascisse inferiore i valori sono espressi in GHz, in quella superiore in canali temporali, o *bin*, e in ordinate in unità arbitrarie. Lo spettro utile si limita a 6 GHz poiché le frequenze superiori corrispondono alle repliche di ciò che è compreso tra 0 GHz e 6 GHz per le proprietà delle trasformate di segnali periodici. Si evidenzia principalmente un picco a 6 GHz che può essere legato ad una periodicità di 2 *bin*. Questo supporta quanto affermato dai produttori del *TDC* che sostengono di non compiere nessun tipo di correzione della *DNL* internamente allo strumento ma garantiscono però che seppur ogni bin possa differire dal valore nominale, due *bin* adiacenti saranno tali che la loro durata temporale sia pari al doppio della durata nominale per ciascuno.

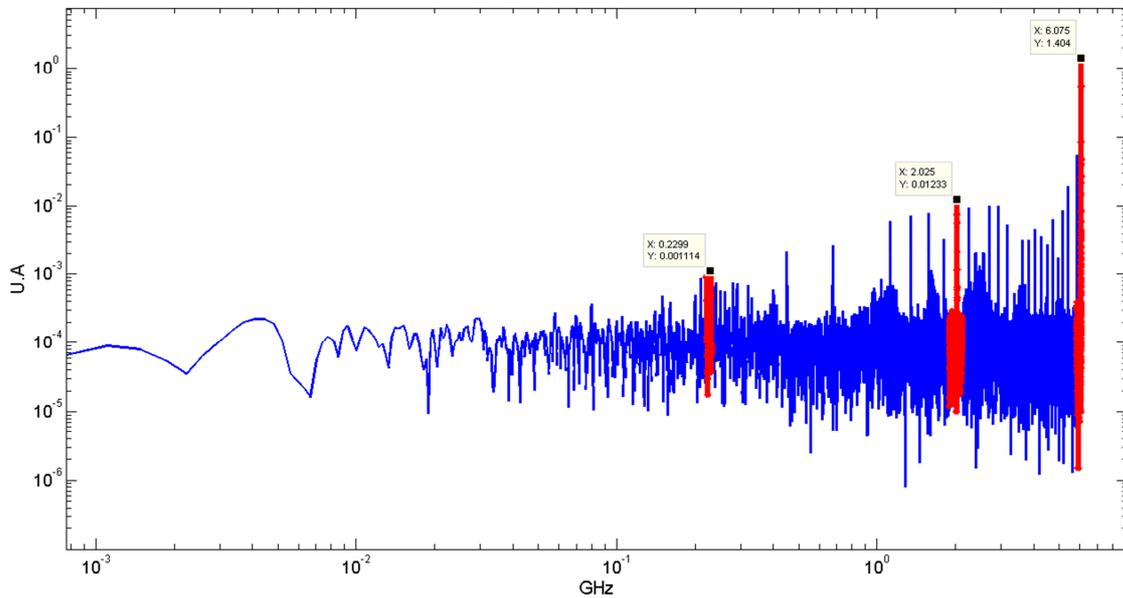
Sono presenti anche altre strutture periodiche a bassa frequenza, ad esempio a circa 2 GHz, ma nessuna spiegazione al riguardo è fornita dai produttori. Tuttavia anche a livello visivo, la presenza di lente oscillazioni e ad esempio due picchi distanti tra loro circa 50 bin è evidente come si può notare dalla Figura 3.8.



**Figura 3.8: Zoom della curva di buio utilizzata per effettuare le correzioni della *DNL*. Si nota un comportamento oscillatorio sintomatico di una periodicità a bassa frequenza**

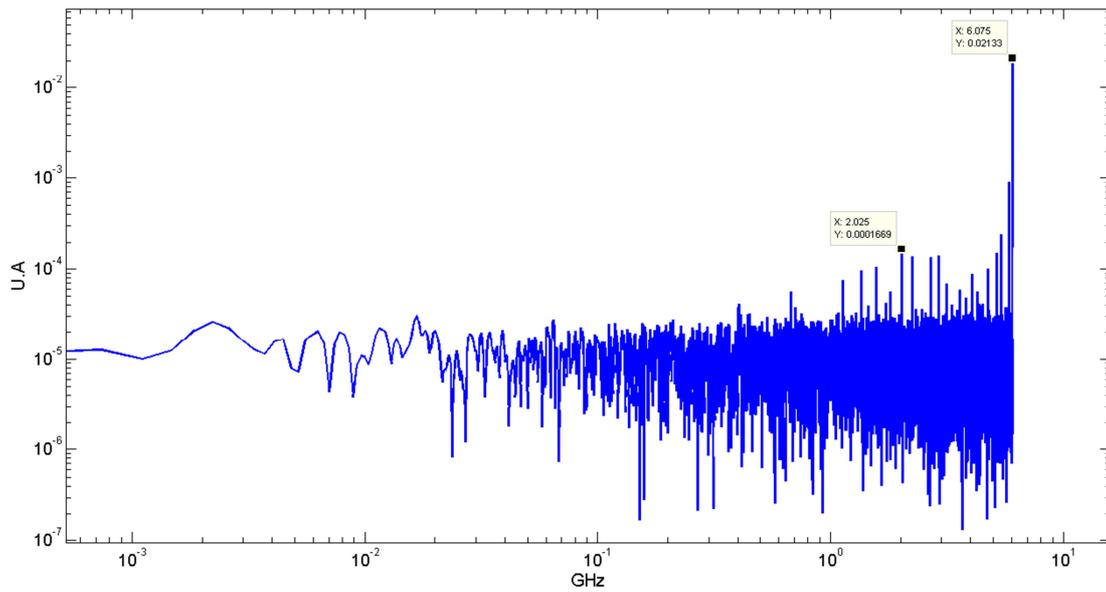
Per confermare la presenza di queste periodicità a bassa frequenza si dovrebbe osservare un picco in prossimità di una frequenza di circa 240 MHz. Questo perché un numero di bin pari a 50 circa corrisponde ad un intervallo temporale di circa 4,11 ns che tradotto in frequenza corrisponde a 243 MHz = 0.24 GHz. Per meglio individuare frequenze così basse si riporta in Figura 3.9 lo spettro di Figura 3.7 con le ascisse in scala

logaritmica: a conferma di quanto detto sono quindi evidenziate delle strutture a 0.23 GHz, oltre a quelle a 2 e 6 GHz per un migliore confronto con il precedente spettro.



**Figura 3.9: Spettro della curva di buio utilizzata per effettuare le correzioni della *DNL* in scala log-log. Sono evidenziate delle strutture rispettivamente a 0.23, 2 e 6 GHz.**

Si riporta ora in Figura 3.10, invece, lo spettro di una tipica curva di buio con un numero di conteggi per canale molto inferiore rispetto alla curva precedente: questo per simulare il numero di conteggi che tipicamente si ha in una misura rispettando la statistica di singolo fotone. In particolare il numero medio di conteggi per canale di questa curva che sarà in seguito corretta secondo le tre diverse modalità è pari a 2500 fotoni rivelati in un tempo di misura di 25 ms: questo porta a un *count rate* di  $10^4$  conteggi al secondo cioè l'1% della frequenza del segnale di sincronismo utilizzato pari a 10 MHz.

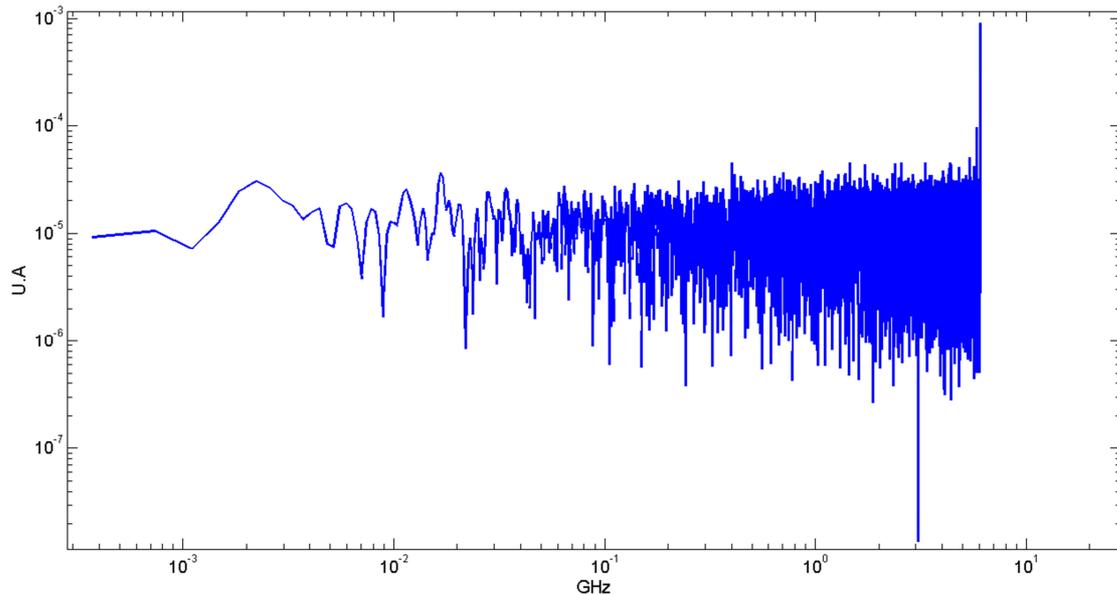


**Figura 3.10: Spettro della curva di buio da correggere. Sono evidenziate le strutture rispettivamente a 2 e 6 GHz**

Si notano ancora le strutture periodiche a 2 e 6 GHz mentre quelle a più bassa frequenza hanno ora una importanza ridotta per via del minore numero di fotoni raccolti.

#### Metodo di correzione #1

Valutiamo ora l'effetto della correzione della non linearità, se si utilizza il met\_1, nella Figura 3.11.



**Figura 3.11: Spettro della curva di buio corretta con il met\_1. Si nota l'assenza delle strutture periodiche a bassa frequenza.**

Si può notare come le strutture periodiche a bassa frequenza siano scomparse, mentre rimane ben presente il picco che rappresenta la periodicità di due bin, anche se in termini di ampiezza si osserva una riduzione di un fattore 10 rispetto al valor medio se paragonata alla Figura 3.10. Questo indica che la correzione, seppur non abbia eliminato completamente le periodicità presenti, le ha quantomeno limitate.

Una completa eliminazione è in realtà ardua da raggiungere. Infatti, le correzioni effettuate non tengono conto del contributo di rumore non deterministico di *Poisson* che si ha per ogni bin e che rappresenta un'ulteriore fluttuazione del numero di conteggi. In particolare, i coefficienti di non linearità calcolati, se usati per correggere la stessa curva di buio dal quale sono ricavati, porterebbero ovviamente all'ottenimento di una curva rigorosamente piatta. Tuttavia, questa curva non è fisicamente realistica poiché non presenta nessuna fluttuazione, nemmeno quella dovuta al rumore di *Poisson* che dovrebbe essere comunque presente anche a seguito della correzione della *DNL*. In altre parole, una perfetta correzione della *DNL* dovrebbe considerare anche il contributo del rumore di *Poisson* che però è trascurato nei metodi presentati e che è difficilmente compensabile vista la sua natura non deterministica.

Inoltre, nella Figura 3.12 è riportata la curva di buio dopo aver subito il processo di correzione: da notare la ridotta variazione percentuale dei conteggi, prossima al 10 %, da paragonare a quella che si aveva in assenza di correzione (si veda Figura 3.2), che era

prossima al 40%, e l'assenza di oscillazioni visibili a bassa frequenza come mostrato in Figura 3.13.

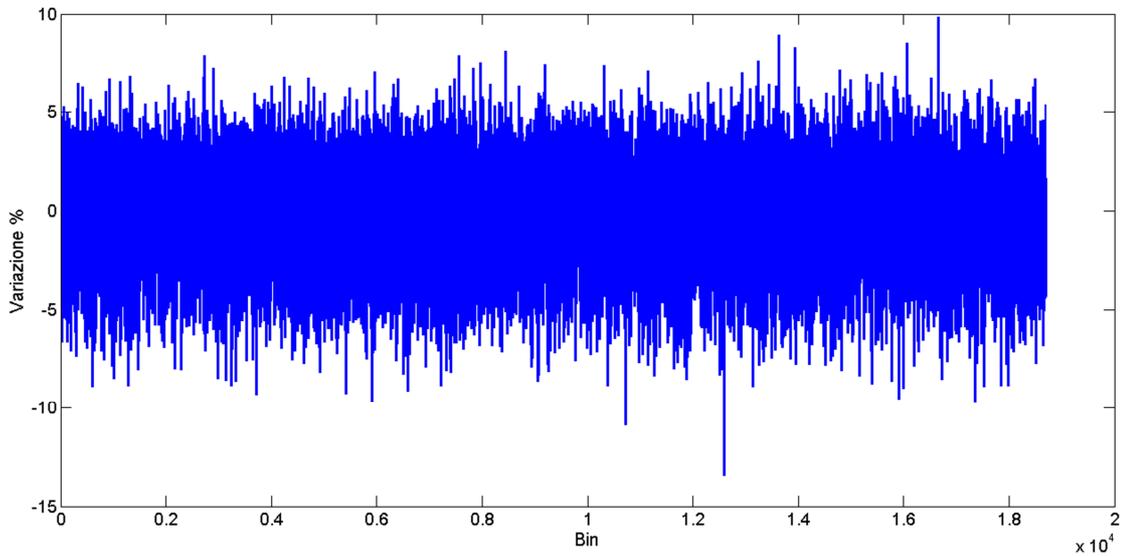


Figura 3.12: Curva di buio a seguito della correzione secondo il met\_1: da notare la ridotta variazione percentuale dei conteggi

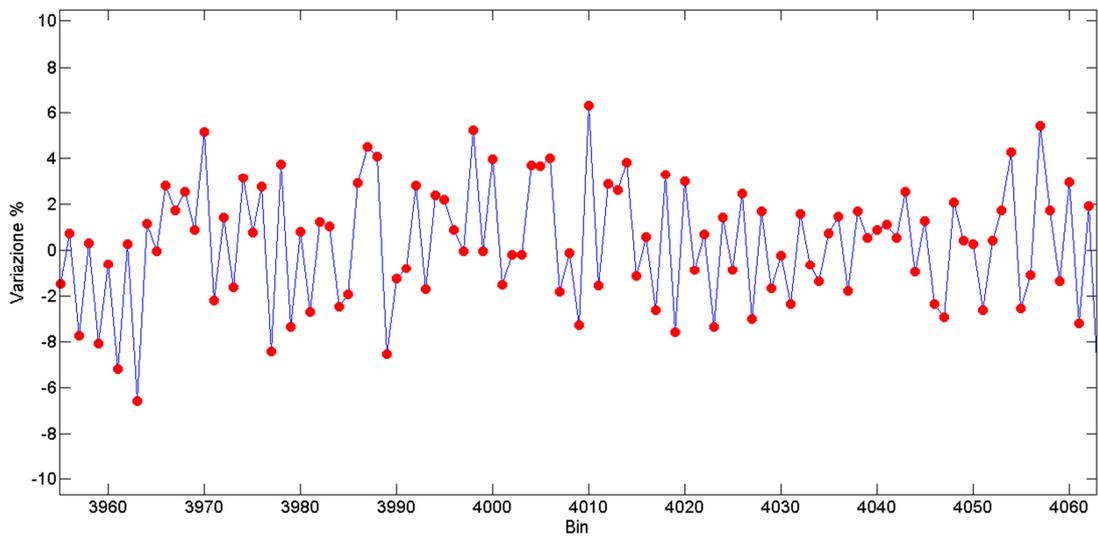
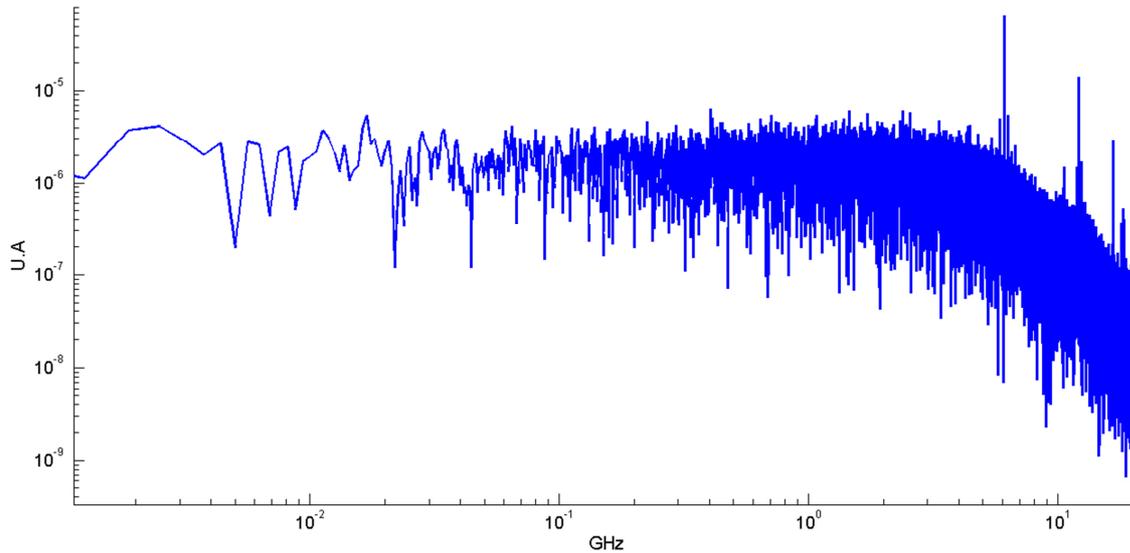


Figura 3.13: Zoom della curva di buio corretta secondo il met\_1. Non si osservano oscillazioni a bassa frequenza anche se l'andamento a zig-zag è ancora ben visibile

## Metodo di correzione #2

Prendiamo ora in considerazione nella Figura 3.14 lo spettro della curva di buio, corretta con il met\_2.



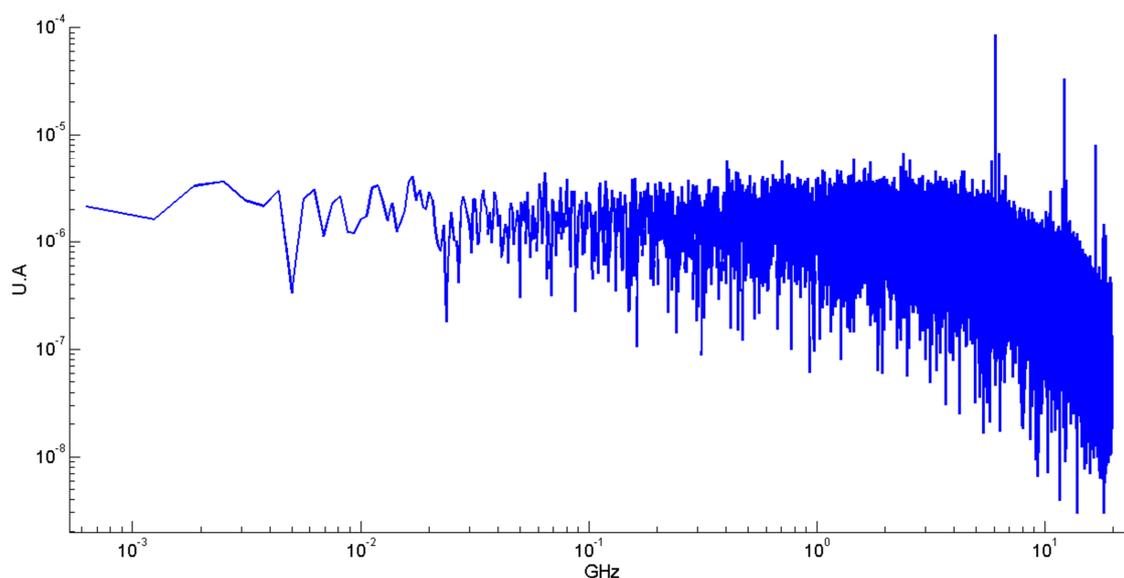
**Figura 3.14: Spettro della curva di buio corretta con il met\_2. Si nota la deformazione dello spettro ad alte frequenze e l'introduzione di alcune strutture periodiche alle stesse alte frequenze.**

Rispetto al tipo di correzione met\_1, in questo metodo, così come in met\_3, si utilizza una larghezza del bin della scala lineare che è pari a 24.41 ps, cioè inferiore rispetto alla larghezza del bin della scala non lineare che è di 82.3 ps. Questo comporta che lo spettro si estenda fino ad una frequenza di circa 20 GHz invece di limitarsi ad una frequenza di 6 GHz come in Figura 3.10. Fino alla frequenza di 20 GHz si notano quattro picchi principali posizionati a 6 GHz, 12 GHz e 16.67 GHz. Queste frequenze corrispondono a delle periodicità in bin di 82.3 ps pari a 2, 1 e 0.7; allo stesso tempo queste frequenze corrispondono a una periodicità in bin lineari da 24.41 ps pari a circa 7, 3 e 2 bin. Si noti come anche in questo caso le periodicità a bassa frequenza siano state eliminate completamente mentre il picco che rappresenta la periodicità di 2 bin sia stato ridotto di un fattore 10 rispetto al valor medio. Inoltre, sono state introdotte delle lievi periodicità a più alta frequenza dovute alla ridotta larghezza del bin ma che comunque sono inferiori almeno di un fattore  $10^2$  rispetto al picco principale dello spettro della curva non corretta. Infine, si rileva una deformazione dello spettro proprio ad alte

frequenze: è possibile che questo effetto possa essere imputato al fatto che in questo tipo di correzione si effettua una linearizzazione, tramite un processo di interpolazione, della scala dei tempi. Questo procedimento è assimilabile all'applicazione di un filtro passa basso sul segnale, che smorza quindi in particolare il rumore ad alte frequenze. In ogni caso è da notare come rispetto alla curva non corretta, il valor medio e i picchi si sono ridotti rispettivamente di un fattore 10. Per quanto riguarda la curva di buio corretta, la forma e la variazione percentuale è simile a quella riportata in Figura 3.13.

### Metodo di correzione #3

Infine nella Figura 3.15 si presenta lo spettro della curva di buio con la correzione del met\_3.

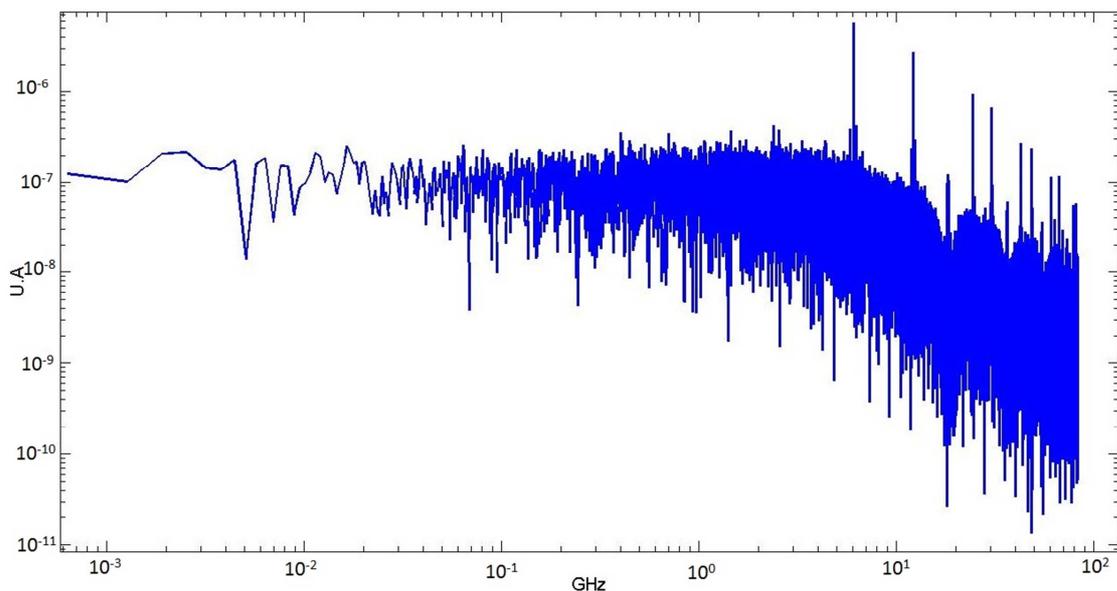


**Figura 3.15: Spettro della curva di buio corretta con il met\_3. È evidente la distorsione dello spettro e la presenza di alcuni picchi ad alta frequenza**

Anche in questo caso si può notare la presenza di 3 picchi alle frequenze già in precedenza individuate e si nota come siano sopresse le periodicità a bassa frequenza mentre quella pari a due bin (non lineari) sia stata ridotta. Analogamente al caso di met\_2, lo spettro subisce una distorsione e questo avvalorava l'ipotesi secondo la quale questa distorsione sia legata alle operazioni di linearizzazione che sono effettuate sull'asse dei tempi nei met\_2 e met\_3. In ogni caso, questa distorsione non ha destato

particolare preoccupazione poiché è di un fattore  $10^2 - 10^4$  inferiore rispetto al valor medio dello spettro della curva non corretta. La curva di buio corretta presenta un andamento simile a quello riportato in Figura 3.13 e con fluttuazioni paragonabili.

Queste osservazioni sono state elaborate considerando una larghezza del bin utilizzato per la linearizzazione pari a 24.41 ps. Tale larghezza è stata scelta all'inizio per permettere un più facile confronto dei risultati tra i dati ottenuti dal TDC e quelli ottenuti tramite la scheda TCSPC usata precedentemente. Questa possiede 4096 canali e al fine di ottenere una spazzata di 100 ns pari al periodo del segnale di sincronismo, ogni bin deve valere appunto 24.41 ps. Se si utilizza una larghezza del bin ancora inferiore, pari a 6 ps ad esempio, la struttura dello spettro che si ottiene è quella rappresentata in Figura 3.16 in cui si è presa in considerazione la correzione del met\_3.



**Figura 3.16: Spettro della curva di buio corretta con il met\_3. Dimensione del bin lineare: 6 ps. La distorsione è ancora presente e le strutture a bassa frequenza assenti.**

Come si può notare, la struttura dello spettro è simile a quella ottenuta con una dimensione del bin lineare pari a 24.41 ps: le periodicità a bassa frequenza sono eliminate, persiste il picco a 6 GHz anche se ridotto di un fattore 10 rispetto al valor medio; lo spettro viene deformato sulle alte frequenze a causa del piccolo valore del bin lineare. Inoltre il valor medio dello spettro si riduce di un fattore  $10^2$  rispetto al valor medio dello spettro della curva non corretta. Complessivamente non si nota tuttavia una sostanziale differenza con quanto in precedenza espresso con un bin di larghezza pari a

24.41 ps: da considerare invece è che i tempi di calcolo vengono in questo caso triplicati. Inoltre, l'utilizzo di un bin lineare di 6 ps non migliora sensibilmente né la larghezza delle singole curve di distribuzione né la loro forma: le larghezze diventano per il met\_2 e met\_3 rispettivamente di 350 ps e 360 ps da confrontarsi con i precedenti 351 e 344 ps ottenuti con un bin di larghezza pari a 24.41 ps.

La discussione appena conclusa ha mostrato, nel dominio delle frequenze, quali effetti siano introdotti a seguito della correzione della non linearità. Complessivamente si è mostrato come tutti i metodi riducano almeno di un fattore 10 i picchi relativi alla periodicità di  $2 \times 82,3$  ps ed eliminino quelle periodicità a più bassa frequenza. Il met\_2 e met\_3 introducono inoltre delle lievi distorsioni dello spettro, soprattutto ad alta frequenza: queste distorsioni non hanno preoccupato eccessivamente per via del loro peso ridotto.

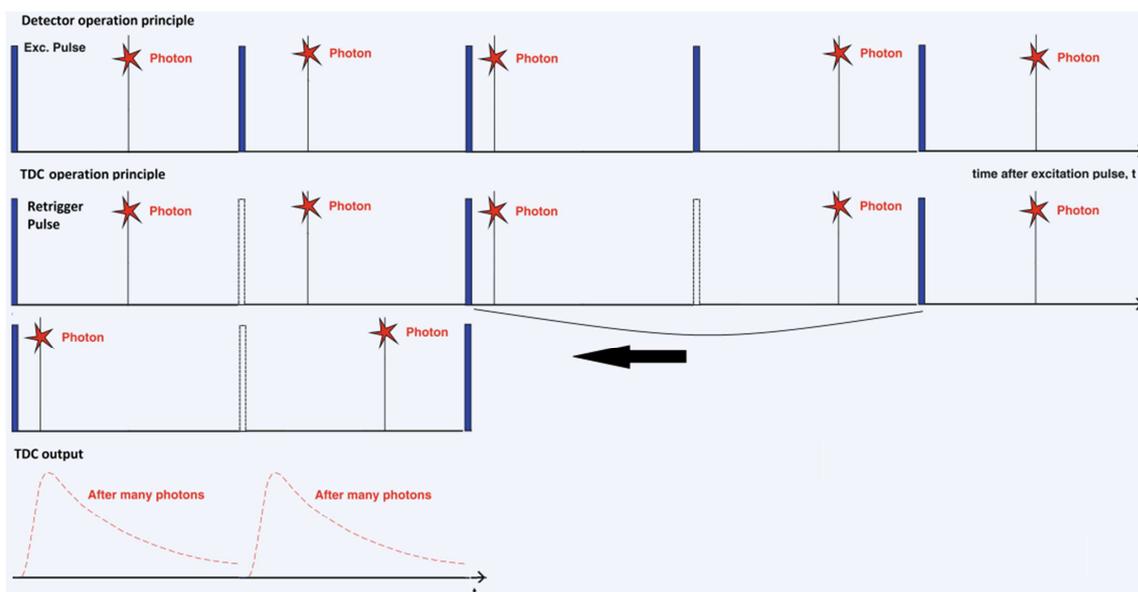
In ogni caso, una decisione definitiva riguardo al metodo di correzione da utilizzare è da differire: infatti, per stabilire quale dei tre metodi sia considerato il migliore, bisognerà verificarne come già detto gli effetti sulla stima dei parametri ottici di un mezzo. Questo passaggio sarà illustrato in un successivo paragrafo.

### 3.1.2. Il Refolding

Si affronta ora un secondo elemento legato alle prestazioni del TDC. Si è già accennato al fatto che lo strumento possiede un limite alla massima frequenza del segnale applicabile al canale di *Start*: questa è limitata a 7 MHz (si veda 2.2.3 - L'innovazione: Il TDC). Come già detto (si veda 2.2.1) parlando del driver delle sorgenti, il segnale di sincronismo che giunge a un *driver*, quando tutte le teste laser sono attive è pari a 10 MHz. Dal momento che si utilizza come segnale di sincronismo quello in uscita da un canale degli 8 del *sequencer*, anche il segnale di sincronismo ha una frequenza di 10 MHz, ma in queste condizioni non potrebbe essere quindi fornito all'ingresso del canale *Start* del TDC. In realtà, per ovviare a questa limitazione, il TDC permette di eseguire internamente una divisione di frequenza per riuscire ad arrivare a un valore che possa essere gestito dall'elettronica. Il fattore di divisione può essere deciso tramite la compilazione di un file che esprime le impostazioni dello strumento. Quest'ultimo riesce

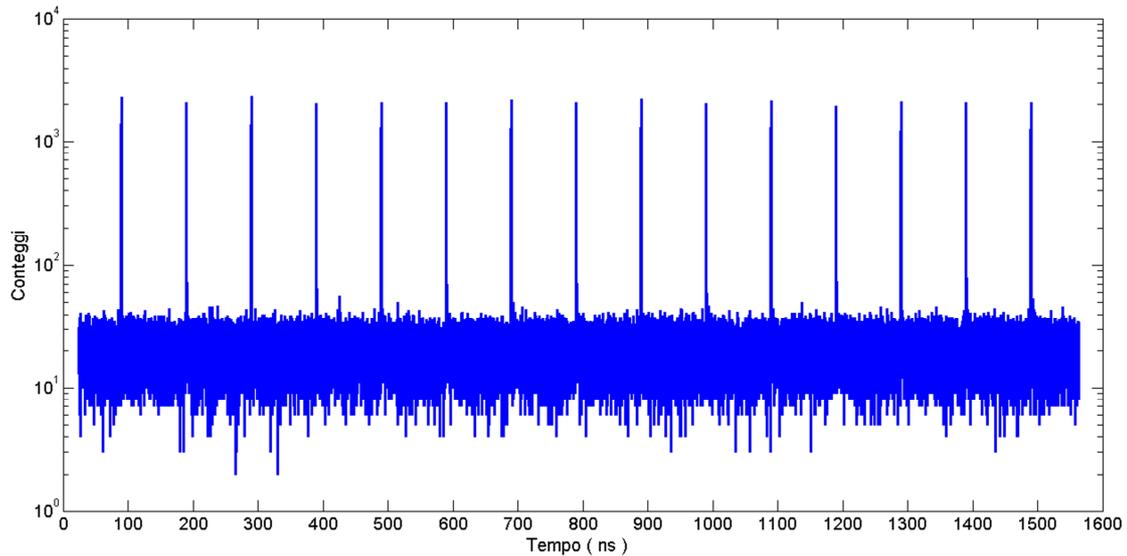
a misurare la frequenza del segnale applicato al canale *Start* e legge dal file d'inizializzazione il fattore di divisione che si desidera utilizzare: in questo modo il *chip* riceve un segnale di *retrigger* adatto. Con segnale di *retrigger* si intende quel segnale che viene utilizzato dal *chip* del *TDC* come riferimento per calcolare le differenze temporali degli istanti di arrivo dei fotoni.

Quello che si osserva in una misura è quindi un numero di repliche della distribuzione di fotoni, all'interno del periodo di *retrigger*, pari al fattore di divisione utilizzato. Per meglio chiarire si riporta un esempio, il cui schema è riportato in Figura 3.17: se si utilizza un segnale di sincronismo del laser a 10 MHz si dovrà utilizzare un fattore di divisione pari ad almeno 2 ottenendo così una frequenza di *retrigger* pari a 5 MHz. Questa frequenza si traduce in un periodo di 200 ns, tempo all'interno del quale si osservano due repliche del segnale di distribuzione dei fotoni, distanti tra loro 100 ns. Questo succede perché, per il principio di misura del tempo all'interno del *TDC* (si veda 2.2.3 - L'innovazione: Il TDC), tra due istanti di *retrigger*, avviene un campionamento dell'asse temporale in base al *clock* interno del *TDC* e ogni evento è registrato e il suo tempo di avvenimento è riferito all'istante di *retrigger* corrispondente.



**Figura 3.17: Schema di funzionamento della divisione di frequenza. Il rivelatore rivela i fotoni con un count rate pari a 10 MHz. Il *TDC* utilizza una frequenza di retrigger di 5 MHz: in questo modo, ogni 200 ns la scala temporale del *TDC* viene riassetata ma all'interno di questo periodo lo strumento mantiene le corrette tempistiche di rivelazione dei fotoni. Infine lo strumento produce due repliche del segnale all'interno del periodo di retrigger.**

Un esempio di misura ottenuta è rappresentato in Figura 3.18. Si notano le 15 repliche, pari al fattore di divisione utilizzato, equi spaziate di 100 ns che è il periodo del segnale di sincronismo.



**Figura 3.18: Esempio di misura. Si osservano 15 repliche del segnale, pari al fattore di divisione utilizzato, all'interno del periodo di retrigger pari a 1500 ns. Frequenza di sincronismo: 10 MHz**

Per migliorare la stabilità dei risultati e il rapporto segnale rumore si preferisce non utilizzare una sola delle repliche disponibili ma l'intera totalità delle repliche. Si esegue quella che è un'operazione di ripiegamento della misura su se stessa o di *refolding*: questa non è nient'altro che una sovrapposizione delle varie repliche, sommandole tra loro, per ottenere un'unica curva che si possa utilizzare per le successive analisi.

Il codice *Matlab* sotto riportato esprime l'operazione di *refolding* effettuata per tutti i metodi.

```

% ntt = lunghezza del vettore LinArray
% itt = indice che scorre LinArray
% it = indice che scorre LinArrayFold
% tt = tempo trascorso
% dt = larghezza del bin
% T = periodo di ripetizione del laser

rt=dt;

while(itt<ntt)

    if(tt>T)          % il tempo trascorso supera il periodo
        tt=tt-T;
        rt=dt-tt;
        it=1;        % si riavvolge l'asse dei tempi di LinArrayFold in
    end              % modo da poter sommare le successive repliche

    % canale per canale si sommano i conteggi dei bin delle varie repliche
    LinArrayFold(it) = LinArrayFold(it) + LinArray(itt)*rt/dt;
    tt=tt+rt;
    it=it+1;
    itt=itt+1;
    rt=dt;

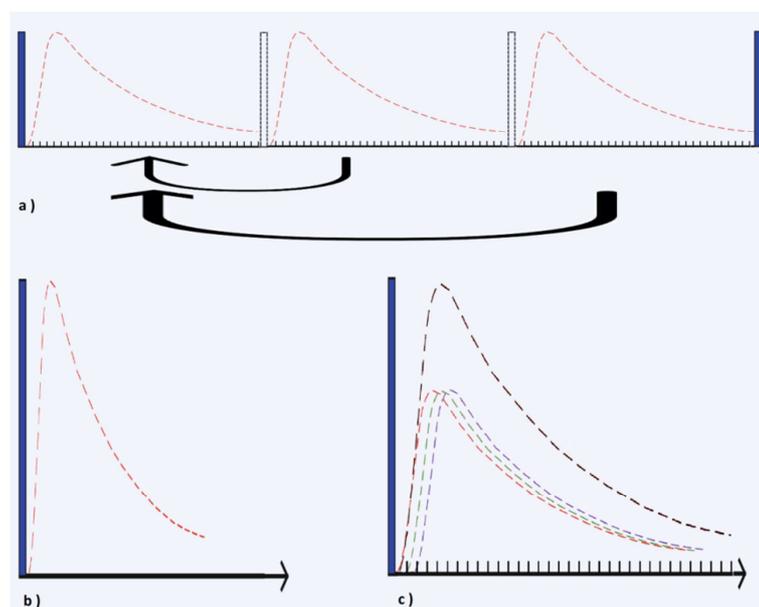
end

```

Il ciclo *while* serve per scansionare l'intero vettore della curva linearizzata *LinArray*. A ogni colpo di ciclo è incrementato il tempo trascorso di un fattore pari alla larghezza del bin *dt* che nel caso del *met\_1* è pari a 82.3 ps mentre nel caso di *met\_2* e *met\_3* è di 24.41 ps. Quando il tempo trascorso è maggiore del periodo del segnale di sincronismo, si riporta l'indice del vettore *LinArrayFold* al primo bin e si calcola l'eccedenza di tempo trascorso e da questo la frazione di fotoni  $rt/dt$  da dover inserire nel primo canale del vettore *LinArrayFold*. In questo modo si riesce a sommare bin per bin, i conteggi delle varie repliche.

Durante l'operazione di *refolding* si esegue quindi una sovrapposizione delle repliche del segnale che avviene al raggiungimento di un numero di bin pari al periodo del segnale: tuttavia per via della discretizzazione della scala dei tempi, non è detto che il numero di bin corrispondenti al periodo del laser sia un numero intero. Questo comporta che a ogni operazione di *refolding* si possa commettere un errore di redistribuzione dei fotoni nei canali il cui effetto può essere quello di uno spostamento di ogni singola replica e quindi una cattiva sovrapposizione con conseguente allargamento della curva finale ottenuta con il *refolding* e possibilmente una ricostruzione distorta dei parametri

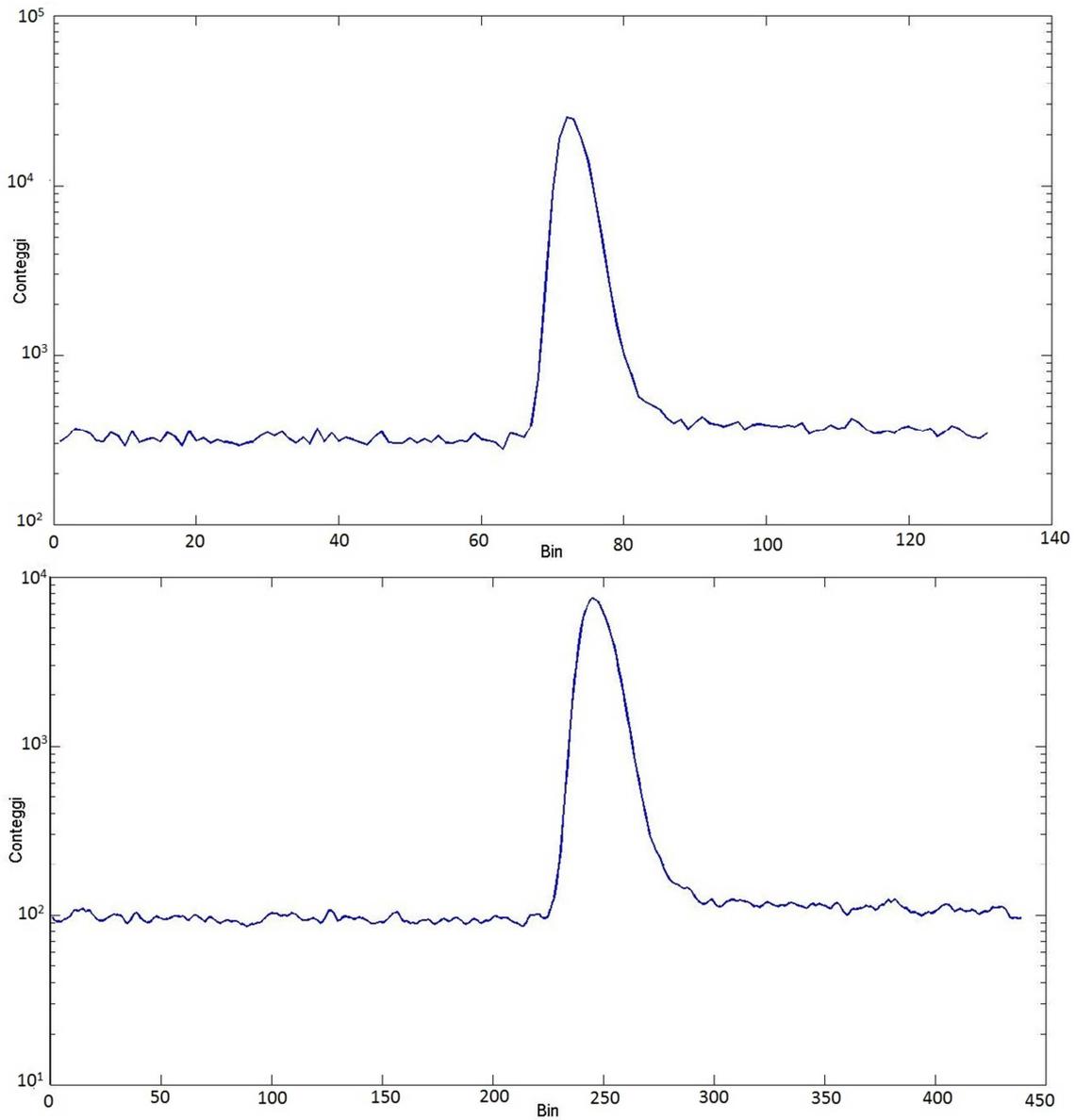
ottici. La Figura 3.19 mostra l'effetto del *refolding*: nel caso in cui la scala dei tempi fosse continua, si potrebbe eseguire una sovrapposizione precisa delle repliche selezionando esattamente un periodo temporale. Tuttavia la scala dei tempi è discretizzata e questo introduce un errore nella valutazione del periodo: per quest'errore le singole repliche, riportate all'interno del periodo, possono essere disallineate tra loro di qualche bin e la curva finale che ne risulta (c) in Figura 3.19) può essere più larga di quella ottenibile nel caso di tempi continui (b) in Figura 3.19).

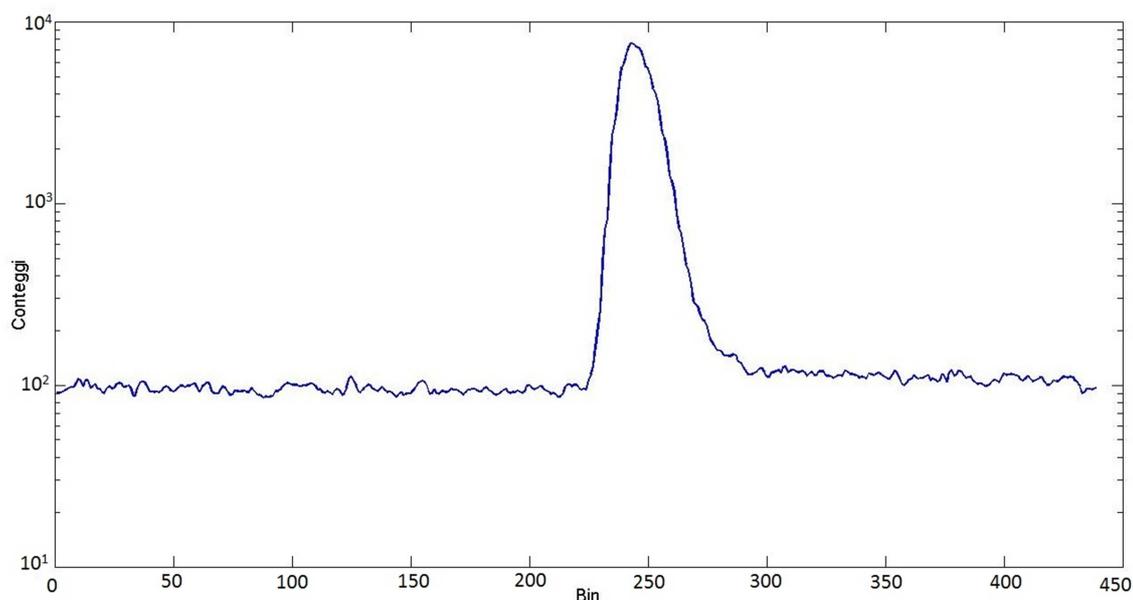


**Figura 3.19: a) tre repliche del segnale che devono essere sovrapposte all'interno di un unico periodo di ripetizione del laser b) curva finale nel caso in cui l'asse dei tempi fosse continuo c) curva finale e tre repliche nel caso reale in cui l'asse dei tempi è discreta.**

Il met\_2 e met\_3 sono meno affetti da questa problematica poiché utilizzano una larghezza del bin, della scala lineare, che è inferiore rispetto a quello della scala non lineare: in questo modo, cioè tramite una più fitta campionatura della scala temporale, si riesce a migliorare l'individuazione del superamento del periodo e a ridurre così l'eccedenza di tempo trascorso. Ne consegue anche una più corretta redistribuzione dei fotoni e una migliore sovrapposizione delle repliche. Il met\_1, invece, possiede un metodo analogo per ridurre gli effetti di una povera sovrapposizione delle repliche: in particolare, dopo la correzione delle non linearità differenziale, esegue una redistribuzione dei fotoni che cadono in un unico bin su un maggior numero di bin che hanno però una durata temporale che è una frazione di quella originaria. In ogni caso

ancora una volta queste considerazioni riguardo alle operazioni di *refolding* andranno riprese quando si valuterà la capacità di stima dei parametri ottici dei diversi metodi. Si presenta per completezza la curva *finale* secondo i vari metodi in Figura 3.20.





**Figura 3.20: Curve finali. In ordine met\_1, met\_2 e met\_3 rispettivamente : FWHM: 403 ps, 400 ps e 396.76 ps**

Come si può notare dalla Figura 3.20, le forme delle curve finali sono a prima vista simili per tutte e tre i metodi sebbene le larghezze a metà altezza siano leggermente diverse tra loro e in generale maggiore da quelle presentate per la singola replica nella Figura 3.4, Figura 3.5 e Figura 3.6. La maggiore larghezza della curva *finale* rispetto alla singola replica è legata a due fattori: la correzione della *DNL* e il *refolding*. Il primo tende ad allargare le singole repliche (come già detto in 3.1.1) mentre il secondo, come già accennato, può essere affetto da una cattiva sovrapposizione che causa un allargamento della curva finale.

Il primo effetto è visibile nella seguente Figura 3.21: in blu si rappresenta l'andamento della larghezza delle repliche della curva non corretta mentre in verde quello della curva corretta. Si è preso come esempio nella figura, il metodo di correzione met\_1 dal momento che un comportamento simile è stato osservato anche per gli altri due metodi. Si nota che prima della correzione si ha una notevole fluttuazione della *FWHM* che oscilla tra i valori di 270 ps e 140 ps: questo effetto è probabilmente legato alla presenza della *DNL* responsabile della forma frastagliata della curva come visibile in Figura 3.3. Infatti, proprio a causa della forma frastagliata della curva, si potrebbe avere una valutazione erronea della *FWHM* calcolando la larghezza di uno dei picchi presenti sul profilo ma non dell'intera replica. A seguito della correzione, come si è visto nella Figura 3.4, Figura 3.5 e Figura 3.6 la forma della curva diventa molto meno frastagliata e

si migliora così la valutazione della larghezza della curva stessa: questo porta all'andamento in verde osservato nella Figura 3.21. Si nota un aumento della larghezza media e una riduzione delle fluttuazioni della larghezza.

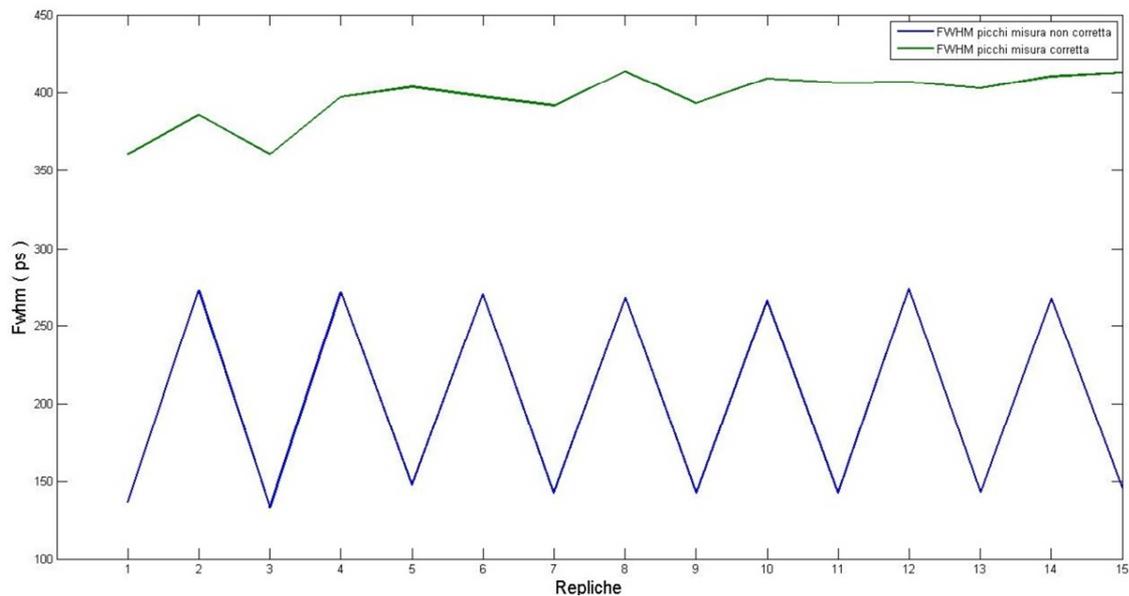


Figura 3.21: Andamento della FWHM delle repliche. In blu quelle della curva non corretta, in verde quelle della curva corretta

Anche in questo caso, come precedentemente accennato, una larghezza del bin lineare pari a 6 ps al posto di 24.41 ps non porta a riduzioni o variazioni sostanziali delle curve *refoldate* sia in termini di larghezza della curva sia in termini di definizione del profilo: le larghezze delle curve per *met\_2* e *met\_3* diventano rispettivamente 402 ps e 401 ps da confrontarsi con i precedenti 400 e 396 ps ottenuti con un bin di larghezza pari a 24.41 ps.

### 3.1.3. Il tempo morto di misura

Dopo aver introdotto nei precedenti capitoli le problematiche relative alla *DNL* e al *refolding*, si vuole discutere ora di un aspetto legato alle tempistiche di misura che si hanno con lo strumento *TDC*.

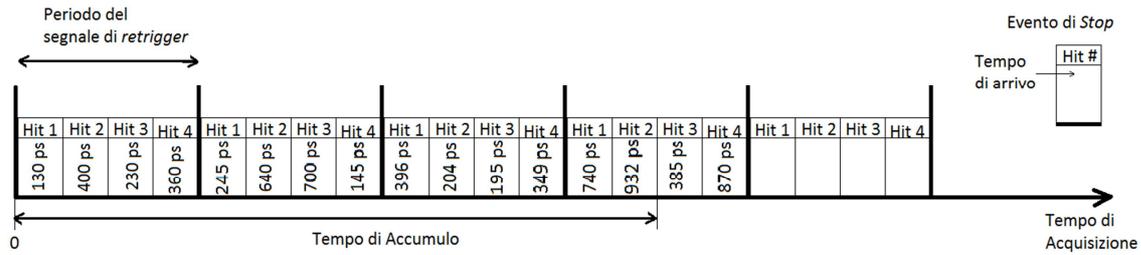
In un primo momento di caratterizzazione dello strumento, per compiere le misure si è utilizzato un *software* demo fornito dai produttori. Sono state eseguite diverse misure

di prova tra cui una che prevedeva di effettuare 100 ripetizioni con un tempo di acquisizione di 1 ms ciascuna: in questo modo il tempo totale di misura sarebbe dovuto essere di 100 ms. Quello che si è osservato è stato invece un tempo di misura totale per le 100 ripetizioni pari a 10 secondi portando a dire quindi che ciascuna ripetizione ha impiegato 100 ms per concludersi.

Da quest'osservazione è nata la problematica del tempo morto. In questo caso con il termine "tempo morto" s'intende quel tempo in eccesso, rispetto alla durata nominale dell'acquisizione, che lo strumento richiede per il completamento della misura. La causa della presenza di questo tempo è probabilmente da ricercarsi in parte nel blocco "TDC" ma soprattutto nel blocco "FPGA" che, per la riorganizzazione dei dati provenienti dal "TDC" e per la loro trasmissione ha bisogno di una certa tempistica. Un valore eccessivo del tempo morto tra due misure avrebbe potuto causare problemi durante la scansione. Questa avviene, infatti, in modo continuo e un ritardo elevato tra l'inizio di due misure successive porta a una riduzione del numero di curve acquisite sull'intera riga di scansione e quindi un impoverimento della risoluzione spaziale ottenibile.

Per ovviare a queste problematiche viene in aiuto una caratteristica del TDC: la durata del processo di misura può, infatti, essere controllata gestendo opportunamente due diversi tipi di tempistica. Il primo tipo prende il nome di tempo di acquisizione, il secondo di tempo di accumulo.

Con il termine "tempo di acquisizione" s'intende il tempo per il quale lo strumento rimane complessivamente in uno stato attivo, ricevendo i segnali provenienti dai rivelatori, processandoli e memorizzando i tempi di arrivo nella propria memoria *FIFO*. Il "tempo di accumulo" definisce l'intervallo di tempo per il quale si vogliono raccogliere gli eventi di rivelazione nella memoria. In altre parole: rappresenta l'intervallo di tempo per il quale volta per volta si desidera rileggere i dati nella memoria. Lo schema in Figura 3.22 meglio chiarisce le definizioni. Inoltre, le differenze e i ruoli di questi due tempi sono più facilmente individuabili analizzando il codice utilizzato per il procedimento di misura che è riportato nel successivo capitolo 3.1.4.



**Figura 3.22: Differenza tra tempo di acquisizione e tempo di accumulo. All'interno di un periodo del segnale di retrigger, cadono un certo numero di eventi di Stop che sono memorizzati nella memoria FIFO assieme ai tempi di arrivo. Il tempo di accumulo definisce l'intervallo temporale per il quale si rilegge la memoria**

Con un'opportuna combinazione di queste due tempi è possibile ridurre quello che è stato definito come tempo morto.

Per mostrarlo si riporta nella Tabella 3.1 il valor medio del tempo morto misurato su 10 misure consecutive variando il rapporto tra tempo di acquisizione e tempo di accumulo oltre che il valore del tempo di acquisizione.

**Tabella 3.1: Valor medio del tempo morto (in ms) al variare del rapporto tempo acquisizione e tempo accumulo.**

<b>Tempo morto (ms)</b>	<b>Tempo di acquisizione (ms)</b>						
	<b>1000</b>	<b>700</b>	<b>500</b>	<b>300</b>	<b>100</b>	<b>50</b>	<b>1</b>
<b>1</b>	69.75	79.36	88.05	88.43	95.01	75.69	24.04
<b>T<sub>acq</sub>/T<sub>acc</sub> 10</b>	8.76	8.08	9.50	7.98	6.85	9.92	-
<b>100</b>	0.72	0.90	0.92	0.75	0.87	-	-

Per le prove a 1 ms e 50 ms non sono stati analizzati tutti i rapporti  $T_{acq} / T_{acc}$  per via del valore minore del millisecondo che il tempo di accumulo avrebbe dovuto assumere e in una fase preliminare non era noto se e quale effetto questo avrebbe potuto avere. Era d'altro canto noto che difficilmente si sarebbe successivamente utilizzato lo strumento in tali regimi temporali.

Si può notare dalla Tabella 3.1 come il tempo morto, per tutti i tempi di acquisizione, decresca notevolmente all'aumentare del rapporto  $T_{acq} / T_{acc}$  raggiungendo i valori minimi quando questo è pari a 100. Questa prima osservazione porta a considerare la

necessità di utilizzare un elevato rapporto tra tempo di acquisizione e tempo di accumulo durante le misure per ridurre il tempo morto tra queste.

Viene ora da chiedersi quale sia la migliore scelta del tempo di acquisizione che porta al minimo tempo morto. È opportuno considerare ora, che proprio a causa del tempo morto, il tempo di misura reale è dato dal tempo di accumulo al quale va sommato il tempo morto stesso.

Riportare l'incremento percentuale del tempo di misura teorico, cioè il tempo di accumulo, favorisce quindi una migliore interpretazione dei risultati. L'incremento è calcolato come:

$$\frac{(\text{tempo di misura reale} - \text{tempo di misura teorico})}{\text{tempo di misura teorico}}$$

In Tabella 3.2 si riporta quindi il valore dell'incremento percentuale del tempo di misura al variare del rapporto tra tempo di acquisizione e tempo di accumulo.

**Tabella 3.2: Variazione (incremento) percentuale del tempo di misura al variare del rapporto tempo acquisizione e tempo accumulo**

$\Delta\%$ del tempo morto	<i>Tempo di acquisizione (ms)</i>							
		1000	700	500	300	100	50	1
	1	7	11	18	29	95	151	2404
$T_{acq}/T_{acc}$	10	0.9	1.15	1.9	2.7	6.7	19.8	-
	100	0.07	0.13	0.18	0.25	0.87	-	-

È evidente dalla Tabella 3.2 che a parità di rapporto  $T_{acq} / T_{acc}$ , il minor incremento percentuale si osserva per tempi di acquisizione lunghi. Contemporaneamente per tempi di acquisizione corti l'incremento percentuale subisce un'impennata soprattutto per rapporti  $T_{acq} / T_{acc}$  bassi. Si conferma inoltre l'andamento individuato anche in Tabella 3.1: fissato il tempo di acquisizione, l'incremento percentuale diminuisce all'aumentare del rapporto  $T_{acq} / T_{acc}$  e quindi alla diminuzione del tempo di accumulo.

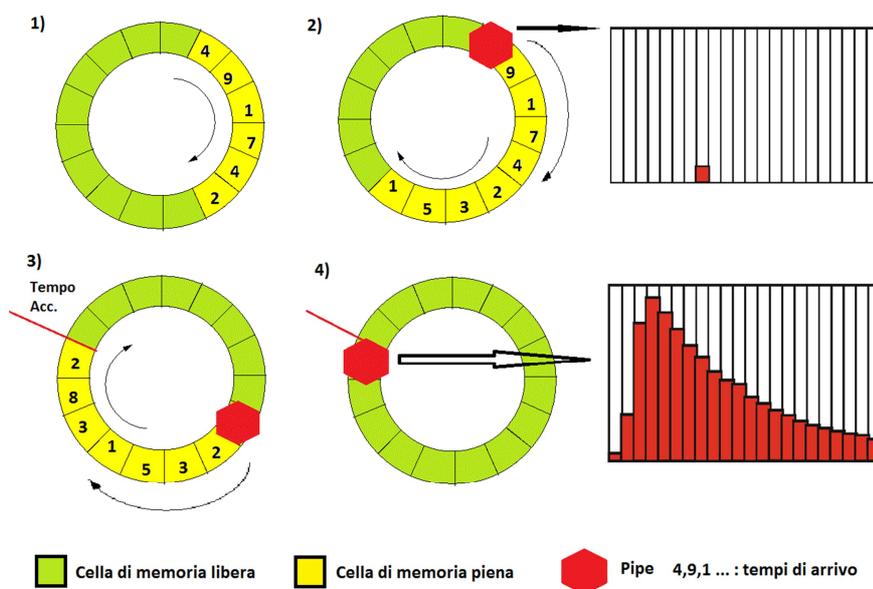
Nel complesso quindi la migliore condizione s'individua per tempi di acquisizione lunghi e un elevato valore del rapporto  $T_{acq} / T_{acc}$  cioè un basso valore del tempo di

accumulo. Questa è la motivazione che ha portato a utilizzare tale configurazione delle tempistiche durante tutte le successive misurazioni.

### 3.1.4. Il processo di misura del TDC

Prima di riportare il codice che rappresenta il procedimento di misura del TDC è utile capire come questa avviene in linea di principio. In particolare bisogna capire come lavora quel componente virtuale che in precedenza è stato chiamato “*pipe*” (si veda 2.2.3 - L’innovazione: Il TDC): questo è l’elemento essenziale che permette la rilettura della memoria nella quale sono stati salvati i dati relativi ai tempi di arrivo dei fotoni.

Una visualizzazione del processo di misura potrebbe essere quella in cui si immagina la memoria FIFO del TDC come un *buffer* circolare che si riempie dei dati relativi all’arrivo dei fotoni: contestualmente, il blocco definito *pipe* rilegge la porzione della memoria stessa in cui sono contenuti i dati relativi al tempo di accumulo definito. Durante questa rilettura la *pipe* riordina i tempi di arrivo dei fotoni, ricostruendo l’istogramma della distribuzione dei fotoni e contemporaneamente libera la memoria FIFO. Uno schema del processo di misura è presentato in Figura 3.23.



**Figura 3.23: Schema di rilettura della memoria.1) La memoria FIFO accumula dati per un tempo pari a quello di accumulo. 2-3) La pipe scorre la memoria riordinando i tempi di arrivo, costruendo l'istogramma finale e 4) liberando la memoria FIFO che è quindi pronta per ricevere altri dati.**

Una volta presentato il procedimento di misura si può proseguire con la presentazione del codice attraverso il quale questo è implementato.

Come prima cosa si riporta il codice che permette l'inizializzazione del TDC.

```
/* Inizializzazione del TDC e della pipe */
void InitSC1000(int Board){

// Legge le impostazioni per il TDC dal file di inizializzazione
// e la dimensione del bin
ret = sc_tdc_init_inifile("tdc_gpx3.ini");
ret = sc_tdc_get_binsize2(P.Spc.ScBoard[Board], &P.Spc.Factor);

// Inizializzazione della "pipe"
for(id=0;id<P.Num.Det;id++){
    struct sc_pipe_tdc_histo_params_t params;
    params.depth = BS32; // 32 bit per canale temporale dell'istogramma
    params.channel = id; // identificativo della "pipe"
    params.modulo = ((P.Spc.Refolding>1)?P.Spc.Refolding:0); // Scelta
della modalità di refolding
    params.binning = P.Spc.Scale; // histogram binning is set to 1
    params.offset = 0; // offset dal quale parte l'istogramma
    params.size = SC1000_MAXBIN; // dimensione dell'istogramma in numero di
canali temporali params.accumulation_ms = P.Spc.TimeM; // tempo di accumulo
memoria
    params allocator_owner = NULL; // parametri per la gestione della
memoria
    params.allocator_cb = NULL; // parametri per la gestione della memoria

// apertura della "pipe"
ret = sc_pipe_open2(P.Spc.ScBoard[Board], TDC_HISTO, (void *)&params);

}

// carica la curva di Background and deriva i coefficient per la
correzione della DNL
CalcNonlinSC1000();
}
```

In questa fase si impone allo strumento di leggere il file di inizializzazione("sc\_tdc\_init\_inifile("tdc\_gpx3.ini")") contenente le impostazioni da utilizzare, tra cui il fattore di divisione della frequenza.

In seguito si definiscono i parametri che caratterizzano la *pipe* di cui i più importanti sono:

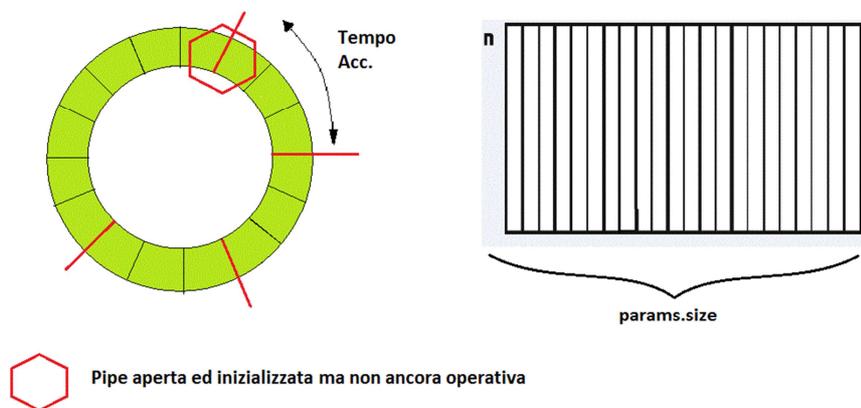
- "*params.size*" che definisce la lunghezza in numero di bin che l'istogramma dovrà avere. Il numero di bin deve essere calcolato in base al periodo del segnale di sincronismo e al fattore di divisione della frequenza: in particolare sarà dato da

$$\frac{\text{Periodo del laser}}{\text{larghezza temporale del bin}} \times \text{fattore di divisione}$$

- “*params.accumulation\_ms*” che definisce il tempo di accumulo della pipe

Una volta definiti questi parametri, si crea e si rende quindi operativa la pipe con il comando “*sc\_pipe\_open2*”. Infine si calcolano i coefficienti di non linearità che serviranno poi per le operazioni di *refolding* (“*CalcNonlinSC1000()*”).

La Figura 3.24 aiuta a capire gli effetti del codice sopra riportato.



**Figura 3.24:** Con la definizione della *pipe* si stabiliscono alcuni parametri importanti tra cui il tempo di accumulo e la lunghezza in canali dell'istogramma. Si può immaginare che questa fase di inizializzazione comporti una divisione della memoria *FIFO* in tanti segmenti di larghezza  $T_{acc}$  (segmenti rossi in figura). Le celle in verde sono gli spazi di memoria liberi

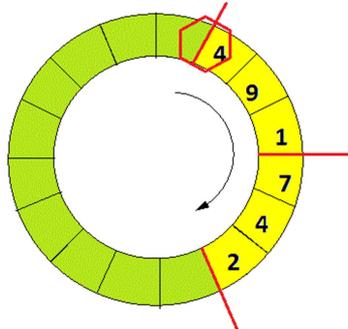
Una volta terminata questa fase di inizializzazione si può passare alla misura vera e propria la quale viene fatta iniziare mandando il comando

```
// inizio dell'acquisizione
ret = sc_tdc_start_measure2(P.Spc.ScBoard[Board],SC1000_TIME_INFINITY);
```

La variabile “*SC1000\_TIME\_INFINITY*” rappresenta il tempo di acquisizione. Viste le considerazioni fatte nel paragrafo 3.1.3 riguardo alle migliori condizioni che portavano a un ridotto tempo morto di misura si è deciso di utilizzare un valore del tempo di acquisizione pari a  $10^5$  secondi: in questo modo, dal momento che i tempi di misura tipici

che si intende utilizzare sono dell'ordine dei 25 ms, il rapporto  $T_{acq} / T_{acc}$  è estremamente elevato permettendo di poter trascurare il tempo morto di misura.

Una volta passato il comando "sc\_tdc\_start\_measure2", i dati relativi ai tempi di arrivo di fotoni cominciano a riempire la memoria *FIFO*.



**Figura 3.25: Una volta passato il comando "sc\_tdc\_start\_measure2", i dati relativi ai tempi di arrivo di fotoni cominciano a riempire la memoria *FIFO* (celle gialle). Le celle di memoria libere sono rappresentate in verde**

Una volta che è stata avviata la misura, per poter effettivamente ottenere l'istogramma della distribuzione di fotoni lo si deve richiedere alla *pipe*. In particolare è riportato il codice che permette l'interrogazione della *pipe* e il trasferimento dell'istogramma dal TDC al PC: di questo se ne occupa la funzione "PipeRead". In seguito si eseguono la correzione della *DNL* dell'istogramma ottenuto e il suo successivo *refolding* nella funzione "LinRefoldSC1000".

```
/* Trasferimento dati dal TDC */
void GetDataSC1000(void){

for(ib=0;ib<P.Num.Board;ib++){
  for(id=0;id<P.Num.Det;id++){

    // Richiesta dell'istogramma dalla pipe
    ret=PipeRead(ib,id);

    // Correzione della non linearità di NonLinArray e refolding.
    // IL risultato è caricato in LinArray, La cui dimensione è P.Chann.Num
    LinRefoldSC1000(SC1000_REFOLDTYPE,ib,id,NonLinArray,LinArray,P.Chann.Num);

  }
}
}
```

È riportato per completezza il contenuto della funzione "PipeRead".

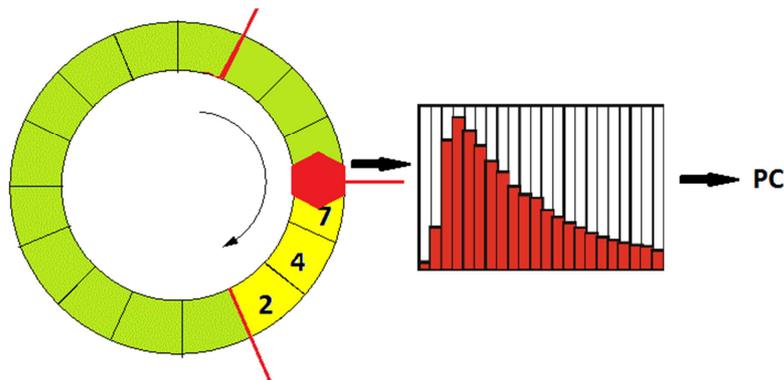
```

/* Interrogazione della pipe */
int PipeRead(int ib,int id){

do{
// Si richiede alla pipe di caricare l'istogramma nel vettore NonLinArray
ret=sc_pipe_read2(P.Spc.ScBoard[ib],P.Spc.Pipe[ib][id],(void *)&(NonLinArray),1000);
it++;
}while(ret<0 && it<5);

if(ret<0) ErrHandler(ERR_SC1000,ret,"PipeRead");
return ret;
}
    
```

Questa permette, tramite il comando "sc\_pipe\_read2", la riletta della memoria FIFO per una quantità corrispondente al tempo di accumulo, il trasferimento dell'istogramma dal TDC al PC e la memorizzazione nella variabile NonLinArray. I passaggi sono riassunti in Figura 3.26.



**Figura 3.26: Operazione di riletta della memoria FIFO di una quantità pari al tempo di accumulo. La pipe crea quindi l'istogramma e lo trasferisce al PC**

Quando si vuole interrompere la misura, le operazioni necessarie da compiere sono come prima cosa l'arresto dell'acquisizione di nuovi dati, eseguito tramite il comando "sc\_tdc\_interrupt2". Successivamente bisogna leggere dalla memoria tutti i dati che sono ancora presenti e che sono stati acquisiti fino al momento dell'interruzione della misura. Questo è compiuto tramite il ciclo "do-while" che è eseguito finché il valore di "ret", che indica il numero di istogrammi in memoria ancora da leggere (tramite la funzione "PipeRead"), resta positivo. Infine si può disabilitare la pipe ("sc\_pipe\_close2")

e de-inizializzare l'intero strumento("sc\_tdc\_deinit2"). Uno schema è riportato in Figura 3.27, mentre di seguito è riportato il codice che realizza queste operazioni.

```
/* Interruzione della misura e de-inizializzazione TDC */
void CloseSC1000(void){

    for(ib=0;ib<P.Num.Board;ib++){

        // interruzione della misura
        ret=sc_tdc_interrupt2(P.Spc.ScBoard[ib]);
        Delay(2.5);

        // rilettura della memoria ancora piena
        for(id=0;id<P.Num.Det;id++){
            do{

                ret=PipeRead(ib,id);

            }while(ret>0);

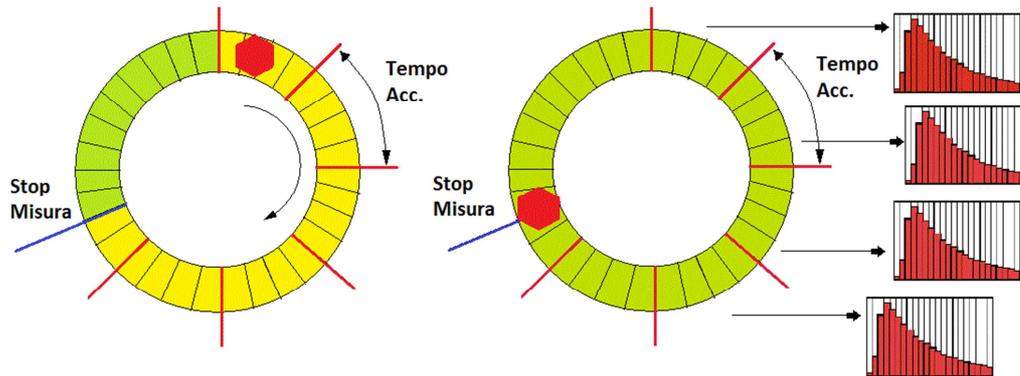
            // chiusura della pipe
            ret=sc_pipe_close2(P.Spc.ScBoard[ib],P.Spc.Pipe[ib][id]);
        }
        // de-inizializzazione del TDC
        ret=sc_tdc_deinit2(P.Spc.ScBoard[ib]);
    }
}
```

Il comando "Delay(2.5)" introduce un ritardo di 2.5 secondi tra l'interruzione della misura e la successiva rilettura della memoria. È stato necessario introdurre questo ritardo poiché si è osservato come in particolari condizioni di *count rate* e tempo di misura il *software TRS* subisse un arresto all'interno della funzione "PipeRead" poiché questa non ritornava nessun valore e non permetteva il proseguimento del codice.

In particolare si è notato come per alti *count rate*, maggiori di un milione di conteggi al secondo per singolo canale, e tempi di misura inferiori al secondo si verificasse sempre l'arresto del programma. Questo effetto è stato notato, anche se in maniera ridotta, a tempi di misura superiori al secondo. L'arresto del *TRS* è presumibilmente legato al fatto che il processo di interruzione della misura richiede una certa quantità di tempo, come anche riferito dai produttori, in cui si deve comandare allo strumento di interrompere l'acquisizione de dati: durante questo tempo non è possibile comunicare immediatamente con la *pipe* richiedendo un istogramma e un tentativo di farlo può

comportare un errore di comunicazione tra *PC* e *TDC* che porta all'interruzione del *software*.

In ogni caso, la semplice soluzione introdotta, e cioè il ritardo di 2.5 secondi sopra citato, ha risolto la problematica e non si è più verificato il blocco del *software*, almeno quando si utilizzava una sola lunghezza d'onda, mantenendo quindi il numero di conteggi al secondo ridotto rispetto al caso in cui siano invece attive tutte e 7.



**Figura 3.27: Processo di svuotamento del buffer necessario per la terminazione della misura. Una volta inviato al *TDC* il comando di fine misura bisogna, infatti, procedere alla lettura degli istogrammi ancora presenti in memoria prima di poter proseguire con una nuova misura o con la de-inizializzazione dello strumento.**

## 3.2. La movimentazione e la scansione

Veniamo ora a un altro aspetto della caratterizzazione dello strumento. In particolare si è eseguita una caratterizzazione del sistema di movimentazione e scansione presente sullo strumento per verificare che i cambiamenti introdotti (vedi 2.2.4), sia di tipo meccanico, sia di tipo *software* abbiano portato ai miglioramenti attesi.

Come già detto in 2.2.4, questo sistema di scansione utilizza due diversi motori elettrici passo-passo per poter eseguire movimenti sia lungo l'asse X sia lungo l'asse Y e quello che ci si attende dal sistema di movimentazione è una totale assenza di perdite di passi, cioè nessuna variazione della risoluzione con cui ogni passo è effettuato. Se così non fosse, si avrebbero seri problemi in fase di creazione delle mappe spaziali delle proprietà ottiche ad esempio. Inoltre l'assenza di perdite di passi deve essere garantita anche in situazioni in cui i motorini sono messi sotto sforzo, com'è il caso in cui l'unità di compressione del seno sia inclinata di 45°: in queste condizioni, infatti, sui motori passo-passo grava il peso dell'intero sistema di movimentazione (asta di movimentazione, carrello lungo X etc., si veda Figura 2.34) e quello del *probe* contenente i rivelatori *SiPM*.

Sono state quindi eseguite delle prove che permettessero di capire il grado di precisione della movimentazione, di tenuta a inclinazioni di 45° e infine il grado di rumorosità e vibrazioni ottenibili. In particolare, ogni prova, ripetuta cinque volte, ha previsto di compiere, separatamente per l'asse X e l'asse Y<sup>28</sup>, delle scansioni di un segmento lungo 20 cm. Questa distanza era coperta da carta millimetrata per meglio valutare la posizione del *probe* nel piano di movimentazione all'inizio della scansione e poi a scansione terminata, come rappresentato in Figura 3.28.

---

<sup>28</sup> L'asse X è definita lungo la direzione parallela al petto della paziente mentre l'asse Y lungo la direzione perpendicolare. Si veda Figura 2.34.



**Figura 3.28:** La carta millimetrata è stata utilizzata per valutare la perdita di passi dei motori sia lungo X sia lungo Y

In questo modo si è valutato se il *probe* alla fine della scansione tornasse nell'esatta posizione di partenza, condizione che permette di affermare l'assenza di perdita di passi. Tutte le prove sono state infine eseguite con un'inclinazione dell'unità di compressione del seno pari a 45°.

Per la valutazione delle vibrazioni percepite e del rumore si è utilizzata una scala da uno a dieci il cui significato è riportato in Tabella 3.3.

**Tabella 3.3:** Classificazione numerica utilizzata per la valutazione delle vibrazioni e del rumore della movimentazione.

	<b>Rumore</b>	<b>Vibrazioni</b>
1	<i>Molto silenzioso</i>	<i>Vibrazioni molto ridotte</i>
2	<i>Silenzioso</i>	<i>Vibrazioni ridotte</i>
3	<i>Poco rumoroso</i>	<i>Poche vibrazioni</i>
4	<i>Discretamente rumoroso</i>	<i>Discrete vibrazioni</i>
5	<i>Rumoroso</i>	<i>Vibrazioni presenti</i>
7	<i>Molto rumoroso</i>	<i>Vibrazioni molto presenti</i>
8-10	<i>Estremamente rumoroso</i>	<i>Vibrazioni estremamente presenti</i>

Si riportano i risultati per la direzione X in Tabella 3.4

**Tabella 3.4: Risultati delle prove di caratterizzazione del motore passo-passo lungo l'asse X**

<b>Velocità di spostamento (mm / sec)</b>	<b>Perdita di passi</b>	<b>Vibrazioni</b>	<b>Rumore</b>
20	No	1	2
30	No	1	1
40	No	2	2
50	No	2	3
60	No	3	3
70	No	3	4
80	No	4	5
90	No	8	7
110	No	10	10
120	No	10	10
130	No	10	10
140	No	10	10

Come si può notare dalla Tabella 3.4 in nessun caso sperimentato si è osservata una perdita di passi del motore in quanto il *probe*, terminata la scansione, è sempre tornato nell'esatta posizione di partenza. Si nota inoltre come le migliori condizioni in termine di rumore e vibrazione si ottengano per valori della velocità di spostamento ridotti fino a circa 60 mm/sec. In realtà, è possibile impostare valori di velocità per l'asse X anche fino a 80 mm/sec perché, a fronte di prestazioni in termini di vibrazioni e rumore inferiori rispetto a velocità più ridotte, il tempo di misura potrebbe ridursi di un fattore due che è un'eventualità auspicabile. Si ricorda, infatti, che l'attuale versione del mammografo compie una scansione avanzando di 1 mm ogni 25 ms lungo l'asse X, come visto in 2.1, e questo si traduce in una velocità di scansione pari a 40 mm/sec. Questa velocità è pari alla metà della massima velocità considerata accettabile, cioè, 80 mm/sec e che permetterebbe di acquisire per un tempo di 12.5 ms ad millimetro a patto di avere, comunque, con questo tempo di integrazione una quantità di conteggi ritenuta accettabile. Velocità maggiori di 110 mm/sec sono risultate del tutto inaccettabili per via dell'eccessivo rumore e vibrazioni introdotte.

Il problema delle vibrazioni ed eventuali perdite di passi nel sistema di scansione è evidentemente legato anche a un problema di misura e per questo è preferibile ridurne l'effetto. Per quanto riguarda invece i termini di rumore, questo è strettamente legato al fastidio che un'eccessiva rumorosità della strumentazione può causare in una paziente, la quale si trova già probabilmente in una situazione di disagio con l'aggiunta di un leggero dolore per la compressione del seno. Una ridotta rumorosità è quindi auspicabile.

Si prosegue ora con la presentazione dei risultati ottenuti per la direzione Y in Tabella 3.5.

**Tabella 3.5: Risultati delle prove di caratterizzazione del motore passo-passo lungo l'asse Y**

<b>Velocità di spostamento (mm / sec)</b>	<b>Perdita di passi</b>	<b>Vibrazioni</b>	<b>Rumore</b>
5.5	No	3	6
6.5	No	2	3
7.5	No	1	1
8.5	No	2	2
9.5	No	5	7
10.5	Si	10	8
11.5	Si	10	10

I valori delle velocità sperimentate lungo l'asse Y sono molto minori rispetto a quelli per l'asse X. Questo perché la scansione lungo l'asse X è quella che deve avvenire rapidamente vista la maggior distanza che si deve coprire. La distanza che si deve coprire lungo l'asse Y, una volta terminata la scansione di una riga e per passare a quella successiva, è, infatti, molto ridotta, pari a 1 mm, rispetto a una distanza lungo X di circa 10-15 cm.

In questo caso le velocità  $\geq$  di 10.5 mm/sec sono da escludere perché introducono perdite di passi. D'altro canto si nota che anche a velocità di 5.5 e 6.5 mm/sec la movimentazione è piuttosto rumorosa per via di particolari configurazioni. La scelta della velocità ottimale sembra quindi ricadere su 7.5 o 8.5 mm/sec.

Questa caratterizzazione ha quindi permesso di individuare le velocità ottimali lungo l'asse X e l'asse Y da utilizzare durante il procedimento di scansione. Si ricorda infine che questo procedimento è continuo cioè il *probe* è mosso lungo l'asse X continuamente senza aspettare la fine di una singola misura.

### **3.3. Il protocollo di misura**

Nei precedenti capitoli sono stati introdotti tutti gli elementi necessari per compiere una misura completa con il mammografo ottico *MAMMOT*: è stato descritto in dettaglio il processo di misura dalle correzioni della *DNL* fino ad arrivare alla gestione della *pipe* e dei tempi di accumulo del *TDC* passando per un'analisi dei tempi morti di misura. Si è inoltre presentata una caratterizzazione del sistema di movimentazione che ha permesso di individuare le velocità ottimali da utilizzare per ridurre il contributo di vibrazioni e rumore.

A questo punto si può descrivere il procedimento di misura che raccoglie gli elementi sopra citati. Riassumendo il procedimento di misura: dopo aver inizializzato il *TDC* si procede a attivare la movimentazione continua lungo l'asse X. Contemporaneamente, si esegue e si salva un numero di misure pari alla lunghezza della riga di scansione espressa in millimetri con un tempo di accumulo pari in genere a 25 ms. Terminata la riga di scansione, e quindi anche il numero di misure che si vuole salvare, si interrompe l'acquisizione e si pulisce la memoria, si effettua una movimentazione lungo Y per poi iniziare una nuova fase di acquisizione.

In questo procedimento si assume che ci sia una sincronizzazione tra l'inizio della movimentazione e l'inizio della misura e questa sincronizzazione si mantenga lungo tutto l'asse X. È ragionevole fare quest'ipotesi considerato che il motore non perde passi come mostrato in 3.2 e che il tempo necessario per attivare l'acquisizione con il *TDC* è minimo, pari circa a 20 ms.

Si possono ora mettere assieme tutti gli elementi e riportare quindi il codice completo per eseguire una tipica scansione con il *MAMMOT*.

```
// Inizializzazione del TDC
InitSC1000()

// Ciclo che permette di eseguire P.Num.Meas misure consecutive
// Questo numero è calcolato in base all'area di scansione selezionata
// e al passo di movimentazione lungo x e y
for(im=0;im<P.Num.Meas;im++){

// Permette di decidere che azione eseguire all'interno del ciclo
DecideAction();

// Permette di capire se bisogna effettuare una movimentazione passo-passo
if(P.Action.MoveStep)
MoveStep(&P.Step.Actual,CalcGoal,(char)(P.Step.Mode!=STEP_MULTI),P.Action.Staus);

// Permette di capire se è necessario resettare il TDC
if(P.Action.SpcReset)
    SpcReset(P.Action.Status,P.Meas.Clear,P.Meas.Stop);

// Permette di capire se bisogna avviare la movimentazione continua lungo x
if(P.Action.StartCont)
    StartCont(P.Action.Status);

// Acquisisce i dati dal TDC
GetDataSC1000();

}
```

Dopo aver inizializzato il *TDC* (“InitSC1000”) si entra nel ciclo che permette di eseguire un certo numero di misure: questo è definito in base all’area di scansione espressa in millimetri. La funzione “DecideAction” permette di definire quale sia l’azione da compiere all’interno dell’im-esimo ciclo che sia la movimentazione di un motorino o la necessità di resettare il *TDC*. La funzione “MoveStep” permette di compiere una movimentazione passo-passo dei motori al contrario di quanto fa “StartCont” che fa partire una movimentazione continua indipendente dalla misura. Infine la funzione “SpcReset” permette di svuotare la memoria del *TDC* e di iniziare nuovamente una nuova acquisizione.

L’interruzione dell’acquisizione e la successiva pulizia della memoria sono necessarie perché durante il movimento lungo l’asse Y, il *TDC* continua a ricevere dati e riempire la memoria *FIFO*. Se si facesse partire una scansione subito dopo il movimento lungo Y, e si leggesse la memoria, i primi dati sarebbero quelli acquisiti durante il movimento lungo Y e non quelli d’interesse acquisiti lungo l’asse X. Risulta quindi necessario ripulire la

memoria *FIFO* di questi dati che non sono di interesse. Una seconda motivazione per la pulizia della memoria riguarda la necessità di ristabilire la sincronizzazione tra movimentazione e acquisizione prima di iniziare una nuova scansione.

Si riporta inoltre il contenuto della funzione “*SpcReset*” che è eseguito solo nel caso in cui sia attivata la *flag* “*P.Spc.Trash*”: questa indica se nei precedenti passaggi sono state svolte delle operazioni che possono aver introdotto dei ritardi mentre l’acquisizione è attiva producendo quelli che si definiscono dati *spazzatura* o *trash* appunto. Nel qual caso si entra nella funzione “*ClearSC1000*” che permette l’eliminazione dei dati *spazzatura* e il ripristino di una corretta sincronizzazione dell’acquisizione.

```
/* Esegue un reset del TDC a seguito del valore dell'indicatore di
P.Spc.Trash*/
void SpcReset(char Status, char Clear, char Stop){
    // Se è stata prodotta spazzatura allora
    //si procede alla pulizia e al reset del TDC
    // tramite la funzione ClearSC1000
    if(P.Spc.Trash) ClearSC1000();

    P.Spc.Trash=FALSE;
}
```

Nella pratica, la pulizia della memoria *FIFO* è eseguita interrompendo la misura con il comando “*sc\_tdc\_interrupt2*” e chiamando la funzione “*PipeRead*” tante volte quante il valore di ritorno “*ret*” resta positivo: quest’ultimo infatti indica il numero di istogrammi ancora presenti nella memoria. In seguito si fa partire nuovamente l’acquisizione con il comando “*sc\_tdc\_start\_measure2*”. Anche in questo caso è necessario introdurre un ritardo tra l’interruzione della misura e la riletture della memoria per i motivi detti in precedenza in 3.1.4.

```
/* Pulizia dei dati contenuti della memoria FIFO */
void ClearSC1000(void){

    for(ib=0;ib<P.Num.Board;ib++){

        // Interruzione della misura
        ret=sc_tdc_interrupt2(P.Spc.ScBoard[ib]);
        Delay(2.5);

        // Rilettura della memoria ancora piena
        for(id=0;id<P.Num.Det;id++){
            do{

                ret=PipeRead(ib,id);

            }while(ret>0);
        }
    }

    // Inizio dell'acquisizione
    ret=sc_tdc_start_measure2(P.Spc.ScBoard[ib],SC1000_TIME_INFINITY);

}
```



# Capitolo IV

## Prove di validazione dello strumento di mammografia ottica

In questo capitolo si presentano delle prove che sono state eseguite con il fine di valutare le prestazioni dello strumento in termini di accuratezza e linearità. In particolare sono state compiute delle misure su vari *phantom* di cui un particolare tipo ha permesso di valutare la capacità complessiva dello strumento di ottenere un'immagine e un altro quella di rivelazione.

### 4.1. Effetti del *count rate* sui parametri ottici stimati

Una prima prova che è stata eseguita mirava all'identificazione degli effetti che un eccessivo *count rate* ha sulla ricostruzione dei parametri ottici.

È stato, infatti, precedentemente mostrato in 1.5 che un superamento del *count rate* di misura, il quale dovrebbe limitarsi all'1% della frequenza del laser, può introdurre delle distorsioni sulla curva di distribuzione dei fotoni. In particolare quello che ci si attendeva è un aumento del valore del coefficiente di assorbimento all'aumentare della percentuale della frequenza del laser utilizzata come *count rate*.

Questa osservazione è corretta per la scheda *Becker SPC130* la quale possiede quindi i limiti già descritti (vedi 2.2.3 - La configurazione di partenza: La scheda per TCSPC). Per quanto riguarda il *TDC*, invece, un'estensione delle conclusioni valide per la *SPC130* può in linea di principio non essere corretta. Infatti, ci sono alcuni elementi nel *TDC* che rendono interessante un'analisi accurata dell'effetto del superamento del *count rate* della statistica di singolo fotone.

Uno di questi è sicuramente la minima distanza temporale tra due impulsi di *Stop* che lo strumento può processare correttamente: si ricorda che questa è pari a 5.5 ns mentre per la scheda *SPC130* questo valore sale a 150 ns. Già questo elemento porterebbe a dire

che, nel caso del *TDC*, la perdita di conteggi legata al tempo morto ed espressa dalla relazione di Figura 2.28, abbia un impatto molto minore e quindi la deformazione della curva che ne consegue si osservi solo a valori del *count rate* molto maggiori rispetto a quanto accade per la *SPC130*.

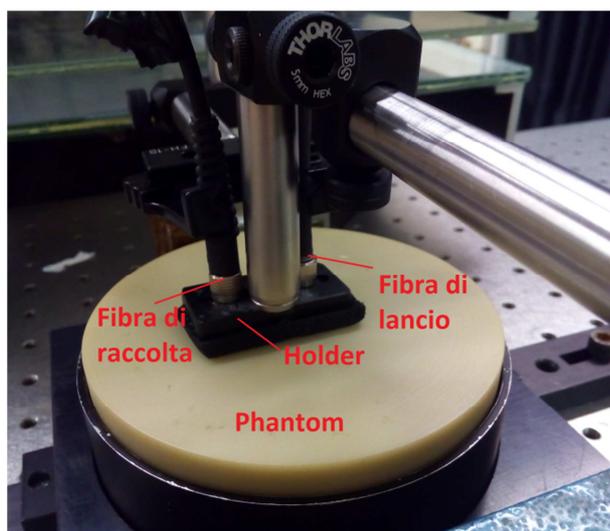
È presente un'altra caratteristica che rende il *TDC* particolarmente interessante: si è già detto (si veda 2.2.2 - L'innovazione: Il TDC) che il *chip* non è in grado di processare dei segnali di *Stop* se la loro distanza è minore di 5.5 ns. Tuttavia, se dovessero accadere degli eventi con una distanza minore di 5.5 ns, lo strumento permette di memorizzarli in un *buffer* che può contenere fino a 32 avvenimenti per input di ingresso per poi successivamente elaborarli e processarli: nel complesso quindi il tasso di arrivo di fotoni che può essere elaborato, in più fasi, è di 185 MHz. Questa è quella che è definita *multi-hit capability*, cioè la capacità di rivelare l'arrivo di due fotoni, distanti tra loro meno di 5.5 ns, su un ingresso quando ancora non è conclusa l'elaborazione dell'arrivo del primo fotone, e che permette di ridurre il rischio di perdita di conteggi legato al tempo morto. Questo accorgimento dovrebbe rendere il *TDC* meno soggetto, e in linea di principio esente, alle deformazioni che si hanno a seguito dell'elevato *count rate* di misura. Tuttavia la riletture di questo *buffer* comporta una certa tempistica ed è quindi sconsigliato eccedere con il *count rate* per trovarsi poi nella condizione di dover utilizzare questo tipo di memoria.

Le prove sono state eseguite su un *phantom* in una geometria di riflettanza. Le fibre di lancio e di raccolta sono state fissate alla superficie del *phantom* tramite un opportuno supporto (o *holder* in inglese) che ha permesso di mantenere la distanza tra queste pari a 2 cm: questo per garantire di rientrare nelle ipotesi della teoria diffusiva che vede perdere la sua validità per distanze interfibra eccessivamente ridotte. Per semplicità, nel corso delle prove è stata utilizzata una sola lunghezza d'onda (la 635 nm) dal momento che i risultati ottenuti possono essere estesi senza troppe difficoltà anche alle altre lunghezze d'onda. Si è inoltre badato a ripetere le prove utilizzando una frequenza del segnale di sincronismo di 10 MHz e di 40 MHz. Il rivelatore utilizzato è un modulo *SiPM*, *Excelitas*. Ogni misura è stata ripetuta tre volte utilizzando sia la scheda *SPC130* sia il *TDC* per la rivelazione. I parametri ottici sono stati ricavati utilizzando un *software* sviluppato nel corso degli anni dal gruppo di ricerca che lavora nell'ambito della spettroscopia risolta nel tempo. Il *software*, chiamato *FIT*, ricava i valori del coefficiente di

assorbimento e di diffusione attraverso un confronto tra la curva (di trasmittanza o di riflettanza) sperimentale ottenuta e una curva data dalla convoluzione tra la soluzione teorica dell'equazione della diffusione e la funzione di risposta del sistema (ossia la *IRF*). Il *FIT* estrae quindi i parametri ottici che meglio corrispondono al profilo della curva sperimentale, utilizzando un algoritmo di minimizzazione dell'errore "*Chi Quadro*" (in particolare l'algoritmo di *Levenberg-Marquardt*) che esprime la distanza della curva sperimentale da quella risultante dalla convoluzione. La variazione del *count rate* di misura è stata ottenuta tramite la movimentazione degli attenuatori circolari che permettono di gestire la quantità di luce di illuminazione senza agire direttamente sulle sorgenti, cosa che influenzerebbe la forma e durata degli impulsi emessi.

Riassumendo le condizioni di misura:

- Prove su *phantom* "TA":  $\mu_a = 0,125 \text{ cm}^{-1}$  ;  $\mu'_s = 8,523 \text{ cm}^{-1}$
- Geometria di riflettanza con distanza interfibra pari a 2 cm (si veda Figura 4.1)
- Lunghezza d'onda di 635 nm
- Frequenza di ripetizione del laser pari a 10 MHz e 40 MHz
- Rivelatore utilizzato: *modulo SiPM*
- Sistema di acquisizione: scheda *SPC130* e *TDC*



**Figura 4.1:** Disposizione di geometria di riflettanza utilizzata durante le misure di valutazione degli effetti di un alto *count rate*.

In particolare in Tabella 4.1 si riportano i valori di  $\mu'_s$  e  $\mu_\alpha$  ottenuti con i due sistemi di misura *TDC* e *SPC130* variando il *count rate* e utilizzando una frequenza di ripetizione del laser pari a 10 MHz. Il *count rate* è misurato come percentuale della frequenza del laser. Le prove indicate con “ – ”, nella colonna “**SPC130**” in tabella non sono state eseguite per l’eccessiva distorsione della curva di distribuzione causata dall’elevato *count rate*: per queste prove si era, infatti, prossimi (~ 3 Mcps) al valore di 5 MHz in cui si ha il 50% di perdita dei conteggi come detto in 2.2.2. Per quanto riguarda il *count rate* di misura impiegato per il *TDC*, si è preferito indagare dei valori prossimi all’1%, come prevede la statistica di singolo fotone, e successivamente aumentare il valore fino al 50% oltre il quale si sono verificati alcuni problemi di tipo *software*, in particolare nella rilettura della memoria, che causano l’interruzione improvvisa del programma di acquisizione dati *TRS*. Inoltre, non si è preferito utilizzare *count rate* più elevati del 50% perché nelle misure *in vivo* difficilmente si raggiunge un tasso di conteggi così elevato (il tipico *count rate* massimo ottenibile è di qualche punto percentuale, ma estremamente dipendente dalla lunghezza d’onda utilizzata).

**Tabella 4.1: Valore di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  utilizzando TDC e la scheda SPC130 al variare del *count rate* misurato come percentuale della frequenza del laser.  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  hanno unità di misura  $\text{cm}^{-1}$**

<b>10 MHz</b>	<b>TDC</b>		<b>SPC130</b>	
	$\mu_a$	$\mu'_s$	$\mu_a$	$\mu'_s$
<b>0.8</b>	0.118	10.539	0.117	10.345
<b>0.9</b>	0.116	10.547	0.118	10.493
<b>1.5</b>	0.110	10.271	0.120	10.716
<b>3</b>	0.109	10.111	0.122	10.797
<b>5</b>	0.111	10.188	0.124	11.105
<b>10</b>	0.108	9.858	0.129	11.918
<b>15</b>	0.108	9.689	0.136	13.010
<b>20</b>	0.107	9.442	0.145	14.097
<b>25</b>	0.109	9.404	0.151	15.100
<b>30</b>	0.110	9.214	0.155	15.800
<b>35</b>	0.106	8.796	-	-
<b>40</b>	0.109	8.662	-	-
<b>45</b>	0.107	8.363	-	-
<b>50</b>	0.104	7.962	-	-

Si riportano ora in Tabella 4.2 gli stessi risultati ottenuti però con una frequenza di ripetizione del laser pari a 40 MHz.

Tabella 4.2: Valore di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  utilizzando *TDC* e la scheda *SPC130* al variare del count rate misurato come percentuale della frequenza del laser.  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  hanno unità di misura  $\text{cm}^{-1}$

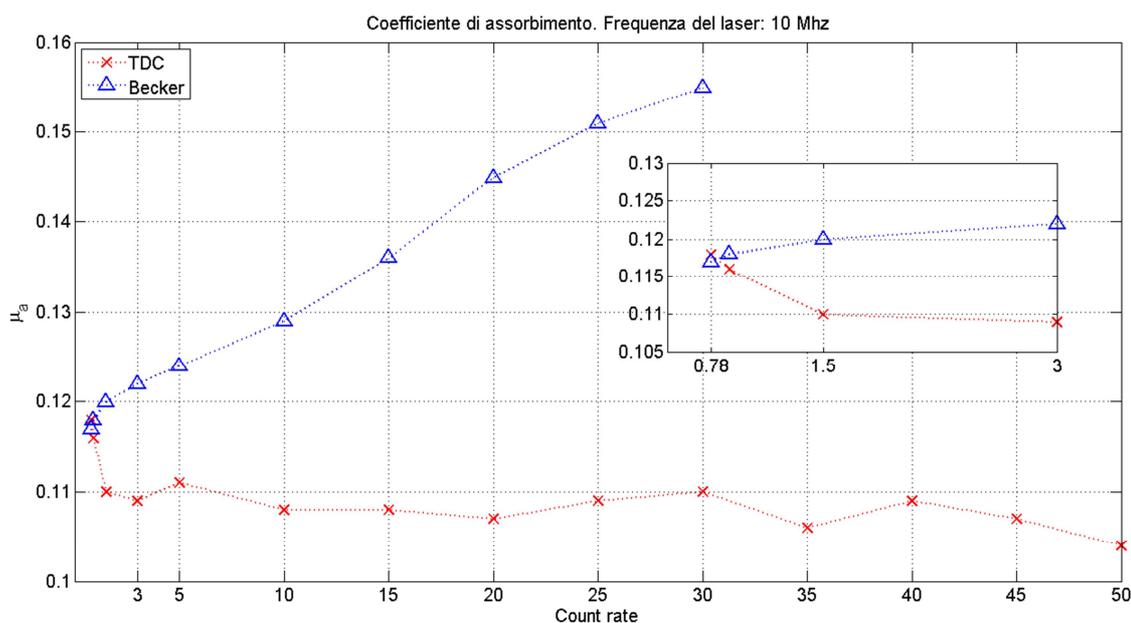
40 MHz Count rate	TDC		SPC130	
	$\mu_a$	$\mu'_s$	$\mu_a$	$\mu'_s$
0.2	0.117	10.744	0.116	10.904
0.3	0.110	10.367	0.118	11.079
0.5	0.109	10.282	0.117	11.047
0.7	0.107	10.214	0.116	10.995
1	0.108	10.195	0.118	11.166
3	0.102	9.784	0.119	11.330
5	0.103	9.681	0.121	11.462
10	0.101	9.293	0.125	12.149
15	0.097	8.762	-	-
20	0.093	8.300	-	-

Per gli stessi motivi in precedenza illustrati ci si è limitati a misure fino al 10% della frequenza del laser per quanto riguarda la scheda *SPC130*. Con il *TDC* invece ci si è limitati al 20%.

Per una migliore visualizzazione dei risultati si riportano in alcuni grafici gli andamenti dei coefficienti di assorbimento e *scattering* al variare del *count rate*, sia per il *TDC* sia per la scheda *SPC130*.

### Prove a 10 MHz

Si considera per primo l'andamento del coefficiente di assorbimento quando si usa una frequenza di ripetizione del laser pari a 10 MHz



**Figura 4.2: Andamento del coefficiente di assorbimento al variare del *count rate* di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso *count rate***

Dal grafico sopra riportato si nota chiaramente un andamento fortemente crescente, nel caso della scheda *SPC130*, del coefficiente di assorbimento al crescere del *count rate*. Questo è in linea con quanto atteso: infatti, come già detto in 1.5, in particolare osservando la Figura 1.13, un alto *count rate* di misura può portare a delle distorsioni della curva e una di queste prevede un maggior peso dei fotoni *early* e contestualmente uno smorzamento della coda della distribuzione di fotoni. Ciò si traduce in un maggior valore del coefficiente di assorbimento ricostruito. Vi è inoltre un altro effetto da considerare, quello della saturazione dell'elettronica come già visto in Figura 2.28: infatti un *count rate* del 30% a 10 MHz equivale a 3 Mcps che è prossimo al limite per il quale la metà dei fotoni in arrivo viene ignorata.

La crescita segue un andamento circa monotono e si raggiunge un incremento percentuale tra il valor minimo e quello massimo pari a circa il 32.6% del valore ottenuto al minore *count rate* di misura. Tuttavia il tasso di crescita rimane ridotto e circa pari al 4% per *count rate* inferiori a 3% mostrando come il limite di singolo fotone (che rigorosamente varrebbe l'1% della frequenza del laser) si possa sostanzialmente estendere appunto fino a tale valore mantenendo una distorsione della curva ridotta. Già da un valore del 5% del *count rate* invece, l'incremento percentuale del coefficiente di

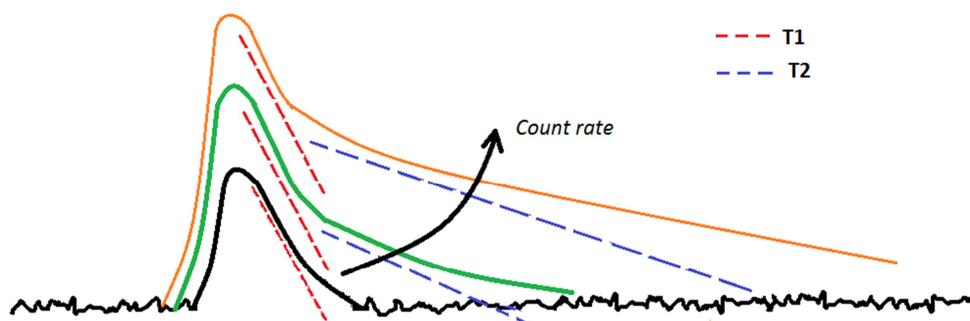
assorbimento raggiunge circa il 10% ed è quindi sconsigliato utilizzare *count rate* più elevati.

Per quanto riguarda il *TDC* è invece interessante notare come, a parte una rapida diminuzione a bassi *count rate*, poi il coefficiente di assorbimento tenda a stabilizzarsi a un valore poco superiore a  $0.1 \text{ cm}^{-1}$  ( $0.108 \text{ cm}^{-1}$ ). Il decremento sperimentato tra il valor massimo e quello minimo è pari a circa il 11.7% del valore ottenuto al minore *count rate*. È da notare inoltre che nel solo intervallo di *count rate* tra 0.78% e 3% si sperimenta un decremento pari a 7.5% mentre nella rimanente parte del grafico il decremento è di circa il 4.2% mostrando quindi come vi sia un parziale assestamento di  $\mu_a$  superato un *count rate* del 3%.

Per confrontarsi con la scheda *SPC130* si calcola il decremento percentuale osservato tra 0.78% e 30% per  $\mu_a$ : questo risulta 7.2% per il *TDC*, molto minore del 32% della scheda. Complessivamente, questo andamento, o meglio, l'assenza di una crescita del coefficiente di assorbimento, dimostra quanto previsto e cioè che il *TDC* sia meno soggetto ai classici effetti di distorsione per alti *count rate* presenti invece nel caso della *SPC130*. Tuttavia, non è da trascurare il seppur ridotto decremento che si è osservato soprattutto tra 0.78%-5% e che potrebbe essere indicativo di altri tipi di limitazioni.

La natura di queste eventuali limitazioni non è ragionevolmente da ricercarsi nell'elevato *count rate*: infatti un valore del *count rate* pari al 50% della frequenza di ripetizione del laser porta ad avere un tasso di 5 Mcps che è ben al di sotto dei limiti discussi in 2.2.2 - L'innovazione: Il TDC. Un'ipotesi è invece che quest'andamento sia legato alla "coda" della risposta temporale del *SiPM*. In particolare: a bassi *count rate* la curva di distribuzione emerge relativamente poco dal rumore di fondo e la coda ha quindi un andamento che è predominato dalla costante di tempo veloce tra le due presenti (come detto in 2.2.2 - L'innovazione: Il SiPM) poiché il resto si confonde nel rumore di fondo. Al crescere del *count rate*, la curva di distribuzione si delinea maggiormente sul rumore di fondo rispetto al caso di bassi *count rate*: una conseguenza è che ora la coda della curva esprime entrambe le costanti di tempo senza che la seconda parte si confonda nel rumore di fondo. La seconda costante di tempo però si è detta essere in genere dell'ordine del nanosecondo e questo porta a una pendenza negativa della coda meno marcata nella seconda metà della coda stessa rispetto alla prima parte dominata invece dalla costante di tempo veloce. Infine questa minore inclinazione della

coda può tradursi, in fase di estrazione dei parametri ottici, in un minore assorbimento stimato. La discussione è schematizzata in Figura 4.3.



**Figura 4.3: Modifica (amplificata) della porzione della coda che risulta osservabile al variare del *count rate*. Un maggior *count rate* può risultare in una maggiore visibilità della coda (lenta) che si traduce in una riduzione del coefficiente di assorbimento. T1 e T2 indicano le due costanti di tempo rispettivamente veloce e lenta.**

Una volta che la coda lenta ha espresso tutta la sua dinamica non si assiste più a una variazione della forma dell'impulso e quindi la stima del coefficiente di assorbimento tende a stabilizzarsi. Questo effetto, potrebbe essere presente anche nel caso delle acquisizioni con la scheda *SPC130*, tuttavia questa è affetta dalle problematiche discusse in precedenza (2.2.3- La configurazione di partenza: La scheda per TCSPC) che possono avere un peso maggiore rispetto alla dinamica ora descritta. Infatti, si nota come quest'ultima causi una ridotta variazione percentuale (<12%) rispetto a quella introdotta dalle distorsioni da cui è affetta la *SPC130* (32 %). Inoltre, la minore larghezza temporale del bin della scheda *SPC130* rispetto a quella del *TDC*, permette di ottenere una migliore risoluzione della curva di distribuzione e quindi un miglior delineamento della curva stessa rispetto al fondo già a bassi *count rate*. Ciò si traduce in una più corretta espressione della dinamica della coda e quindi un minore (in realtà assente) decremento della stima del coefficiente di assorbimento.

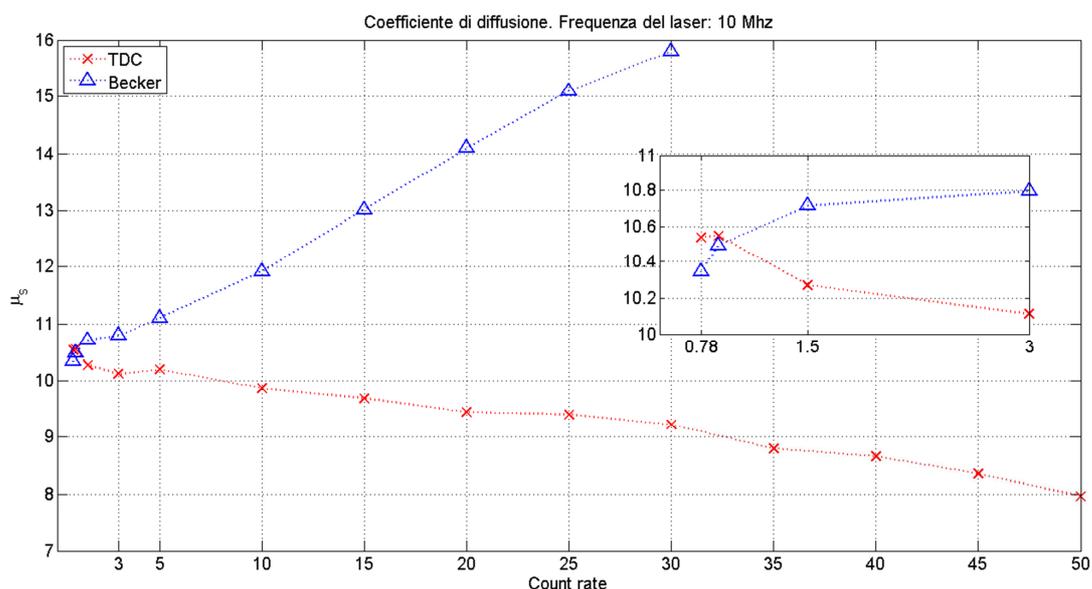
Per quanto riguarda invece la correttezza dei valori ottenuti del coefficiente di assorbimento, questi sono da confrontarsi con il valore di assorbimento nominale del *phantom*, pari a  $\mu_a = 0,125 \text{ cm}^{-1}$ . Si nota come i valori ricostruiti utilizzando il *TDC* siano sempre inferiori rispetto al valore nominale (si raggiunge una variazione massima percentuale rispetto al valore teorico di circa -16% partendo da un valore di -5%), mentre, come atteso, c'è accordo tra i valori ottenuti con la *SPC130* e il valore nominale a

bassi *count rate*, fino a 5%-10% (la variazione percentuale rimane all'interno del -7%), mentre ad alti *count rate* si assiste a un sovradimensionamento di  $\mu_a$  (la variazione raggiunge il 24% del valore teorico). In ogni caso, in questa fase non si è voluto sottolineare eccessivamente la correttezza del valore assoluto ottenuto del coefficiente di assorbimento poiché si è lavorato con un sistema non ottimizzato e inoltre i valori di assorbimento e diffusione del *phantom* considerati nominali sono affetti da un certo grado di incertezza. Per riassumere:

**Tabella 4.3: Frequenza del laser: 10 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di assorbimento valutato sul range completo di *count rate* e sull'intervallo in comune tra TDC e SPC130**

$\Delta\% \mu_a$	TDC	SPC130
<b>Range completo</b>	-11.7	32.6
<b>0.78% e 30%</b>	-7.2	

Si prosegue ora mostrando l'andamento del coefficiente di diffusione.



**Figura 4.4: Andamento del coefficiente di diffusione al variare del *count rate* di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso *count rate***

Si nota anche in questo caso una rapida crescita del valore del coefficiente di diffusione all'aumentare del *count rate* quando si considera la scheda SPC130: il valore

dell'aumento percentuale è qui pari a circa il 36%. Anche questo comportamento è in parte atteso, perché legato a un fenomeno di accoppiamento del coefficiente di diffusione e del coefficiente di assorbimento. Questo accoppiamento rappresenta infatti una correlazione positiva di  $\mu_a$  su  $\mu'_s$ , in particolare un aumento del coefficiente di diffusione all'aumentare del coefficiente di assorbimento. Una discussione è condotta in 4.2.

Per quanto riguarda il *TDC*: si nota una chiara riduzione del valore del coefficiente di diffusione pari a circa il 24%, mentre è pari a 12.5% nel *range* 0.78%-30%, ancora molto inferiore rispetto al valore ottenuto per la scheda *SPC130*. In questo caso l'andamento è abbastanza monotono e per l'accoppiamento tra coefficiente di assorbimento e diffusione segue, in maniera amplificata, quello del coefficiente di assorbimento. Nonostante le ipotesi fatte per spiegare gli andamenti del coefficiente di assorbimento e di diffusione ricostruiti con il *TDC*, rimangono tuttavia ancora alcuni dubbi sui motivi di tali tendenze.

Valutando l'accordo tra il valore nominale  $\mu'_s = 8,523 \text{ cm}^{-1}$  e i valori ricostruiti si osserva come, sia per il *TDC* sia per la scheda *SPC130*, quelli ricostruiti rappresentano nel complesso una sovrastima del valore nominale. In particolare per la scheda *SPC130* si raggiunge una variazione percentuale rispetto al valore teorico anche del 85%, mentre per il *TDC*, la variazione massima è limitata al 23%, al minimo *count rate*, per poi raggiungere, al 50% del *count rate*, il valore di -6%.

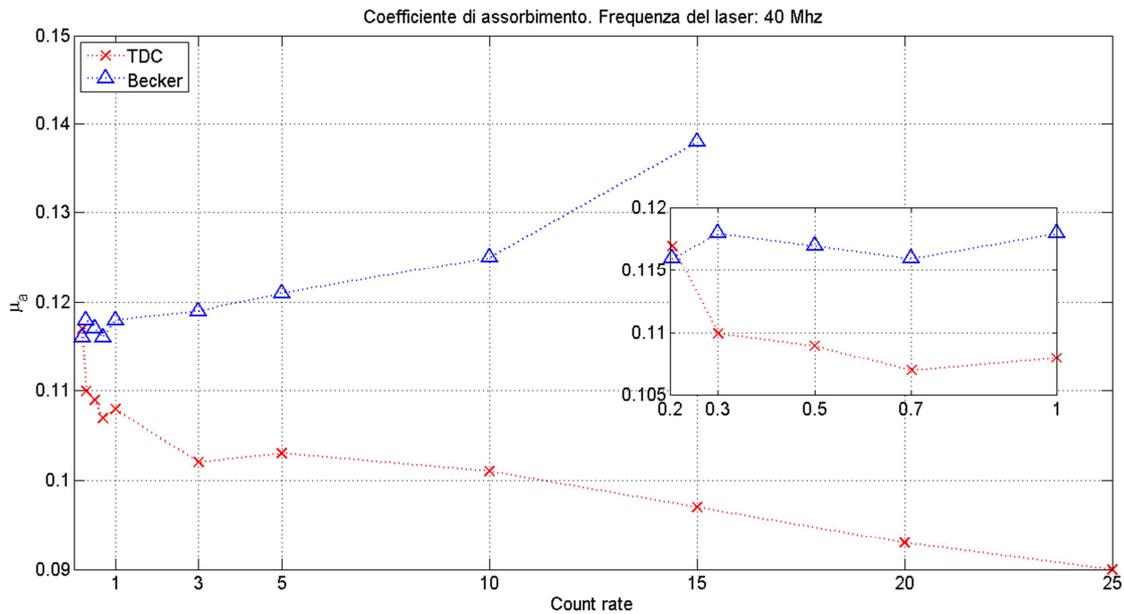
Per riassumere:

**Tabella 4.4: Frequenza del laser: 10 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di diffusione valutato sul *range* completo di *count rate* e sull'intervallo in comune tra *TDC* e *SPC130***

$\Delta\% \mu_s$	<i>TDC</i>	<i>SPC130</i>
<b><i>Range completo</i></b>	-24	36
<b><i>0.78% e 30%</i></b>	-12.5	

Prove a 40 MHz

Si prosegue ora mostrando l'andamento del coefficiente di assorbimento nel caso si utilizzi una frequenza di ripetizione del laser pari a 40 MHz



**Figura 4.5: Andamento del coefficiente di assorbimento al variare del *count rate* di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso count rate**

Si possono notare andamenti simili a quelli individuati in Figura 4.2 per le stesse motivazioni. Si osservano un incremento percentuale del coefficiente di assorbimento pari a 18.7% per la scheda *SPC130* e un decremento del 23.4% per il *TDC*. In questo caso il decremento percentuale per il *TDC* nell'intervallo 0.2%-15% è pari a 17.5%, circa paragonabile a quello ottenuto per la *SPC130*: questo perché probabilmente gli effetti precedentemente ipotizzati riguardanti la coda del *SiPM* vengono amplificati dalla più alta frequenza di ripetizione del laser. Inoltre anche in questo caso il valore nominale di assorbimento è maggiore rispetto a quelli ricostruiti dal *TDC* (la variazione percentuale rispetto al valore nominale parte da un minimo di -6% per raggiungere il -28%) e in accordo con quelli ricostruiti dalla *SPC130* fino a circa il 5%-10% (la variazione percentuale rispetto al valore nominale parte da un minimo di -7% per raggiungere circa il -1%). Per riassumere:

Tabella 4.5: Frequenza del laser: 40 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di assorbimento valutato sul range completo di count rate e sull'intervallo in comune tra TDC e SPC130

$\Delta\% \mu_a$	TDC	SPC130
Range completo	-23.4	
0.2% e 15%	-17.5	18.7

Si riporta infine l'andamento del coefficiente di diffusione al variare del count rate.

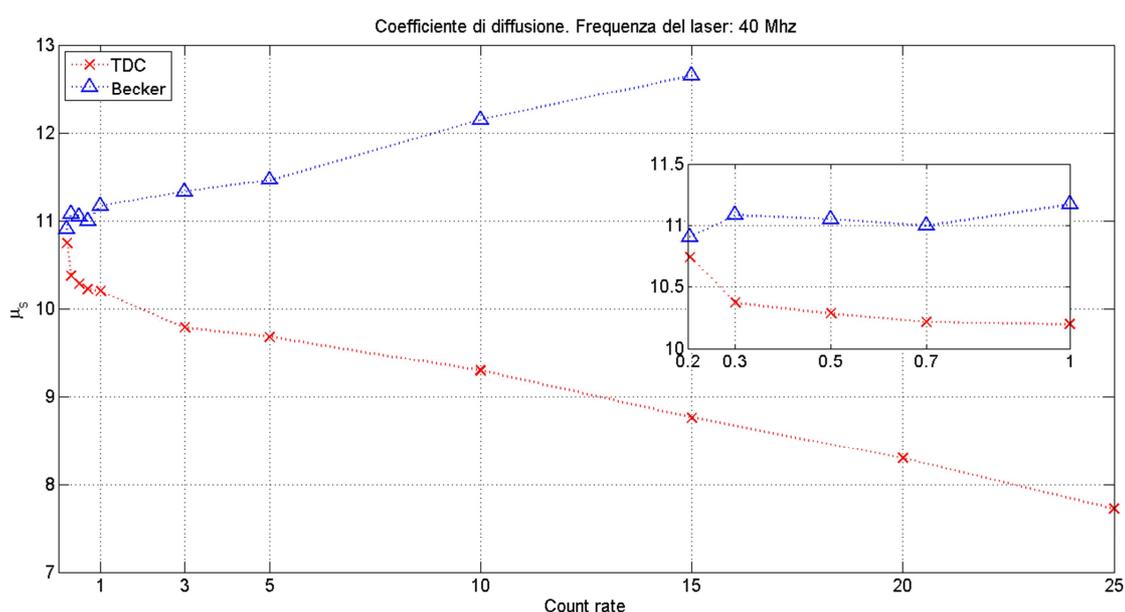


Figura 4.6: Andamento del coefficiente di diffusione al variare del count rate di misura espresso come percentuale della frequenza del laser. Nell'inset uno zoom della zona di basso count rate

Come nel caso di una frequenza di ripetizione di 10 MHz, si nota l'andamento crescente per la SPC130 che segue quello del coefficiente di assorbimento e lo stesso vale per il TDC. I valori della variazione percentuale del coefficiente di diffusione rispetto al valore iniziale sono rispettivamente 16% e -28%, mentre il decremento per il TDC nel range 0.2%-15% è pari a -18.4% che è anche paragonabile al valore calcolato per la SPC130. Per quanto riguarda i valori ricostruiti, questi sono complessivamente superiori al valore nominale sia per il TDC sia per la SPC130: in particolare per il TDC la variazione percentuale rispetto al valore nominale parte dal 26% per poi scendere al -9%; per la

scheda *SPC130*, invece la variazione parte dal 30% per raggiungere il 48%. Per riassumere:

**Tabella 4.6: Frequenza del laser: 10 MHz. Variazione percentuale del coefficiente di diffusione valutato sul *range* completo di *count rate* e sull'intervallo in comune tra *TDC* e *SPC130***

$\Delta\% \mu_s$	<i>TDC</i>	<i>SPC130</i>
<b>Range completo</b>	-28	16
<b>0.2% e 15%</b>	-18.4	

### Conclusioni

Si riassumono ora le conclusioni della discussione effettuata.

La scheda *SPC130* ha seguito gli andamenti attesi sia a 10 MHz, sia a 40 MHz. Il comportamento del *TDC*, invece ha aperto degli interrogativi riguardo il funzionamento ad alti *count rate*.

Tuttavia, si è mostrato come il *TDC*, a 10 MHz, subisca una variazione percentuale sia del coefficiente di assorbimento sia di quello di diffusione, che è notevolmente inferiore rispetto a quanto sperimentato con la *SPC130*. È da notare però che le variazioni per i due sistemi di rivelazione hanno segno opposto, indicative della presenza di fenomeni di distorsione diversi tra loro.

Nel caso di una frequenza di ripetizione pari a 40 MHz, invece, le variazioni percentuali sono paragonabili tra i due strumenti di misura: questo è probabilmente legato alla maggiore importanza che assume la lunga coda del *SiPM* a questa frequenza.

Si può a questo punto fare un confronto tra gli incrementi osservati a 10 MHz e 40 MHz. Calcolando gli incrementi osservati nell'intervallo 3%-15%, l'unico in comune in entrambe le situazioni, si riportano i risultati in Tabella 4.7.

**Tabella 4.7: Variazione percentuale del coefficiente di assorbimento nelle varie configurazioni valutato nel range 3%-15%**

$\Delta\% \mu_a$ 3%-15%	<i>TDC</i>	<i>SPC130</i>
<b>10 MHz</b>	-0.64	11.7
<b>40 MHz</b>	-4.9	15.8

Osservando la tabella, si può quindi ragionevolmente concludere che un più alto tasso di ripetizione del laser causa maggiori variazioni percentuali del coefficiente di assorbimento sia per il *TDC* sia per la scheda *SPC130*. Per questo è preferibile una ridotta frequenza di ripetizione. Inoltre il *TDC* mostra delle variazioni minori rispetto al *SPC130* ad entrambe le frequenze sperimentate ma la minor variazione percentuale si raggiunge proprio con il *TDC* con una frequenza di ripetizione di 10 MHz.

Analoghe considerazioni valgono per il coefficiente di diffusione.

**Tabella 4.8: Variazione percentuale del coefficiente di diffusione nelle varie configurazioni valutato nel range 3%-15%**

$\Delta\% \mu_s$ 3%-15%	<i>TDC</i>	<i>SPC130</i>
<b>10 MHz</b>	-4.1	20.5
<b>40 MHz</b>	-9.5	12.1

La discussione ha quindi portato in luce le prestazioni del *TDC* quando si utilizza un *count rate* che non rispetti strettamente le condizioni imposte dalla tecnica di *Time Correlated Single Photon Counting*. Si è mostrato come nel complesso il *TDC* sia meno soggetto a deformazioni delle curve e conseguentemente si sono ottenute delle variazioni dei parametri ottici con il *count rate* che sono limitate (<28% nel caso peggiore) e, entro il 10% della frequenza del laser, risultano accettabili. La minor variazione percentuale si è ottenuta tuttavia con una frequenza del laser pari a 10 MHz.

Queste caratteristiche, oltre a quelle già citate in 2.2.2 - L'innovazione: Il *TDC* (basso costo per canale, ridotto tempo morto, alto numero di eventi processabili), risultano a favore dell'utilizzo del *TDC* se posto a confronto con la scheda *SPC130*.

## 4.2. Il protocollo MEDPHOT

Un'ulteriore prova di validazione dello strumento che è stata eseguita è basata sul parziale svolgimento del protocollo MEDPHOT<sup>(45)</sup>. Questo è un protocollo di misura che è utile per la valutazione delle prestazioni di uno strumento per le applicazioni di ottica diffusiva ed è valido per la caratterizzazione di mezzi omogenei.

Spesso le caratteristiche dei vari strumenti di ottica diffusiva sono espresse in termini delle specifiche tecniche quali, ad esempio, la risoluzione temporale. Tuttavia, queste non permettono un facile confronto tra strumenti impiegati per la stessa applicazione ma che utilizzano diversi approcci e tecnologie. Basti pensare all'impossibilità di confrontare una risoluzione temporale di un sistema che utilizza sorgenti impulsive con una sensibilità nella modulazione della luce in un sistema nel dominio delle frequenze. In genere vi sono inoltre delle differenze importanti tra i vari strumenti, negli algoritmi di analisi dei dati che impediscono un confronto diretto.

Da queste considerazioni nasce la necessità di stabilire un sistema di valutazione che sia il più possibile indipendente dalle specifiche *hardware* dello strumento, dalla tecnica di misura e dal metodo di interpretazione dei dati ma sia piuttosto basato sui risultati di misura ottenuti, in particolare sui parametri fisici (e non sugli eventuali risultati clinici). Inoltre il sistema di valutazione dovrebbe permettere di individuare delle procedure generali applicabili a tutti gli strumenti di ottica diffusiva che siano mirate alla valutazione delle caratteristiche salienti di un sistema di *photon migration*.

Un tale protocollo di valutazione è utile ad esempio nelle fasi di sviluppo o di modifica di nuovi strumenti, permettendo un'indagine delle prestazioni ottenute. Permetterebbe inoltre di valutare il mantenimento della qualità delle misure di uno strumento, fattore molto importante ad esempio durante le sperimentazioni cliniche. Infine permetterebbe una modalità di confronto tra strumenti diversi.

Una risposta a queste esigenze è appunto il protocollo MEDPHOT. Questo è formato da cinque tipi di valutazione che sono effettuate:

- Accuratezza
- Linearità
- Rumore

- Stabilità
- Riproducibilità

L'**accuratezza**, già definita come la capacità di uno strumento di ottenere un valore per la quantità misurata,  $X_{misurato}$ , il più possibile vicino al valore considerato vero,  $X_{conv\ vero}$ , può essere quantificata tramite l'errore relativo della misura, definito come:

$$\varepsilon = \frac{X_{misurato} - X_{conv\ vero}}{X_{conv\ vero}}$$

Questo parametro è particolarmente rilevante in quelle misure in cui è importante il valore reale di una proprietà ottica di un costituente d'interesse o nella caratterizzazione di un tessuto.

La **linearità** invece, rappresenta la capacità di uno strumento di seguire i cambiamenti di un parametro, senza introdurre delle distorsioni. In particolare, la linearità può essere investigata confrontando la dipendenza dei valori misurati di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  rispetto a quelli considerati veri mettendo in luce degli accoppiamenti, in particolare dell'assorbimento sullo *scattering* che possono causare distorsione sullo *scattering* stesso. Questi accoppiamenti sono legati all'inadeguatezza del modello della diffusione nel descrivere il comportamento dei mezzi in particolari intervalli di valori del coefficiente di assorbimento e del coefficiente di diffusione: ad esempio, una condizione in cui un mezzo sia caratterizzato da un alto coefficiente di assorbimento e contemporaneamente un basso coefficiente di diffusione (condizione che viola l'ipotesi di isotropia della radianza verificata quando  $\mu'_s \gg \mu_a$ , si veda 1.3.2) può portare a un accoppiamento tra i due termini con il rischio di una stima errata dei parametri ottici.

Il protocollo *MEDPHOT* che è stato eseguito durante il lavoro di tesi si è limitato tuttavia a compiere le valutazioni di accuratezza e linearità. Questo perché le prove di validazione eseguite sono mirate a un'analisi che sia di tipo preliminare e che permetta di comprendere se i cambiamenti introdotti in termini di strumentazione possano o no avere delle potenzialità e, nel caso così non fosse, ricercare nuove soluzioni.

Anche se una completa esecuzione del protocollo *MEDPHOT* porta quindi a un maggior contenuto informativo, il solo test di accuratezza e linearità può essere indicativo delle prestazioni ottenibili dal sistema in studio il quale non ha ancora subito

un processo di ottimizzazione che può avvenire, nel caso, dopo i risultati del protocollo stesso.

### *Modalità di esecuzione del protocollo*

In particolare, il protocollo *MEDPHOT* è stato eseguito su un totale di 32 *phantom* solidi cilindrici omogenei (4.5 cm di altezza, 10.5 di diametro). I *phantom* sono realizzati utilizzando resina epossidica, polvere di diossido di titanio ( $TiO_2$ ) come materiale diffondente e inchiostro nero come materiale assorbente: seguendo un'opportuna ricetta sono stati prodotti quattro serie di otto elementi ciascuna. Ogni serie, nominata tramite una lettera, ha un diverso valore del coefficiente di diffusione (A, B, C, D a cui corrispondono rispettivamente  $\mu'_s = 5, 10, 15, 20 \text{ cm}^{-1}$ ), e all'interno di ogni serie variano i valori del coefficiente di assorbimento (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 corrispondono rispettivamente a  $\mu_a = 0, 0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 \text{ cm}^{-1}$ ). Questi sono valori che, seguendo le indicazioni, si dovrebbero ottenere. Nella realtà i valori possono essere anche molto diversi soprattutto per quanto riguarda il coefficiente di diffusione. In particolare si ha per il coefficiente di diffusione a 905 nm: A = 2.26, B = 4.52, C = 6.78, D = 9.04  $\text{cm}^{-1}$  e per il coefficiente di assorbimento 1 = 0.05, 2 = 0.09, 3 = 0.13, 4 = 0.17, 5 = 0.20, 6 = 0.24, 7 = 0.28, 8 = 0.32  $\text{cm}^{-1}$ . Questi sono i valori considerati convenzionalmente veri per le successive valutazioni e sono stati ottenuti da varie serie di precedenti misurazioni.

Ogni misura, costituita da tre ripetizioni, è stata eseguita in una geometria di riflettanza con una distanza interfibra di 2 cm ad una lunghezza d'onda di 905 nm. La scelta di questa particolare lunghezza d'onda è dipesa dalla maggiore intensità di segnale ottenibile rispetto alle altre lunghezze d'onda. Mentre la scelta della geometria di riflettanza è stata fatta per garantire un buon livello di segnale ( $\sim 5 \times 10^5$  conteggi al secondo) poiché da valutazioni preliminari si era osservato come, utilizzando la geometria di trasmittanza, non si riuscisse a raggiungere un buon livello di segnale già per gli ultimi *phantom* della serie C.

Le misure sono state acquisite sia con la scheda *SPC130* sia con il *TDC* per poter confrontare i due sistemi di rivelazione. Inoltre, quando si è utilizzato il *TDC* sono state

acquisite le curve impiegando le tre diverse modalità di correzione della *DNL* presentate in 3.1.1. Sono state acquisite inoltre delle curve prive di qualsiasi tipo di correzione della non linearità in modo da poter avere un riscontro degli effetti della *DNL* sulla ricostruzione dei parametri ottici. Ogni misura infine è stata ripetuta a un *count rate* pari all'1% e al 10% della frequenza del laser, la quale è stata prima di 10 MHz e successivamente di 40 MHz.

La struttura e l'ordine di esecuzione delle misure sono riassunti in Tabella 4.9. In particolare i numeri indicano l'ordine che si è seguito nella valutazione delle condizioni, e le lettere quello che si è seguito nella valutazione del *count rate*.

**Tabella 4.9: Struttura e ordine delle misure eseguite per il protocollo MEDPHOT. I numeri indicano l'ordine con cui sono state eseguite le misure, le lettere l'ordine con cui è stato valutato il *count rate***

<i>Strumento utilizzato</i>	<i>TDC</i>		<i>Becker</i>	
	<i>Count rate</i>			
<i>Frequenza del laser</i>	<i>1%</i>	<i>10%</i>	<i>1%</i>	<i>10%</i>
<i>10 MHz</i>	1(a)	1(b)	2(a)	2(b)
<i>40 MHz</i>	3(a)	3(b)	4(a)	4(b)

È stata eseguita una misura della risposta del sistema all'inizio di ogni serie, affacciando la fibra di lancio e quella di raccolta separate da un sottile strato di Teflon bianco (0.2 mm) che simulasse la direzione casuale di arrivo dei fotoni sul rivelatore che si ha in una reale misura su un mezzo diffusivo e quindi riempire completamente l'angolo di accettazione della fibra di raccolta. I parametri ottici sono stati estratti utilizzando il *software* già presentato, il *FIT*.

Utilizzando la frequenza di 10 MHz, non è stato possibile raggiungere il *count rate* del 10% della frequenza del laser desiderato nel caso dei *phantom* B7, B8, C7, C8, D4-D8; mentre nemmeno il *count rate* del 1% è stato raggiunto nel solo caso di D8. In ogni caso le misure sul *phantom* D8 non sono state eseguite poiché non è stato possibile ottenere una segnale sufficiente a far emergere la curva di distribuzione dal rumore di fondo. Per

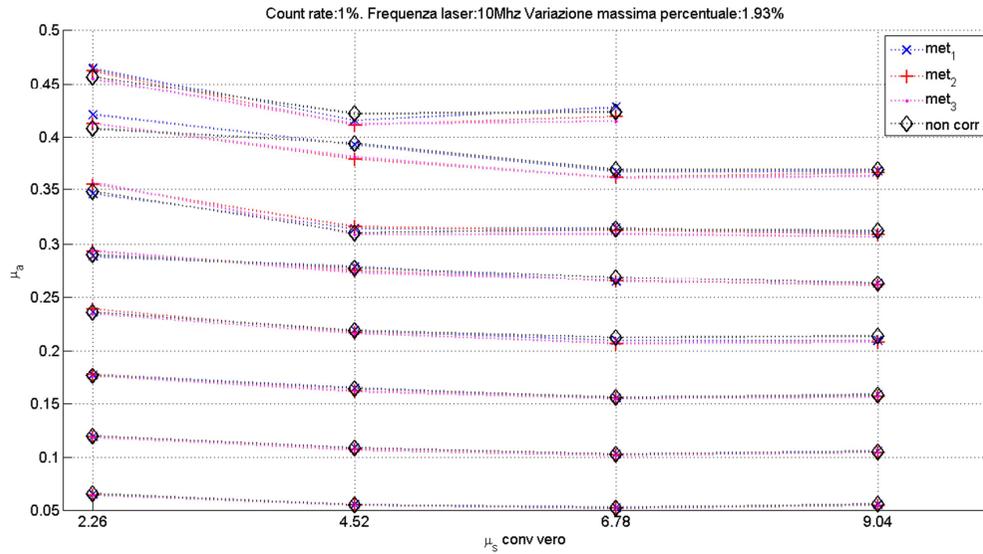
quanto riguarda la frequenza di 40 MHz non è stato possibile raggiungere il *count rate* del 10% per i *phantom* C7, C8, D4-D8.

### *Discussione dei risultati*

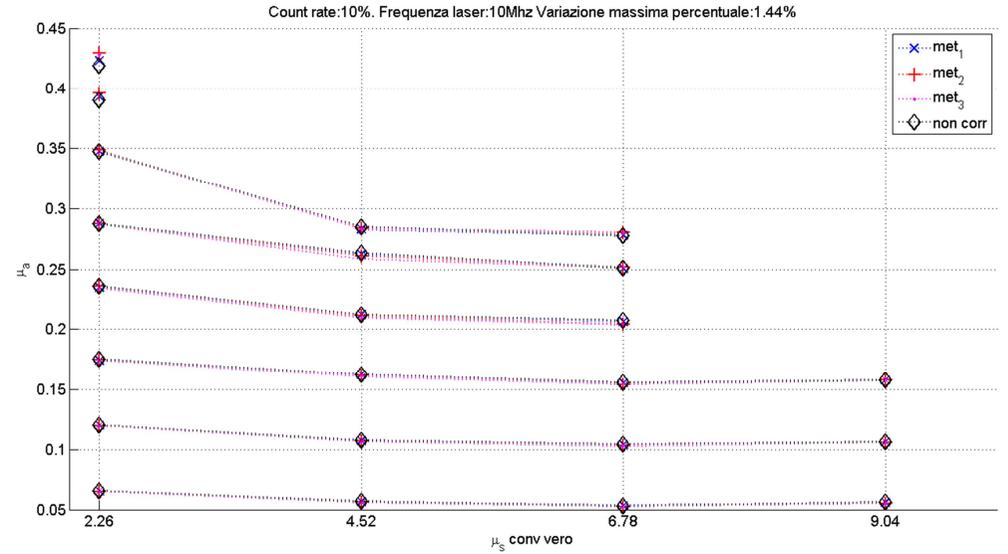
Uno degli scopi dell'applicazione del protocollo *MEDPHOT* è stato anche quello di valutare quale sia il migliore metodo di correzione della non linearità tipica del *TDC*. Come si è, infatti, già detto nel capitolo 3.1.1, ciò che è realmente importante nella scelta del miglior metodo di correzione della *DNL* è la capacità di ricostruzione dei parametri ottici.

Per questo motivo si mostrano ora dei grafici del coefficiente di assorbimento rispetto al coefficiente di *scattering* convenzionalmente vero e viceversa nelle varie condizioni sperimentate di *count rate* e frequenza del laser e per i vari metodi di correzione della non linearità. In questa fase, ciò su cui ci si è concentrati, sono le eventuali differenze nella ricostruzione dei parametri dei vari metodi di correzione e non tanto sul significato delle relazioni tra assorbimento e *scattering* che emergono da questo tipo di grafici e sui quali si ritornerà successivamente.

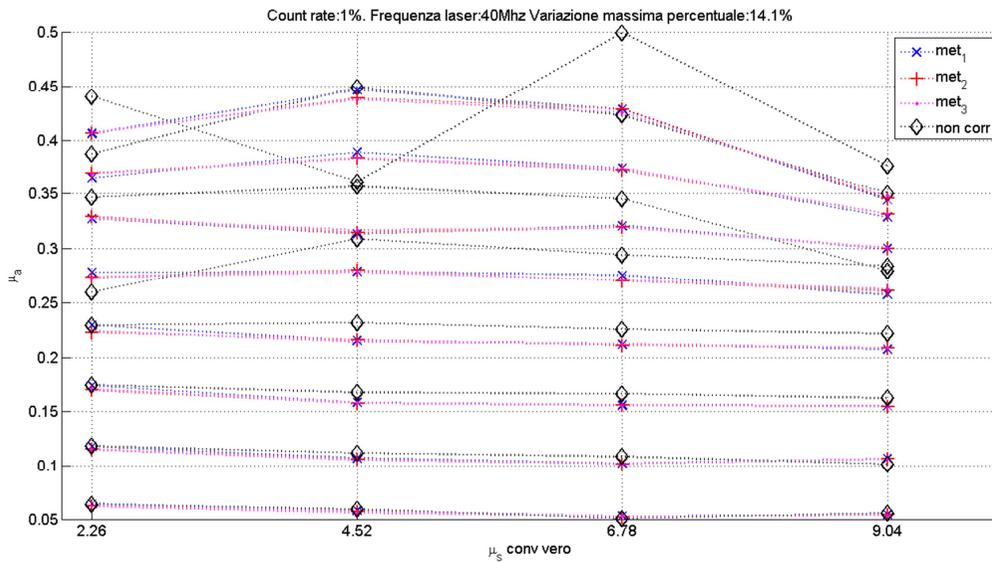
In particolare si presentano per primi i grafici che mostrano il coefficiente di assorbimento rispetto al coefficiente di diffusione. I dati mancanti sono relativi a quelle misure considerate non valide per il basso livello di segnale, come spiegato precedentemente.



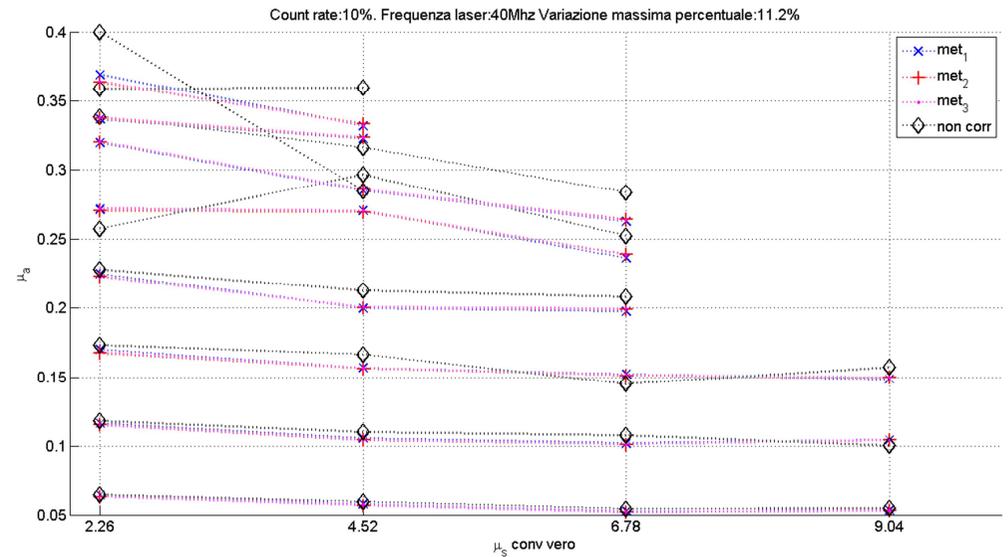
A



B



C



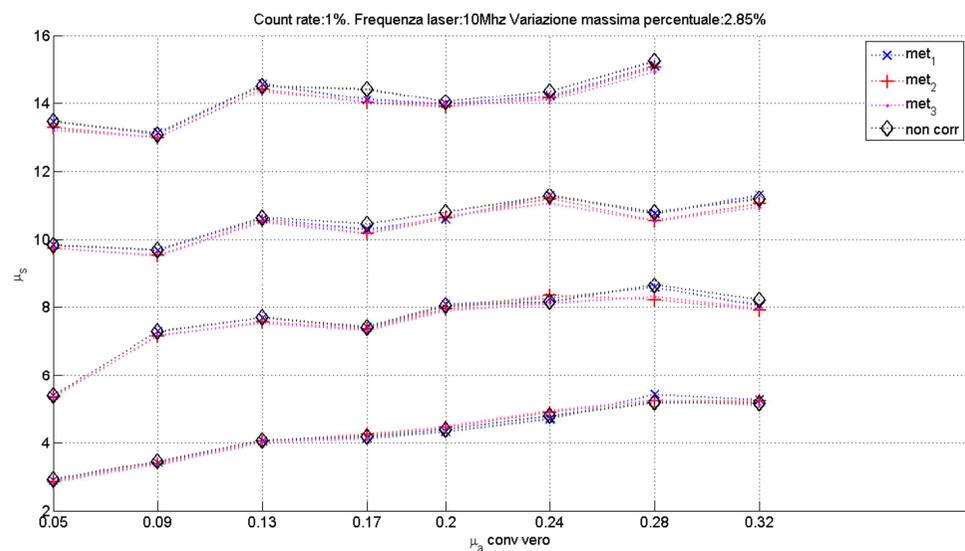
D

Figura 4.7: Grafici del coefficiente di assorbimento in funzione del coefficiente di diffusione. Per ogni punto sono mostrati i valori ottenuti utilizzando i diversi metodi di correzione della DNL oltre a quelli ottenuti senza aver eseguito nessuna correzione.

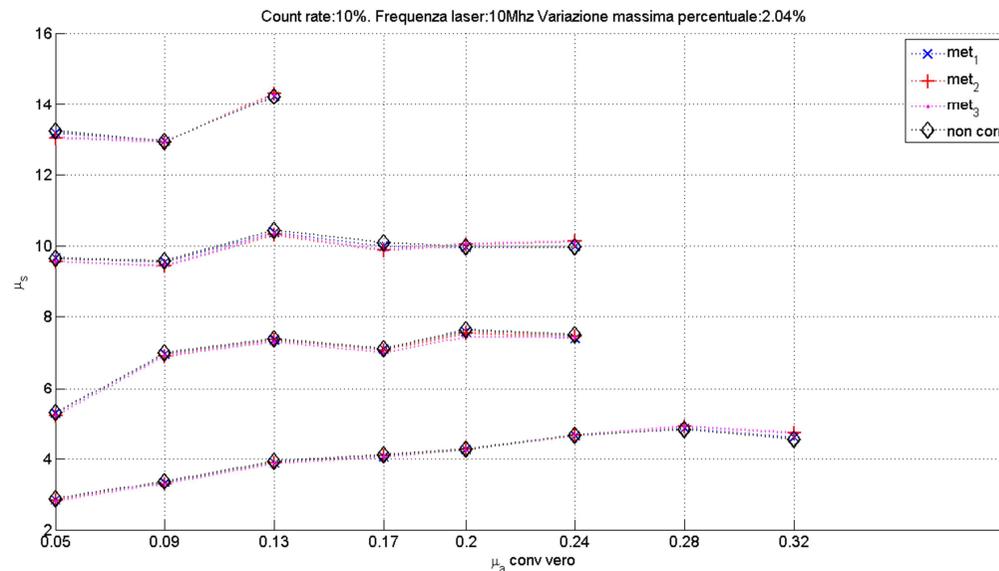
Come si vede dalla Figura 4.7, i grafici sono composti da otto serie di quattro punti ciascuna. La singola riga si riferisce ai quei *phantom* che presentano lo stesso assorbimento ma diverso potere diffondente: righe posizionate più in alto rappresentano *phantom* maggiormente assorbenti. La singola colonna rappresenta al contrario, *phantom* che hanno lo stesso potere diffondente. Sono mostrati solamente i punti che sono considerati validi.

Si può notare dal grafico A e B, che rappresentano i risultati a 10 MHz e diverso count rate, che per ogni punto si ha sostanzialmente una coincidenza dei valori di  $\mu_a$  calcolati utilizzando i diversi metodi di correzione della *DNL* (serie "met\_x"). Anche i valori calcolati senza l'applicazione di alcuna correzione (serie "non corr") sono in linea con quelli calcolati tramite correzione. Per verificarlo si è calcolata la media del valore del coefficiente di assorbimento per ogni punto ottenuto con e senza correzione e quindi si è calcolata la variazione di  $\mu_a$ , secondo tutti i metodi, rispetto a questa. Si riporta nelle intestazioni dei grafici solamente il valore massimo ottenuto per questa variazione. Come si può notare i valori della variazione percentuale di  $\mu_a$  sono maggiori nel caso di una frequenza del laser di 40 MHz rispetto al caso di 10 MHz, e questo è dovuto alla forte fluttuazione dei risultati della serie "non corr", amplificata se si considerano alti assorbimenti. Anche se una valida motivazione per questo comportamento non è stata individuata e ulteriori analisi sarebbero necessarie, un'ipotesi che giustifica questo andamento alle diverse frequenze di ripetizione del laser è legato alla periodicità delle repliche della curva di distribuzione dei fotoni all'interno di un periodo di *retrigger*. In particolare, se si considera la presenza di periodicità della *DNL* a basse frequenze, come mostrato in Figura 3.8, è possibile che tali periodicità coincidano (o non coincidano), alla periodicità delle repliche all'interno di un periodo di *retrigger*. Se questo succede, allora, è possibile che la curva finale ottenuta dal *refolding* sia ulteriormente deformata, oltre ai motivi legati alla forte *DNL* con periodicità di 2 bin, risultando in un grande errore nella stima dei parametri ottici. Questo è quello che potrebbe accadere con una frequenza di ripetizione di 40 MHz e che invece si evita con una di 10 MHz.

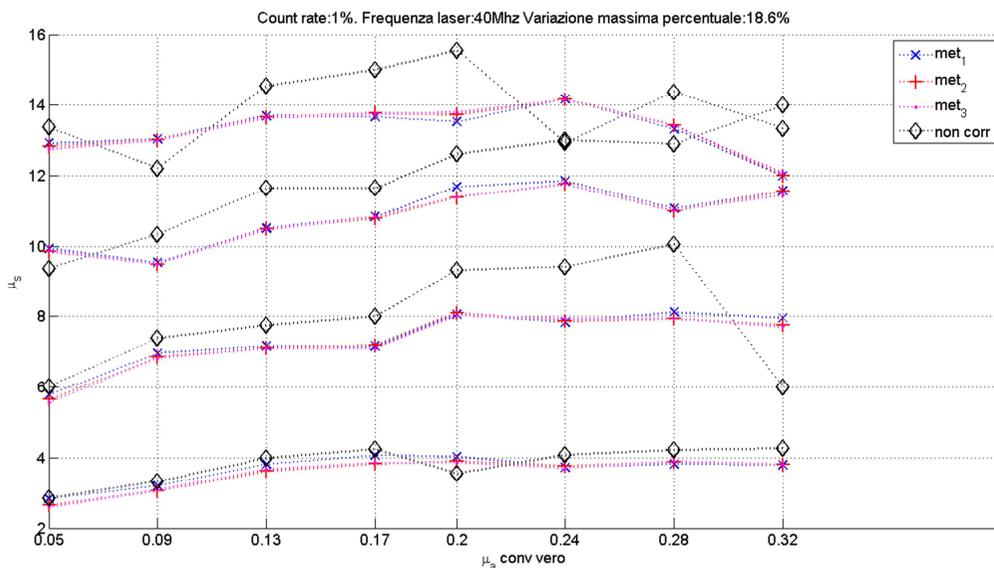
Si riportano ora i grafici del coefficiente di diffusione in funzione di quello di assorbimento nelle varie condizioni di *count rate* e frequenza del laser e per i vari metodi di correzione.



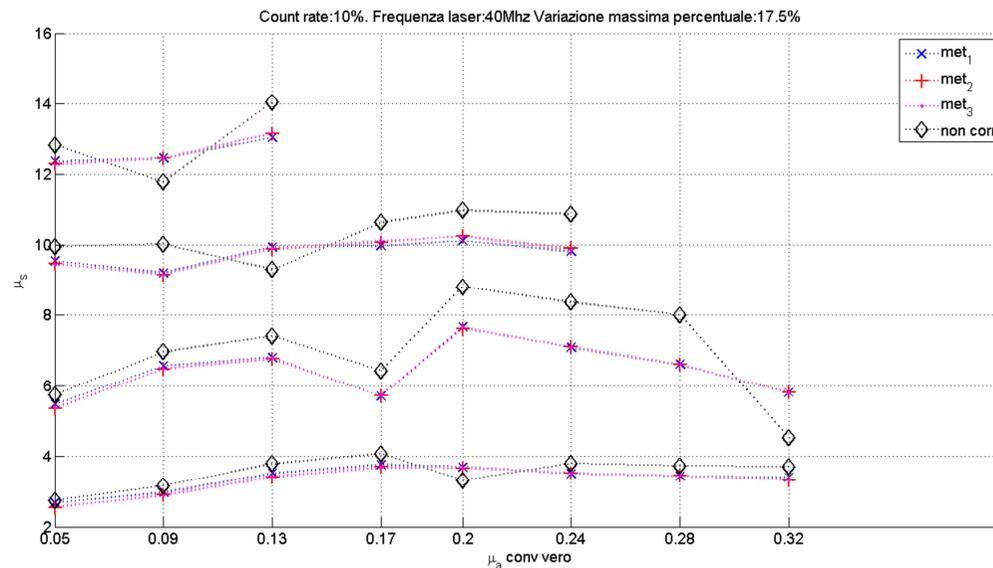
A



B



C



D

Figura 4.8: Grafici del coefficiente di diffusione in funzione del coefficiente di assorbimento. Per ogni punto sono mostrati i valori ottenuti utilizzando i diversi metodi di correzione della DNL oltre a quelli ottenuti senza aver effettuato nessuna correzione

Considerazioni analoghe a quelle fatte per Figura 4.7 valgono anche per la Figura 4.8. In particolare, nei grafici A e B che identificano le prove eseguite a 10 MHz, si nota la ridotta differenza tra i valori di  $\mu'_s$  ottenuti con le correzioni della *DNL* e senza. Mentre i grafici C e D mostrano una sostanziale differenza tra i valori di  $\mu'_s$  dei vari metodi di correzione e quelli della serie “non corr”. Anche in questo caso inoltre, i valori delle variazioni percentuali rispetto alla media sono maggiori nel caso di una frequenza di 40 MHz.

La Figura 4.7 e la Figura 4.8 mostrano quindi che l’assenza di una correzione della *DNL* può avere un impatto notevole sia in termini del valore assoluto dei parametri sia in termini di fluttuazione di questo se messo a confronto con i risultati della serie “met\_x”. In particolare questo può essere visto nei grafici C e D.

La Figura 4.7 e la Figura 4.8 mostrano inoltre come non esista una particolare differenza, se non lieve, in termini di ricostruzione dei parametri ottici, tra i tre diversi metodi di correzione in tutte le condizioni sperimentate: per questi, infatti, le variazioni percentuali massime, mostrate in Tabella 4.10, sono ridotte a pochi punti percentuali.

**Tabella 4.10: Variazioni massime percentuali rispetto alla media del coefficiente di assorbimento e di diffusione ottenuti con i diversi metodi di correzione e nelle varie condizioni sperimentate**

$\Delta\% \mu_a$	<i>Count rate</i>		
	<i>Frequenza del laser</i>	%	10%
<b>10 MHz</b>	2.12%	1.08%	
<b>40 MHz</b>	2.%	1.26%	

$\Delta\% \mu'_s$	<i>Count rate</i>		
	<i>Frequenza del laser</i>	1%	10%
<b>10 MHz</b>	2.97%	1.8%	
<b>40 MHz</b>	5.24%	3.23%	

Vista la sostanziale uguaglianza tra i diversi metodi di correzione per le prossime considerazioni si utilizzeranno solamente i risultati ottenuti con il met\_3.

In particolare le prossime figure riassumono i risultati in termini di accuratezza e linearità ottenuti nelle varie condizioni, per il solo *TDC*.

Ciascuna figura è formata da due parti principali: la parte superiore, composta di un grafico e due tabelle laterali, rappresenta i risultati di accuratezza mentre quella inferiore, composta di quattro grafici, rappresenta quelli di linearità.

Per quanto riguarda i risultati di accuratezza, il grafico riporta i valori misurati del coefficiente di diffusione in funzione del coefficiente di assorbimento dei *phantom*; i corrispondenti valori convenzionalmente veri rappresentano la griglia sottostante. Le tabelle a lato indicano invece l'errore relativo percentuale per le misurazioni di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  rispetto ai valori considerati veri espressi in grassetto.

I risultati di linearità invece sono espressi tramite quattro grafici che rappresentano le relazioni tra:

- 1)  $\mu_a$  misurato vs  $\mu_a$  convenzionalmente vero
- 2)  $\mu_a$  misurato vs  $\mu'_s$  convenzionalmente vero
- 3)  $\mu'_s$  misurato vs  $\mu_a$  convenzionalmente vero
- 4)  $\mu'_s$  misurato vs  $\mu'_s$  convenzionalmente vero

I numeri e le lettere nelle legende identificano rispettivamente le etichette di assorbimento e diffusione dei *phantom*. Le linee continue sono interpolazioni lineari dei primi quattro punti, dove questi sono disponibili.

Il grafico 1) mostra le caratteristiche di linearità del sistema relativamente alle misure del coefficiente di assorbimento: è possibile derivare delle informazioni riguardo la non linearità integrale e il *range* di linearità.

Il grafico 2) permette di individuare accoppiamenti del coefficiente di diffusione sul coefficiente di assorbimento.

Il grafico 3) permette di individuare accoppiamenti del coefficiente di assorbimento sul coefficiente di diffusione.

Il grafico 4) mostra le caratteristiche di linearità del sistema relativamente alle misure del coefficiente di diffusione.

Nella parte superiore di ogni figura vi è inoltre una parte che racchiude informazioni riguardo la mediana degli errori percentuali su  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  e che permette una valutazione complessiva della accuratezza raggiunta. Per valutare la linearità invece si riportano per il grafico 1) e 4) i massimi valori percentuali degli scostamenti di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  rispetto alle corrispondenti interpolazioni che possono indicare il livello di linearità raggiunto. Per il grafico 2) e 3) si riportano invece le pendenze delle rette di interpolazione che permettono una più rapida valutazione di eventuali correlazioni tra  $\mu_a$  e  $\mu'_s$ .

Le celle che nelle tabelle hanno il riempimento di colore rosso indicano i dati considerati non validi come in precedenza detto.

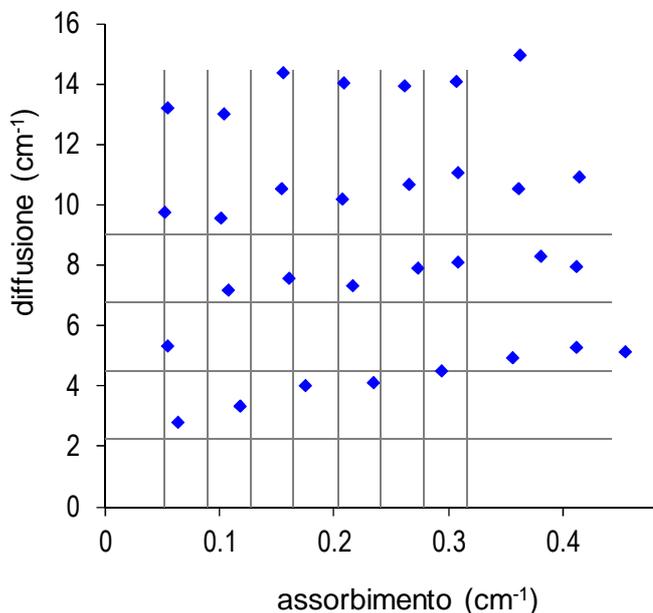
L'ordine con cui si presentano i risultati è il seguente:

<b><i>Frequenza del laser</i></b>	<b><i>Count rate</i></b>	
	<b><i>1%</i></b>	<b><i>10%</i></b>
<b><i>10 MHz</i></b>	Figura 4.9	Figura 4.10
<b><i>40 MHz</i></b>	Figura 4.11	Figura 4.12

Strumento TDC  
 Count rate 1%  
 Freq Laser 10 Mhz

<b>Linearità</b>	<b>1 )</b> A) 3.02% B) 4.49%	<b>2 )</b> 1) -0.001 2) -0.002 3) -0.003 4) -0.004
	C) 2.93% D) 1.34%	5) -0.005 6) -0.007 7) -0.011 8) -0.009
	<b>3 )</b> A) 9.06 B) 8.26	<b>4 )</b> 1) 15.46% 2) 7.27% 3) 2.78% 4) 3.43%
	C) 5.98 D) 10.17	5) 2.80% 6) 1.03% 7) 12.29% 8) 0.55%

<b>Accuratezza</b>	<b>Accuratezza</b>	Mediana errore M <sub>ua</sub>	28.8%	Mediana errore M <sub>us</sub>	59.2%
--------------------	--------------------	--------------------------------	-------	--------------------------------	-------



errore su	M <sub>ua</sub>	A	B	C	D
		2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	24%	6%	0%	5%
2	0.089	32%	20%	13%	16%
3	0.127	38%	27%	21%	22%
4	0.165	42%	31%	25%	26%
5	0.203	45%	35%	31%	29%
6	0.241	48%	28%	28%	27%
7	0.279	48%	37%	30%	30%
8	0.317	44%	30%	31%	

errore su	M <sub>us</sub>	A	B	C	D
		2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	24%	18%	44%	46%
2	0.089	48%	59%	41%	44%
3	0.127	78%	67%	55%	59%
4	0.165	83%	62%	50%	55%
5	0.203	98%	75%	57%	54%
6	0.241	119%	80%	63%	56%
7	0.279	133%	84%	55%	65%
8	0.317	126%	76%	61%	

**Linearità**

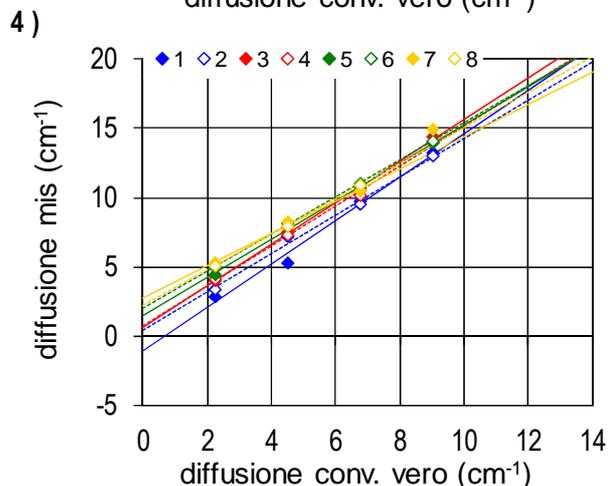
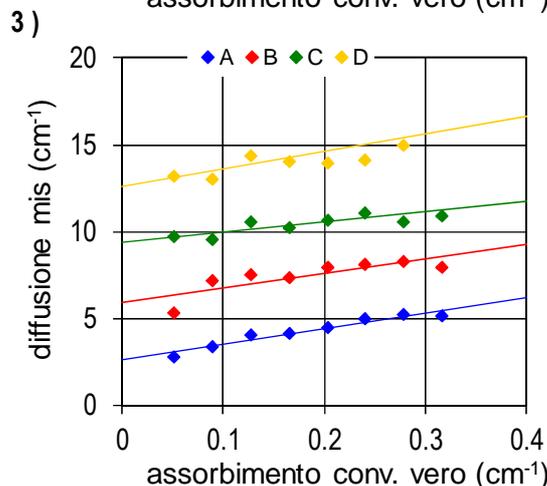
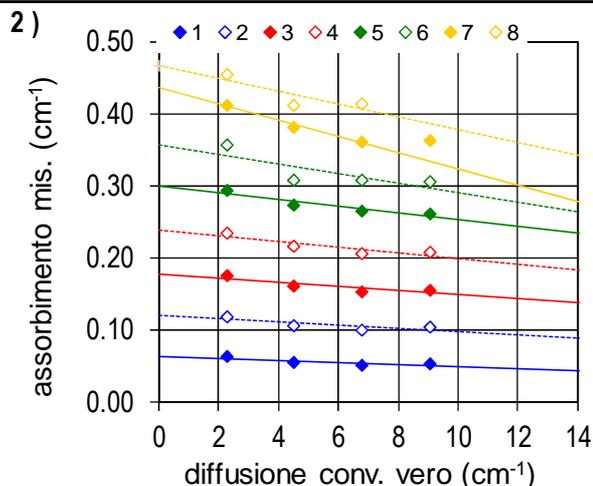
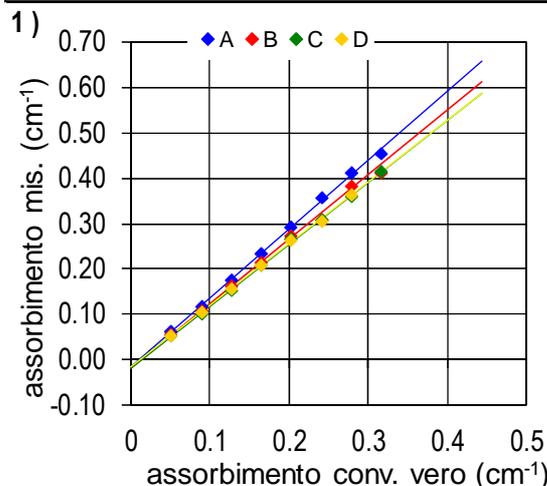
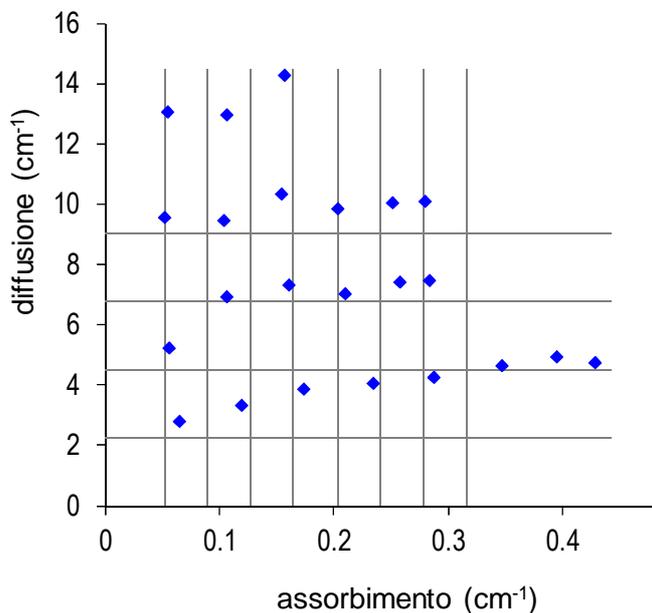


Figura 4.9: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 10 Mhz. Count rate: 1%.

Strumento TDC  
 Count rate 10%  
 Freq Laser 10 Mhz

<b>Linearità</b>	<b>1 )</b>	A) 5.97% B) 9.67%	<b>2 )</b>	1) -0.001 2) -0.002 3) -0.003 4) -0.007
		C) 8.17% D) 0.04%		5) -0.008 6) -0.015 7) 0.000 8) 0.000
	<b>3 )</b>	A) 7.56 B) 9.33	<b>4 )</b>	1) 17.02% 2) 5.14% 3) 3.03% 4) 0.41%
		C) 4.80 D) 16.25		5) 2.52% 6) 0.53% 7) 0.00% 8) 0.00%

<b>Accuratezza</b>	<b>Accuratezza</b>	Mediana errore Mua	23.9%	Mediana errore Mus	53.2%
--------------------	--------------------	--------------------	-------	--------------------	-------



errore su	A B C D				
	Mua	2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	26%	8%	2%	7%
2	0.089	34%	19%	15%	19%
3	0.127	37%	26%	21%	24%
4	0.165	42%	27%	23%	
5	0.203	42%	27%	24%	
6	0.241	44%	18%	16%	
7	0.279	42%			
8	0.317	35%			

errore su	A B C D				
	Mus	2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	24%	15%	41%	44%
2	0.089	47%	53%	39%	43%
3	0.127	72%	62%	53%	58%
4	0.165	80%	55%	46%	
5	0.203	89%	65%	48%	
6	0.241	106%	65%	49%	
7	0.279	117%			
8	0.317	109%			

**Linearità**

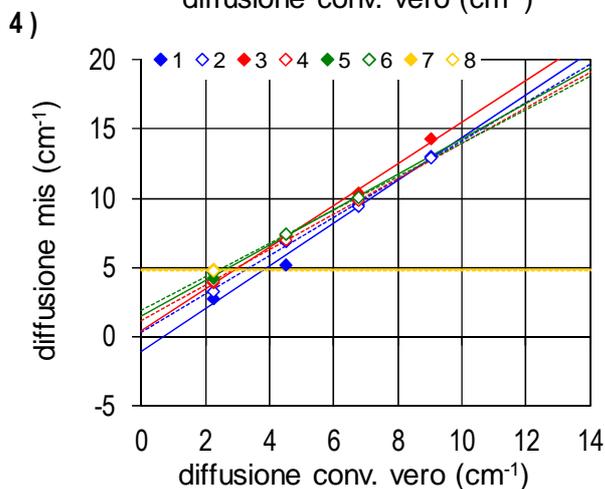
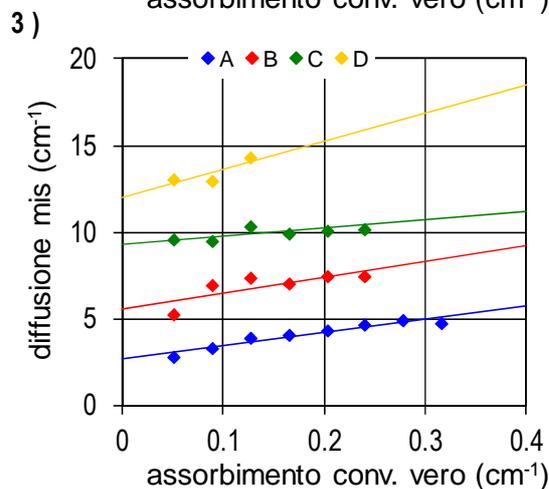
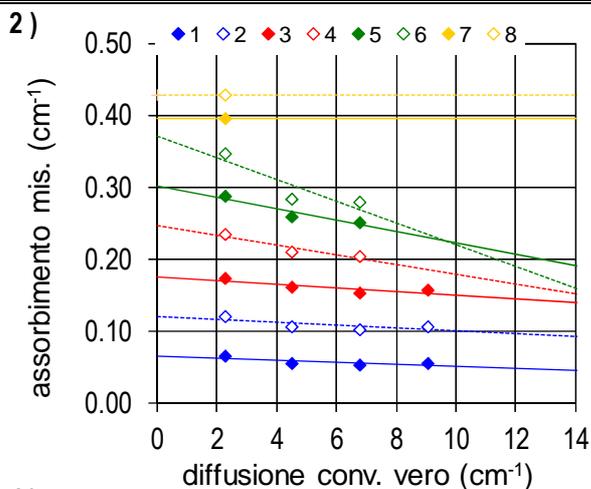
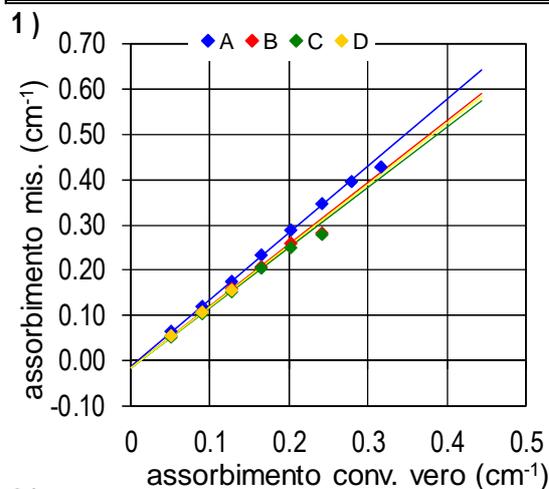
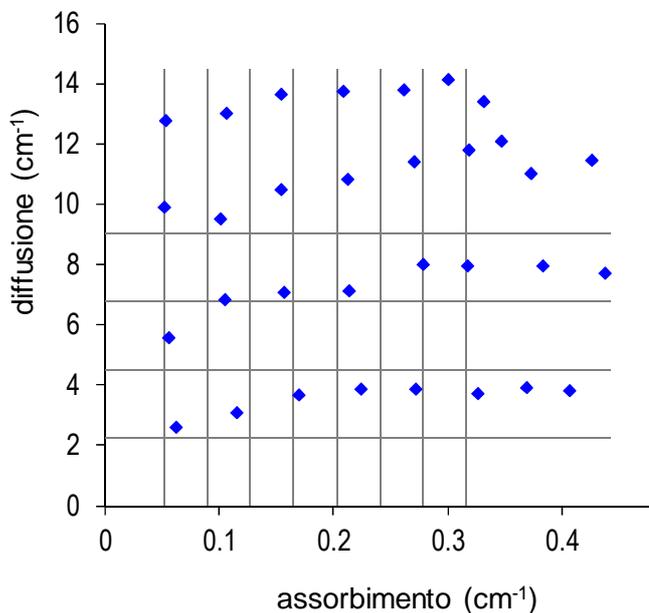


Figura 4.10: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 10 Mhz. Count rate: 10%.

Strumento TDC  
 Count rate 1%  
 Freq Laser 40 Mhz

<b>Linearità</b>	1 )	A) 6.32% B) 4.98%	2 )	1) -0.001 2) -0.001 3) -0.002 4) -0.002
		C) 4.23% D) 15.80%		5) -0.002 6) -0.003 7) -0.005 8) -0.008
	3 )	A) 4.00 B) 7.56	4 )	1) 6.71% 2) 5.34% 3) 1.40% 4) 2.72%
		C) 10.20 D) 9.43		5) 10.11% 6) 9.91% 7) 9.88% 8) 14.76%

<b>Accuratezza</b>	<b>Accuratezza</b>	Mediana errore M <sub>ua</sub>	28.8%	Mediana errore M <sub>us</sub>	57.0%
--------------------	--------------------	--------------------------------	-------	--------------------------------	-------



		A	B	C	D
errore su	M <sub>ua</sub>	2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	20%	9%	2%	4%
2	0.089	29%	18%	13%	19%
3	0.127	34%	24%	22%	21%
4	0.165	36%	30%	29%	26%
5	0.203	34%	37%	33%	29%
6	0.241	36%	32%	32%	25%
7	0.279	32%	38%	34%	19%
8	0.317	28%	38%	34%	10%

		A	B	C	D
errore su	M <sub>us</sub>	2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	15%	23%	46%	41%
2	0.089	36%	51%	40%	44%
3	0.127	63%	57%	54%	51%
4	0.165	71%	57%	60%	52%
5	0.203	71%	78%	68%	52%
6	0.241	64%	76%	74%	56%
7	0.279	73%	76%	63%	48%
8	0.317	69%	70%	69%	34%

**Linearità**

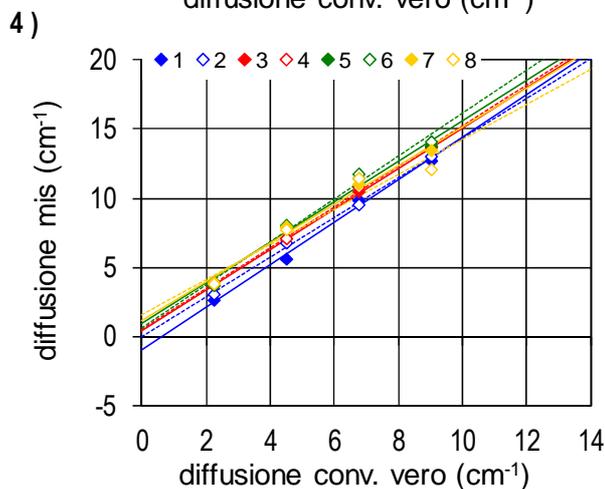
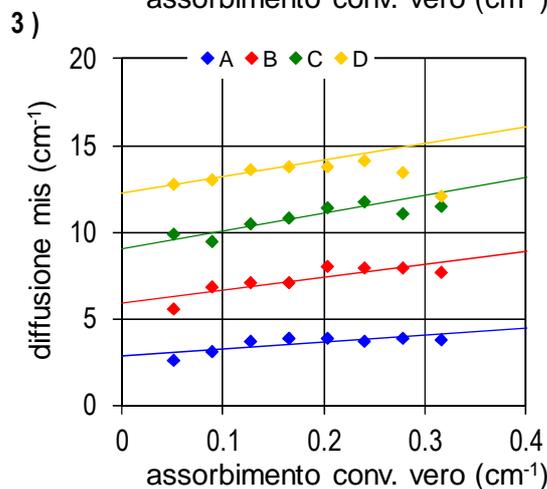
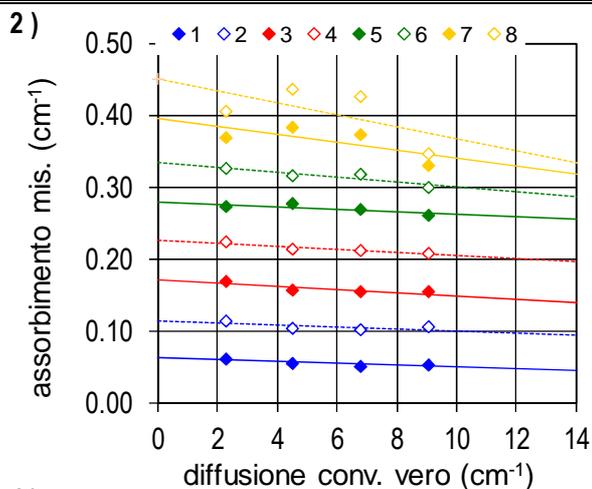
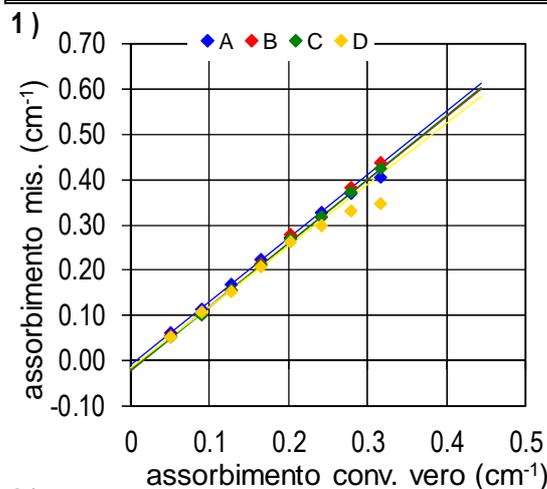
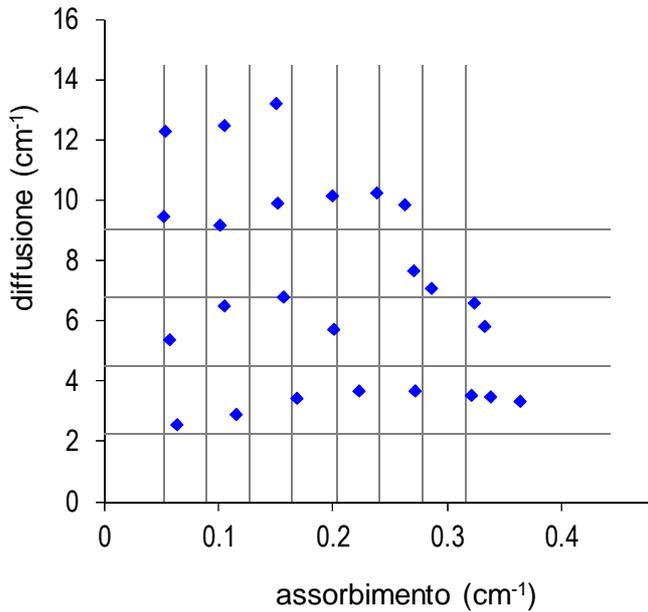


Figura 4.11: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 40 Mhz. Count rate: 1%.

Strumento TDC  
 Count rate 10%  
 Freq Laser 40 Mhz

<b>Linearità</b>	<b>1 )</b> A) 15.38% B) 15.96 C) 11.80% D) 1.99%	<b>2 )</b> 1) -0.002 2) -0.002 3) -0.003 4) -0.005 5) -0.007 6) -0.013 7) -0.006 8) -0.014
	<b>3 )</b> A) 2.67 B) 2.00 C) 7.23 D) 12.01	<b>4 )</b> 1) 6.66% 2) 5.16% 3) 1.18% 4) 12.15% 5) 6.49% 6) 3.97% 7) 0.00% 8) 0.00%

<b>Accuratezza</b>	<b>Accuratezza</b>	Mediana errore M <sub>ua</sub> 18.7%	Mediana errore M <sub>us</sub> 46.2%
--------------------	--------------------	--------------------------------------	--------------------------------------



errore su	A B C D				
	M <sub>ua</sub>	2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	23%	10%	0%	3%
2	0.089	29%	17%	13%	17%
3	0.127	32%	23%	19%	18%
4	0.165	35%	21%	21%	
5	0.203	34%	33%	18%	
6	0.241	33%	19%	9%	
7	0.279	21%	16%		
8	0.317	15%	5%		

errore su	A B C D				
	M <sub>us</sub>	2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	14%	19%	39%	36%
2	0.089	27%	44%	35%	38%
3	0.127	52%	50%	46%	46%
4	0.165	63%	26%	49%	
5	0.203	63%	69%	51%	
6	0.241	56%	57%	45%	
7	0.279	53%	46%		
8	0.317	47%	28%		

**Linearità**

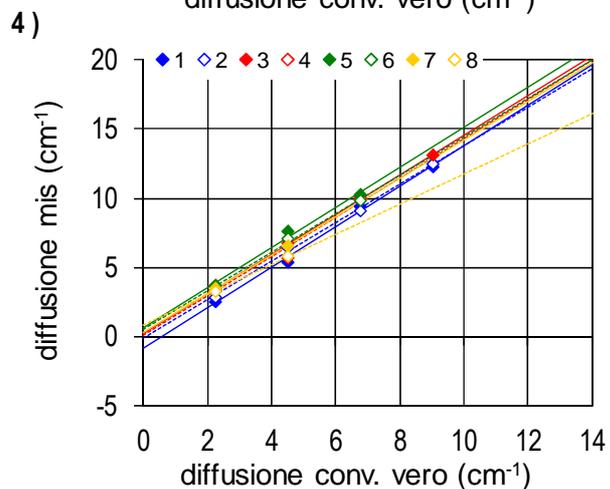
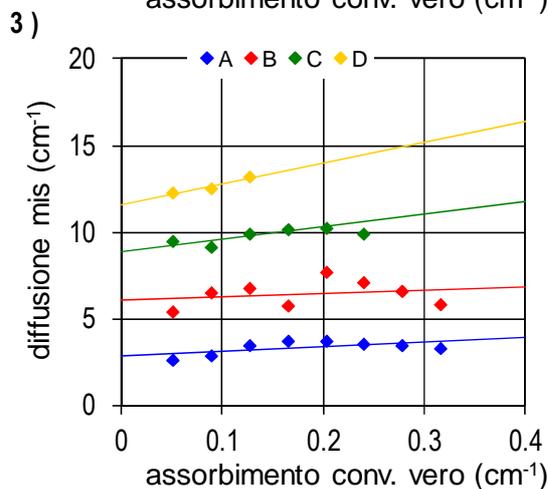
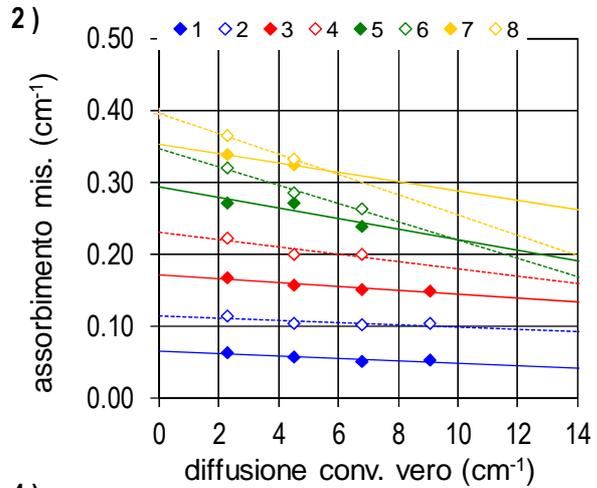
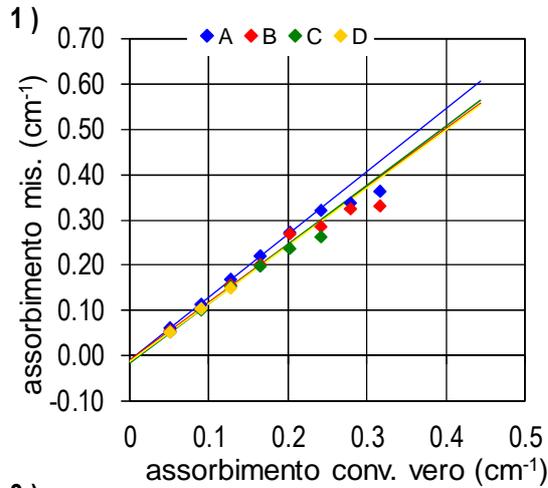


Figura 4.12: Risultati protocollo MEDPHOT Frequenza del laser: 40 Mhz. Count rate: 10%.

I grafici dalla Figura 4.9 alla Figura 4.12 mettono in evidenza alcuni andamenti che sono comuni a tutte le condizioni sperimentate.

Infatti, se si osserva il riquadro di **Linearità** e in particolare i dati relativi al grafico **2)**, si può notare come i valori della pendenza delle linee di tendenza siano negativi: questo indica che in tutte le condizioni sperimentate si è individuata una correlazione negativa tra  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  e cioè decremento di  $\mu_a$  all'aumentare di  $\mu'_s$ . Complessivamente però le linee di tendenza sono circa orizzontali, almeno per assorbimenti relativamente contenuti ( $< 0.2 \text{ cm}^{-1}$ ) permettendo di trascurare l'accoppiamento di  $\mu'_s$  su  $\mu_a$  in questo *range*. Per assorbimenti maggiori, come si può notare dalla maggiore pendenza delle linee di tendenza, l'accoppiamento guadagna importanza. In particolare la correlazione più forte si è individuata nel caso dell'utilizzo di un *count rate* pari al 10% sia per una frequenza del laser pari a 10 MHz sia pari a 40 MHz, e soprattutto per i *phantom* con un assorbimento corrispondente all'etichetta "6" e cioè  $\mu_a = 0.241 \text{ cm}^{-1}$ . Anche nel caso di un *count rate* pari all'1% si è osservato un aumento della correlazione per assorbimenti maggiori di  $0.2 \text{ cm}^{-1}$ , rimanendo però inferiore rispetto al caso del *count rate* del 10%. In ogni caso il massimo decremento osservato di  $\mu_a$  a seguito di un aumento di  $\mu'_s$  da  $2.26 \text{ cm}^{-1}$  a  $9.03 \text{ cm}^{-1}$  è stato di circa -16%: si può quindi in prima approssimazione trascurare questo tipo di accoppiamento. Inoltre c'è da considerare che, in particolare per le serie ad alto assorbimento (7 e 8), dove non è sempre stato possibile acquisire dati utilizzabili, le pendenze delle curve potrebbero essere state sopravvalutate (o anche sottovalutate) per via del fatto che la regressione è stata eseguita su un numero ridotto di punti (2). Si ricorda che la presenza di accoppiamenti tra il coefficiente di diffusione e di assorbimento è legata principalmente ai limiti del modello teorico utilizzato, in particolare, l'aumento dell'accoppiamento che si osserva per assorbimenti maggiori è legato all'allontanamento dalle ipotesi di validità della teoria diffusiva ( $\mu'_s \gg \mu_a$ , si veda 1.3.2).

Al contrario, i dati relativi ai grafici **3)** mostrano una chiara correlazione positiva tramite la visibile pendenza delle linee di tendenza: in particolare queste indicano un aumento del coefficiente di diffusione all'aumentare del coefficiente di assorbimento. Questo tipo di correlazione è nota e attesa ed è quella di cui si parla anche in 4.1. In questo caso gli incrementi percentuali osservati di  $\mu'_s$  a seguito di un aumento di  $\mu_a$  da

0.08 cm<sup>-1</sup> a 0.24 cm<sup>-1</sup> (valori scelti perché all'interno di questo intervallo i valori di  $\mu'_s$  giacciono circa sulla retta di regressione) sono stati a volte anche importanti: in particolare il maggior aumento è stato pari al 66% per la serie A nelle condizioni di Figura 4.10. L'aumento percentuale maggiore si è sempre verificato per la serie A in tutte le condizioni mentre nel complesso tende a ridursi all'aumentare del coefficiente di diffusione raggiungendo un valore minimo del 2% per la serie D.: questo accade perché per coefficienti di diffusione maggiori si ha una più forte validità della teoria diffusiva. Analoghi andamenti, con aumenti percentuali leggermente più ridotti (40% per la serie A e 7% per la serie D) sono stati osservati anche nelle condizioni di Figura 4.10 e ancor più ridotti per la Figura 4.11 e la Figura 4.12 (rispettivamente: 20% per la serie A e 8% per la serie D; e 22% per la serie A e 7% per la serie D). Se si considerano intervalli di variazione di  $\mu_a$  ancora maggiori, i valori degli incrementi percentuali aumentano raggiungendo anche circa il 67% nel caso della serie A di Figura 4.9. Complessivamente si può dire che nel caso dei *phantom* della serie A questo tipo di accoppiamento ha un forte contributo sulla valutazione del coefficiente di diffusione, ma che tuttavia all'aumentare del potere diffusivo riduce il suo effetto e per i *phantom* della serie B e C produce un incremento medio di circa il 12%. In questo caso le considerazioni, almeno quelle per un *count rate* pari all'1%, sono meno marcate dalla mancanza di dati poiché le regressioni sono state sempre eseguite su quattro punti. Nel caso il *count rate* sia pari al 10% invece le regressioni sono state eseguite su 3 punti e questo può aver influenzato il valore della pendenza della curva ottenuta.

Se ci si concentra ora sui dati relativi al grafico 1) si può osservare come gli scostamenti massimi percentuali di  $\mu_a$  rispetto alle interpolazioni lineari, che indicano una non linearità integrale complessiva, siano complessivamente ridotti (<5 % al 1% di *count rate*, <10% al 10% di *count rate*) nel caso di una frequenza del laser pari a 10 MHz mentre nel caso di una frequenza pari al 40% lo scostamento massimo arriva fino a circa il 16%. Inoltre, mentre si può notare una leggera perdita di linearità nel passaggio da un *count rate* dell'1% ad uno del 10% della frequenza del laser, i valori degli scostamenti rimangono contenuti. Nel complesso il sistema tende ad avere un comportamento lineare fino ad un valore di assorbimento di circa 0.2 cm<sup>-1</sup> (0.241 cm<sup>-1</sup>) oltre il quale comincia a presentare non linearità più o meno marcate in tutti i casi presentati

raggiungendo le migliori prestazioni con un *count rate* pari all'1% della frequenza del laser. La mancata completezza dei dati non ha permesso di valutare del tutto la linearità per quanto riguarda soprattutto la serie D.

Valutando invece i dati relativi ai grafici 4) si può notare una generale linearità del sistema che raggiunge degli scostamenti massimi di  $\mu'_s$  pari al 17% rispetto all'interpolazione lineare. L'*offset* tra le varie curve, e cioè l'intercetta sull'asse Y, ha raggiunto valori pari a circa  $2 \text{ cm}^{-1}$  se si considera una frequenza del laser di 10 MHz mentre pari a circa  $1 \text{ cm}^{-1}$  se si considera una frequenza di 40 MHz. La presenza di un *offset* tra le varie curve e che cresce all'aumentare del coefficiente di assorbimento è ancora una volta legato ad un limite del modello teorico diffusivo che tende a sovrastimare il contributo di *scattering* per valori di assorbimento maggiore.

Si prosegue ora valutando l'**accuratezza** delle misure ottenute.

Per quanto riguarda l'errore percentuale commesso su  $\mu_a$ , ed espresso tramite la prima tabella della parte relativa all'accuratezza, si può notare come, in generale, questo sia, a parità di coefficiente di diffusione, tendenzialmente maggiore per i *phantom* che possiedono un maggior assorbimento. Inoltre, a parità di coefficiente di assorbimento l'errore decresce all'aumentare del coefficiente di diffusione. Questi andamenti comportano che gli errori percentuali più alti si collochino nella parte nell'angolo in basso a sinistra della tabella mentre quelli più bassi sono posti dalla parte diametralmente opposta. Inoltre gli errori riportati hanno tutti il segno positivo e indicano che il sistema tende a sovrastimare i valori dei parametri ottici. La diminuzione dell'errore che si osserva al crescere del coefficiente di diffusione ma a parità di assorbimento, può essere legata al debole accoppiamento di  $\mu'_s$  su  $\mu_a$  come espresso dai grafici 2) che causa una riduzione del valore di  $\mu_a$  e l'avvicinamento al valore convenzionalmente vero. In media la riduzione dell'errore percentuale è di circa 15 punti percentuali. Inoltre per valori del coefficiente di diffusione maggiori, le misure risultano più robuste per via della maggior validità del modello diffusivo. Al contrario, la crescita dell'errore commesso su  $\mu_a$  all'aumentare dell'assorbimento ma a parità del valore del coefficiente di *scattering* può essere legato ad una minore robustezza delle misure poiché come già detto ci si allontana dalle condizioni di validità del modello teorico utilizzato.

Si valuta ora invece l'errore percentuale commesso su  $\mu'_s$ . Questo, in generale, ed escludendo i *phantom* con assorbimento minore di  $0.089 \text{ cm}^{-1}$ , segue gli andamenti descritti sopra per l'errore su  $\mu_a$ . Questa volta la crescita che si osserva all'aumentare dell'assorbimento ma a parità di coefficiente di diffusione può essere legata al più forte accoppiamento di  $\mu_a$  su  $\mu'_s$ : infatti come si può notare i valori degli errori percentuali sono in generale maggiori rispetto a quelli commessi su  $\mu_a$ .

Si può notare che la mediana dell'errore su  $\mu_a$  è sempre minore di quella su  $\mu'_s$ . Questo può essere legato al fatto che il modello della diffusione ha una buona validità per tempi relativamente lunghi, di modo che i fotoni sperimentino svariati eventi di diffusione. Ciò vuol dire che i risultati più in linea con il modello e meno affetti da errori sono quelli derivati dalla coda della distribuzione di fotoni piuttosto che dalla parte iniziale. Si è già detto però che la coda della distribuzione esprime maggiormente il contributo dell'assorbimento del tessuto: si conclude quindi che ci si attende un minor errore su  $\mu_a$  rispetto a  $\mu'_s$ . Inoltre, entrambi i valori delle mediane sono minori nel caso si utilizzi un *count rate* pari al 10% della frequenza del laser, probabilmente a causa della miglior definizione della curva sopra il rumore di fondo, ed infine che le condizioni migliori individuabili, in termini di accuratezza, sono quelle relative alla Figura 4.12. Nel complesso i valori delle mediane degli errori sono ~30% per  $\mu_a$  e ~60% per  $\mu'_s$ .

Per poter fare un confronto con una precedente versione del sistema di mammografia ottica *MAMMOT* si mostra in Figura 4.13 il report finale ottenuto a seguito dell'applicazione del protocollo *MEDPHOT* al sistema prima che venissero introdotte le modifiche discusse nel capitolo 2.2. Nelle successive valutazioni si utilizzano i dati ottenuti con il nuovo sistema di mammografia nelle condizioni di Figura 4.9 che sono quelle che più si avvicinano a quelle utilizzate nella Figura 4.13 (*count rate* : ~2% ; frequenza del laser: 20 MHz).

Per quanto riguarda l'**accuratezza** del sistema si ritrovano ancora nelle due tabelle gli andamenti sopra descritti e valgono ancora le considerazioni fatte sui valori degli errori percentuali per il caso di  $\mu_a$  e di  $\mu'_s$ . Si fa notare inoltre che le mediane degli errori hanno un valore superiore di quanto ottenuto con la nuova versione del mammografo: infatti i valori per il nuovo sistema, nel caso di Figura 4.9, sono pari a 28% per  $\mu_a$  e 59% per  $\mu'_s$  mentre per il sistema precedente si raggiunge il 34% per  $\mu_a$  e 76% per  $\mu'_s$ . Questa

considerazione rappresenta un punto a favore per i cambiamenti introdotti e per la nuova versione dello strumento di mammografia ottica.

Continuando con le considerazioni di **linearità** si può notare nel grafico **1)** la linearità del sistema in termini di  $\mu_a$  anche in questo caso fino ad assorbimenti circa di  $0.2 \text{ cm}^{-1}$  poiché oltre si raggiunge un massimo livello di non linearità integrale pari a circa il 40% molto maggiore di quanto riportato per la nuova versione del mammografo. Il grafico **4)** mostra un discreto livello di linearità, con una massima variazione dei valori rispetto all'interpolazione pari a circa il 14% da confrontare con il 17% riportato in Figura 4.9. Anche in questo caso il massimo *offset*, escludendo la serie 8, è pari circa a  $2 \text{ cm}^{-1}$ . Osservando invece il grafico **2)** si notano ancora una volta le linee di tendenza quasi orizzontali, almeno per  $\mu_a < 0.2 \text{ cm}^{-1}$ , indicando in questo *range*, un debole accoppiamento di  $\mu'_s$  su  $\mu_a$ . In particolare, il decremento riportato per la serie con etichetta "1" è pari al 24% mentre per la stessa serie in Figura 4.9 il decremento è di circa il 15%. Valutando infine il grafico **3)** si nota ancora la marcata correlazione di  $\mu_a$  su  $\mu'_s$ . Tuttavia in questo caso il massimo incremento percentuale riportato si ha per la serie D ed è pari al 28%, da confrontarsi con il valore di 47% per la serie A ottenuto in Figura 4.9.

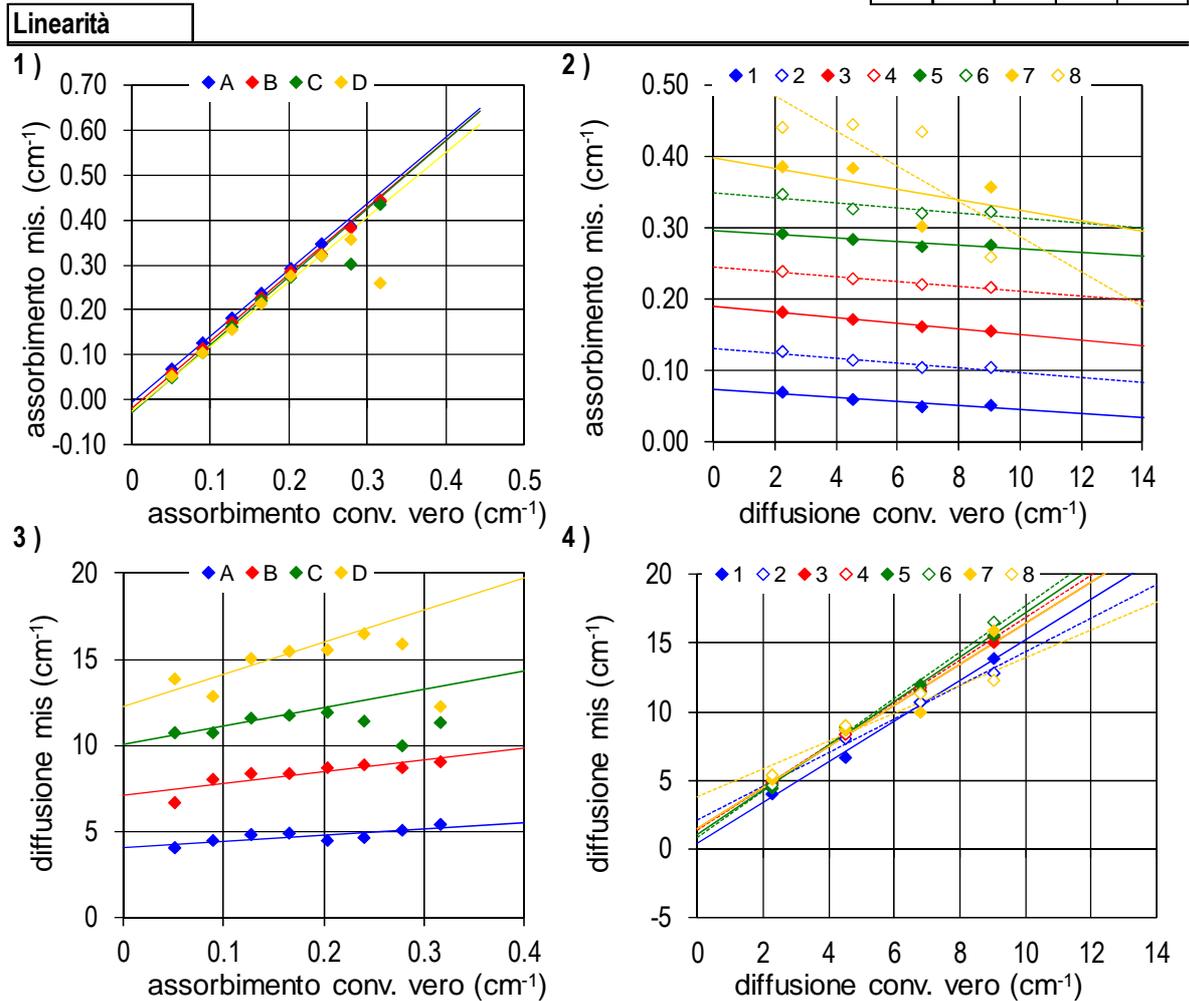
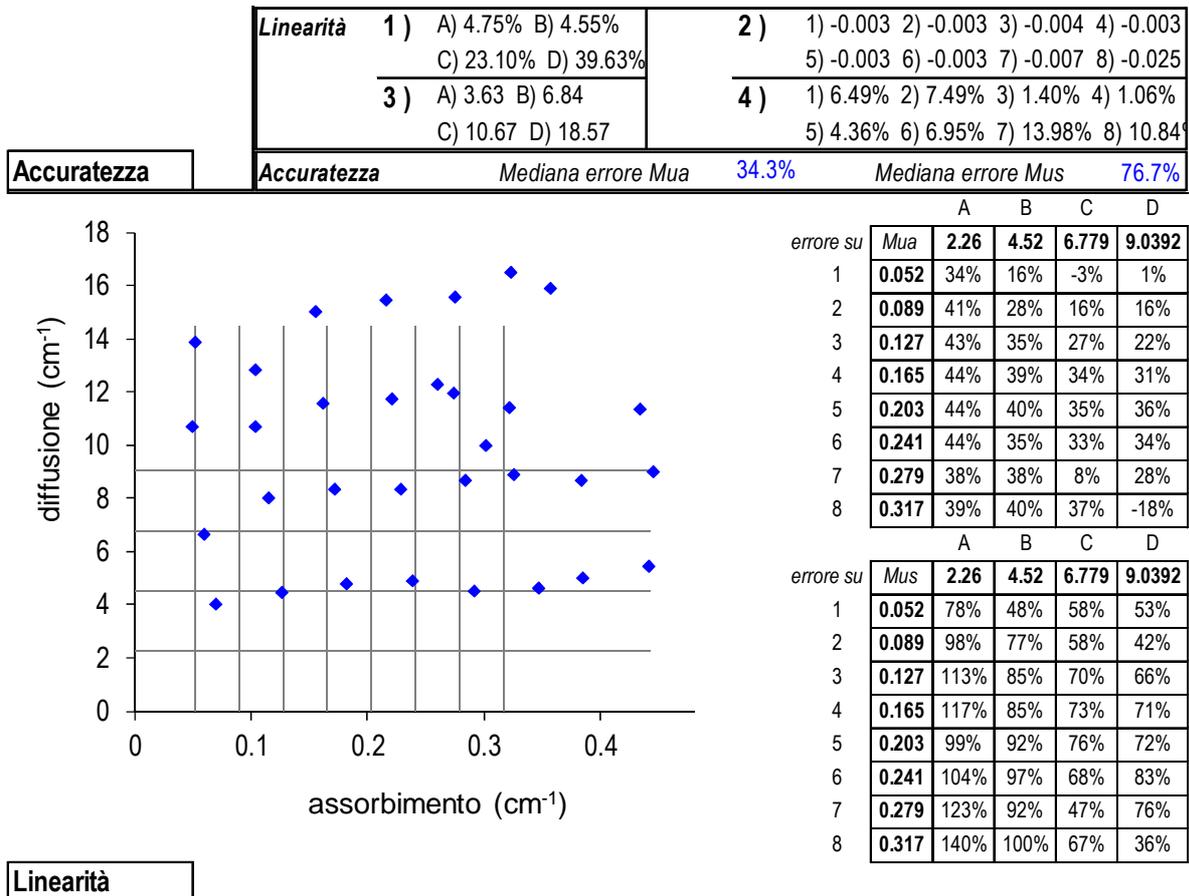


Figura 4.13: Risultati protocollo MEDPHOT, sist. di acquisizione: SPC130 Frequenza del laser: 20 Mhz. Count rate: 2%.

Per completezza si riporta ora, in Figura 4.14, il report che rappresenta i risultati ottenuti utilizzando la scheda *SPC130* nella sola condizione di *count rate* pari all'1% e una frequenza del laser pari a 10 MHz che può essere confrontato con quanto ottenuto nelle stesse condizioni però utilizzando il *TDC* (Figura 4.9). Non viene riportata una completa analisi dei risultati ottenuti nelle varie condizioni con la scheda *SPC130* poiché sono state già eseguite in passato delle ampie valutazioni delle prestazioni della scheda per *TCSPC*.

Se si considera per prima l'**accuratezza** si può notare ancora una volta come gli errori percentuali più alti vengano commessi per quei *phantom* che possiedono alto assorbimento e basso *scattering* per poi diminuire se si considerano bassi assorbimenti ma alti *scattering*. I valori della mediana dell'errore su  $\mu_a$  e su  $\mu'_s$  (26.2% e 55.1%) sono di poco inferiori a quanto riportato in Figura 4.9 (28% e 59%). La vicinanza dei valori stimati di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$ , e quindi dei relativi errori, nelle condizioni prese in considerazione (*count rate*: 1%, frequenza del laser: 10 MHz), utilizzando il *TDC* o la scheda *SPC130* era già visibile in Figura 4.2 e Figura 4.4.

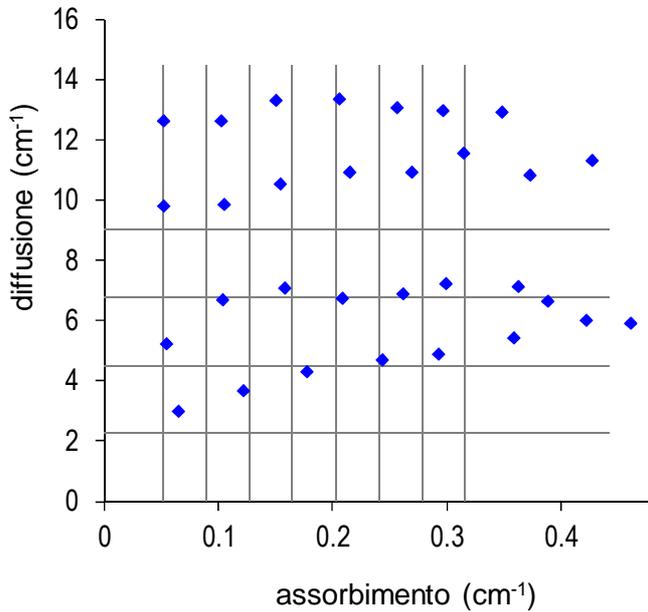
Proseguendo, si valuta ora la **linearità**. Il grafico **1)** mostra complessivamente una buona linearità del sistema in linea con quanto ottenuto per il *TDC* nelle stesse condizioni. Il massimo valore percentuale di scostamento dei dati dalla regressione è di circa il 6% per la serie B, in linea con il 5% riportato per il *TDC*. Il grafico **4)** mostra un discreto livello di linearità, con una massima variazione dei valori rispetto all'interpolazione pari a circa il 16% da confrontare con il 17% riportato in Figura 4.9. Il massimo *offset* è circa pari a 2  $\text{cm}^{-1}$ . Valutiamo ora gli accoppiamenti tramite i grafici **2)** e **3)**. Per il grafico **2)** si mostra un andamento orizzontale per le linee di interpolazione fino ad un assorbimento prossimo a 0.1  $\text{cm}^{-1}$  con un decremento massimo di circa il 19% che è paragonabile al 15% osservato per il *TDC*. Per il grafico **3)** infine, si riporta un massimo incremento percentuale di  $\mu'_s$  pari al 47% così come è per il *TDC*.

Nel complesso, le prestazioni fornite con la scheda *SPC130* sono paragonabili a quelle ottenibili utilizzando il *TDC*. Se però si considerano le condizioni di *count rate* pari a 10% (non mostrate) si ha un peggioramento delle prestazioni sia in termini di errore di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  sia in termini di incrementi e decrementi percentuali per via degli effetti di distorsione introdotti con un *count rate* al di fuori di quello stabilito dalla tecnica del conteggio di singolo fotone (si veda 1.5)

Strumento Becker  
 Count rate 1%  
 Freq Laser 10\_Mhz

<b>Linearità</b>	<b>1 )</b>	A) 2.67% B) 6.60%	<b>2 )</b>	1) -0.002 2) -0.003 3) -0.004 4) -0.005
		C) 2.76% D) 3.11%		5) -0.004 6) -0.008 7) -0.011 8) -0.007
	<b>3 )</b>	A) 11.16 B) 4.02	<b>4 )</b>	1) 13.90% 2) 1.55% 3) 2.90% 4) 9.15%
		C) 10.87 D) 7.45		5) 8.43% 6) 9.25% 7) 10.67% 8) 16.40%

<b>Accuratezza</b>	<b>Accuratezza</b>	Mediana errore Mua	26.2%	Mediana errore Mus	55.1%
--------------------	--------------------	--------------------	-------	--------------------	-------



errore su	Mua	A	B	C	D
		2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	25%	5%	2%	1%
2	0.089	36%	16%	17%	15%
3	0.127	39%	24%	21%	18%
4	0.165	47%	26%	30%	24%
5	0.203	44%	29%	33%	26%
6	0.241	49%	24%	31%	23%
7	0.279	51%	30%	34%	25%
8	0.317	45%	23%	35%	

errore su	Mus	A	B	C	D
		2.26	4.52	6.779	9.0392
1	0.052	33%	15%	44%	40%
2	0.089	63%	48%	45%	40%
3	0.127	90%	56%	55%	47%
4	0.165	107%	49%	61%	48%
5	0.203	116%	52%	61%	44%
6	0.241	141%	60%	71%	43%
7	0.279	165%	58%	59%	43%
8	0.317	161%	47%	66%	

**Linearità**

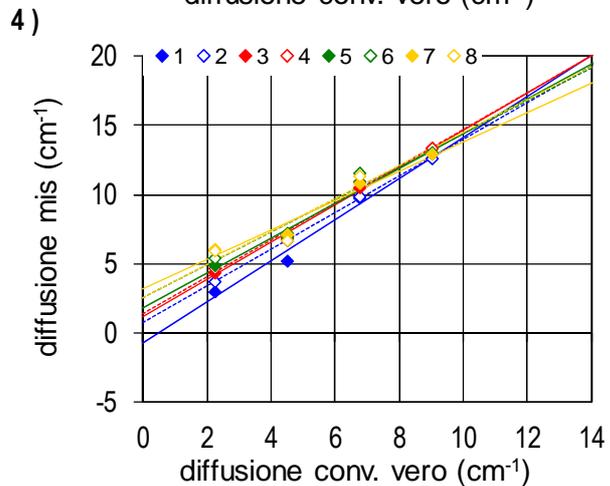
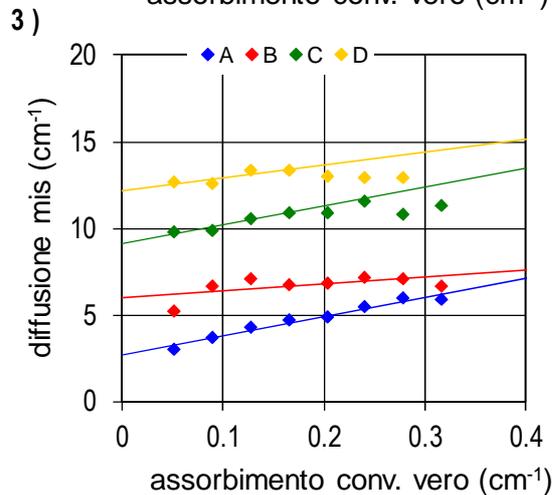
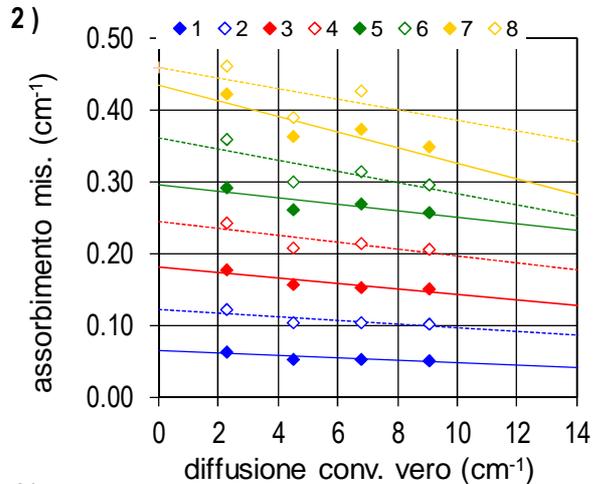
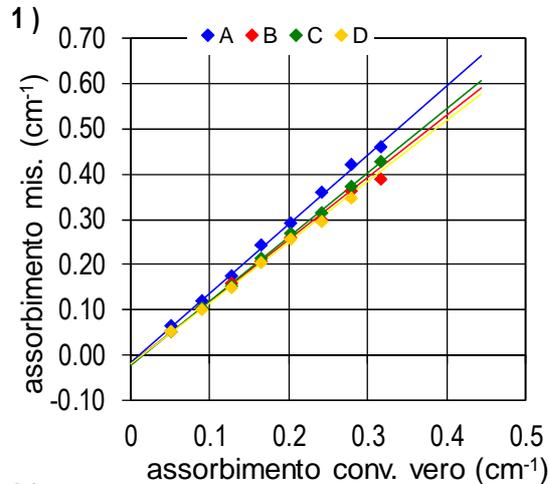


Figura 4.14: Risultati protocollo MEDPHOT, Frequenza del laser: 10 MHz. Count rate: 1%

## Conclusioni

In questo capitolo si sono valutati i tre metodi sperimentati di correzione della *DNL* in termini di ricostruzione dei parametri ottici e si è mostrato come questi siano sostanzialmente uguali tra di loro. Si è dimostrato inoltre che l'assenza di una qualsiasi correzione può invece portare a errori e fluttuazioni nella valutazione dei parametri ottici.

Si è proseguito poi valutando le prestazioni del nuovo sistema di mammografia ottica in varie condizioni di *count rate* e frequenza di ripetizione del laser. Si è osservata una complessiva linearità del sistema sia in termini di  $\mu'_s$  sia di  $\mu_a$  anche se quest'ultima limitata a valori di  $\mu_a < 0.2 \text{ cm}^{-1}$ . Sono stati individuati degli accoppiamenti tra  $\mu'_s$  e  $\mu_a$ . In particolare si è osservata una leggera correlazione negativa di  $\mu'_s$  su  $\mu_a$  che porta a un decremento massimo osservato pari al 16% di  $\mu_a$  rispetto al valore iniziale della serie A. L'accoppiamento di  $\mu_a$  su  $\mu'_s$  rappresenta invece una correlazione positiva che può causare anche forti incrementi di  $\mu'_s$  all'aumentare di  $\mu_a$ : il valore massimo riportato è del 47% del valore di  $\mu'_s$  al più basso *count rate*.

Si sono poi mostrati i risultati di un'esecuzione del protocollo *MEDPHOT* sulla precedente versione del sistema di mammografia ottica *MAMMOT*. Si è osservato come in termini di accuratezza ci sia stato un miglioramento a seguito delle modifiche apportate ed esposte nel capitolo 2.2. Dei miglioramenti sono stati ottenuti anche in termini di linearità soprattutto per quanto riguarda il coefficiente di assorbimento. Deboli miglioramenti sono stati ottenuti nella riduzione delle variazioni di  $\mu'_s$  e  $\mu_a$  a seguito degli accoppiamenti presenti.

Nel complesso si può sostenere che la nuova versione del sistema di mammografia ottica offre prestazioni non solo in linea con quanto in precedenza riportato ma anche discretamente migliori.

Prima di passare al capitolo successivo è opportuno compiere alcune precisazioni. Sono stati presentati gli accoppiamenti di  $\mu_a$  su  $\mu'_s$  e viceversa e sono stati riportati dei valori sull'errore commesso nella valutazione del coefficiente di diffusione e di assorbimento. Sebbene le considerazioni fatte a riguardo siano valide, una reale valutazione degli effetti sia degli accoppiamenti sia degli errori commessi si avrà solo attraverso l'esecuzione di misure *in vivo*. È, infatti, durante questo tipo di misure che si

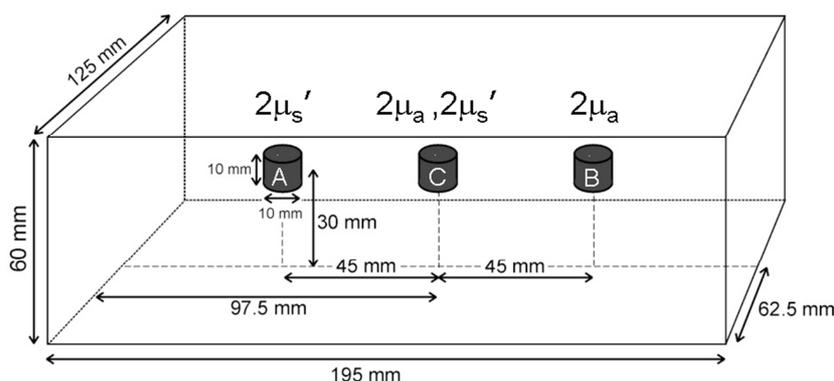
può verificare ad esempio come gli errori commessi nella stima di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  si ripercuotono sulla capacità di diagnosi dello strumento. Tramite le misure *in vivo* si può derivare quindi la capacità dello strumento di ottenere risultati clinici che non necessariamente sono legati in maniera diretta a quelli fisici. Questo accade perché nelle misure *in vivo* si tende a valutare con maggior attenzione non tanto la correttezza del valore assoluto dei parametri ottici ottenuti, ma piuttosto l'entità dei contrasti tra diverse zone e così facendo quindi gli errori commessi sulla stima di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$  vengono in qualche misura se non eliminati, quanto meno ridotti di importanza. Un altro particolare accorgimento che si utilizza consiste nell'eseguire, durante l'analisi dei dati, in particolare nella fase di estrazione delle concentrazioni dei costituenti, quello che è definito come "*Global Spectral Fit*". Un procedimento *standard* per ricavare le informazioni sulla composizione del seno è quello che prevede, dopo aver stimato i valori di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$ , l'utilizzo della legge di Beer per analizzare le proprietà di assorbimento e la teoria di Mie per quelle di *scattering* come discusso in 1.3.4: in questo modo si ottiene un sistema di 7 equazioni (pari al numero di lunghezze d'onda) che una volta risolto porta ad ottenere i valori delle concentrazioni dei singoli costituenti. Il procedimento chiamato *Global Spectral Fit* consiste invece nell'inserire le relazioni di Beer e di Mie (rispettivamente  $\mu_a(\lambda) = \sum_i \varepsilon_i(\lambda)C_i$  e  $\mu'_s(\lambda) = a\lambda^{-b}$ ) direttamente all'interno delle curve di trasmittanza teoriche. In questo modo queste diventano funzione delle concentrazioni dei costituenti e dei parametri di diffusione che possono essere quindi ricostruiti direttamente senza una previa valutazione di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$ . Si esegue poi un procedimento di regressione in cui vengono fatte variare contemporaneamente le 7 equazioni lasciando come parametri liberi le concentrazioni di ossi e de ossi emoglobina, lipidi, collagene, acqua e l'ampiezza  $a$  e il potere diffondente  $b$ . Questo procedimento porta notevoli vantaggi in termini di robustezza della regressione e una stabilità aumentata in presenza di un alto livello di rumore<sup>(46)</sup>.

### 4.3. Acquisizione di immagini

Nei precedenti capitoli si sono eseguite delle prove per valutare le prestazioni della nuova versione del sistema di mammografia ottica.

Una delle prove finali da svolgere è quella di ottenere effettivamente immagini di *phantom* con disomogeneità localizzate. Questa prova consente di verificare la capacità di gestire contemporaneamente le problematiche legate all'utilizzo del *TDC*, quali la correzione della non linearità, il *refolding* e i tempi morti di misura, e la movimentazione dei motori usati durante la scansione. Non solo, rappresenta un ulteriore momento di validazione della ricostruzione dei parametri ottici e, tramite il metodo del *Gated Intensity Imaging* (si veda 1.6.2), della capacità di visualizzare contrasti e variazioni di  $\mu_a$  e  $\mu'_s$ .

Il particolare *phantom* a cui ci si riferisce, realizzato dal Professor Jeremy Hebden (*University College London*) è caratterizzato dalla presenza di tre inclusioni di forma cilindrica, di 10 mm di altezza e diametro, con proprietà ottiche rispetto al fondo rispettivamente di doppio *scattering* ridotto (e assorbimento inalterato), doppio assorbimento (*scattering* inalterato) e doppio *scattering* e doppio assorbimento. Il coefficiente di assorbimento  $\mu_a$  vale  $0.02-0.13 \text{ cm}^{-1}$  e quello di diffusione vale  $6-12 \text{ cm}^{-1}$  nel *range* spettrale di interesse<sup>(27)</sup>. La struttura del *phantom* "Hebden" è presentata in Figura 4.15.



**Figura 4.15: Struttura del *phantom* "Hebden" utilizzato per una prima valutazione della capacità di ottenimento di un'immagine completa con la nuova versione del mammografo.**

Le misure sono state eseguite con un *count rate* di circa il 3% della frequenza del laser, in geometria di trasmittanza ponendo il *phantom* tra le piastre di compressione, compiendo quindi una scansione continua lungo l'asse X, di una porzione dello stesso pari a circa 140 mm x 40 mm e acquisendo una curva a ogni millimetro per un tempo pari a 25 ms. Il tempo di misura utilizzato è quello che è stato impiegato durante le misure effettuate nei vari momenti di *trial* clinico. Le curve ottenute sono state processate tramite il *software* in precedenza presentato, il *FIT*, per l'estrazione dei parametri ottici. All'inizio di ogni nuova misura si è registrata la funzione di risposta del sistema, o *IRF*, ottenuta mantenendo la fibra di lancio e il *probe* alla stessa distanza dettata dallo spessore del *phantom* ma ponendo tra di essi un sottile strato di nastro Teflon (si veda 4.2 - Modalità di esecuzione del protocollo). Quella descritta è anche la tipica procedura che si è impiegata negli studi clinici con il mammografo ottico e che antecedeva ogni misura sul seno. In Figura 4.16 è meglio rappresentata la struttura che si è utilizzata nelle misure.

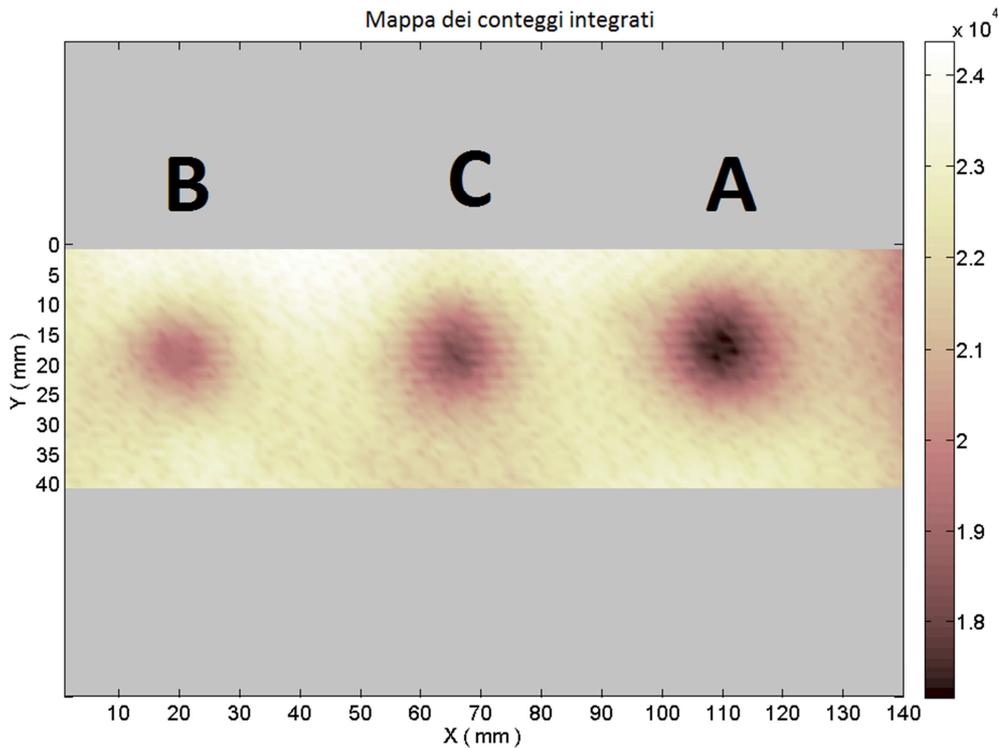
In questa fase le misure sono state eseguite a 40 MHz e utilizzando una sola lunghezza d'onda, la 680 nm: questo per evitare alcuni problemi che si sono riscontrati con il *TDC* nell'impiego della totalità delle lunghezze d'onda. Infatti, quello che si è osservato è che utilizzando tutti i canali disponibili del *TDC* e attivando tutte le teste laser si raggiungeva una quantità di conteggi, e quindi di dati che lo strumento deve processare (> 2 Mcps. Si ricorda che utilizzando 8 *SiPM* si ottengono in media almeno 800-900 Kcps di buio e che quindi un'attenuazione del segnale non porta a una riduzione del numero di conteggi da processare), tale da provocarne l'interruzione del corretto funzionamento durante l'acquisizione. In particolare si è osservata l'interruzione improvvisa del flusso di dati proveniente da canali di *Stop* diversi, e spesso, l'arresto del programma *TRS* durante la procedura di pulizia della memoria descritta nel paragrafo 3.3. Queste problematiche, presumibilmente legate alla gestione della memoria che si ha all'interno dello strumento, sono state portate all'attenzione dei produttori ma una soluzione definitiva non è ancora stata proposta. Una possibile soluzione consiste nella gestione autonoma di tutto ciò che riguarda l'allocazione, l'accesso, la lettura e la deallocazione della memoria e che in questo momento è affidata a delle funzioni della libreria fornita dai produttori del *TDC*. D'altro canto questo tenderebbe a complicare ulteriormente il codice utilizzato all'interno del *TRS*.



**Figura 4.16:** Sopra la configurazione di misura utilizzata. Sotto la struttura che alloggia il phantom e il nastro Teflon per la valutazione della risposta del sistema

Si sono utilizzati tutti gli otto rivelatori *SiPM* e si è proceduto poi a eseguire una media delle immagini ottenute in termini di parametri ottici e conteggi. Questa strategia di operazione non rappresenta necessariamente il protocollo finale di misura che sarà impiegato nel futuro. Un'altra possibilità può essere, infatti, quella di sommare le curve ottenute per ogni canale disponibile e in seguito procedere alla stima dei parametri ottici. Se da un lato questa strategia può essere interessante perché porta a un segnale più ampio dal quale sono estratti i parametri ottici e quindi a una maggiore affidabilità statistica, dall'altro non è assicurato che le curve ottenute dai singoli *SiPM* siano uguali tra di loro e questo può portare, tramite la somma delle curve stesse, ad introdurre una distorsione sulla curva finale e quindi sui parametri ottici.

Un primo esempio di immagine ottenuta, riportata in Figura 4.17, consiste in una mappa dei conteggi integrati su tutta la curva di trasmittanza per ogni punto di scansione.

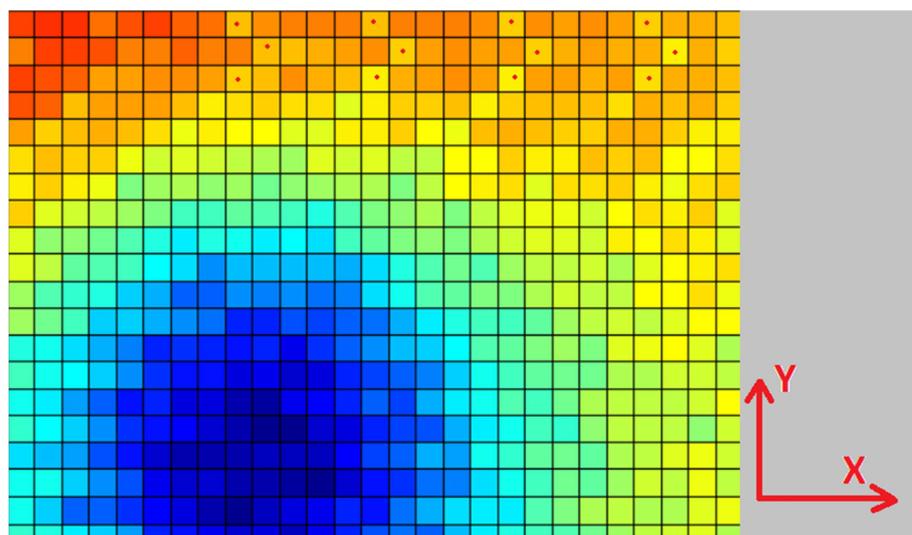


**Figura 4.17: Mappa dei conteggi integrati su tutta la curva per ogni punto di scansione. I colori più scuri della scala di rosa indicano un maggior assorbimento di fotoni.**

Si fa notare che la disposizione delle inclusioni di Figura 4.17 e successive è rovesciata rispetto a quanto presentato in Figura 4.15.

È possibile individuare nell'immagine tre zone caratterizzate da un minor numero di fotoni rispetto al fondo (zone più scure) distanziate tra di loro di circa 44 mm e con un diametro di circa 8 mm (considerando solo le zone interne più scure e non la larghezza a metà altezza). Queste corrispondono alle tre inclusioni contenute nel *phantom*. Sebbene questa immagine non abbia una precisa utilità dal punto di vista di valutazione delle proprietà ottiche, è adatta per individuare la corretta zona di scansione ma soprattutto è una prima indicazione per la valutazione della riuscita della gestione contemporanea dei problemi legati alla misura sopra elencati. Infatti, non si notano nell'immagine particolari artefatti o deformazioni che indicherebbero ad esempio gravi problemi di sincronismo tra la movimentazione e l'acquisizione oppure difficoltà nella gestione dei dati da parte del TDC. Si possono notare tuttavia delle strutture periodiche lungo l'asse X che hanno un periodo di circa 5 mm mentre lungo l'asse Y la periodicità è di circa 1 mm. Per meglio notare queste strutture si riporta un ingrandimento della Figura 4.17. Con i punti rossi

sono indicate le posizioni che permettono di individuare più facilmente le periodicità sia lungo X sia lungo Y.



**Figura 4.18: Ingrandimento della mappa dei conteggi integrati. Con i punti rossi sono indicate le posizioni che rappresentano le periodicità individuate.**

Non sono state trovate motivazioni concrete per questo fenomeno osservato. Si è ipotizzato tuttavia che possa essere legato a fenomeni di battimento di frequenze tra il laser e la movimentazione passo-passo. Un'ulteriore ipotesi, almeno valida per la periodicità lungo Y, è che, il fenomeno sia legato ad una diversa inclinazione a cui è sottoposta l'asta di movimentazione se questa ha una direzione positiva lungo l'asse X o viceversa: questo causa uno spostamento rigido di pochi millimetri (1-2 mm) di una riga di scansione rispetto alla precedente o alla successiva e ciò si traduce in una periodicità lungo Y essendo la scansione di tipo *raster*. Infine vi è una possibilità che l'effetto sia legato alla non perfetta sincronizzazione tra l'inizio della movimentazione e l'inizio dell'acquisizione.

Si presentano ora le mappe dei parametri ottici: per prima, in Figura 4.19, si presenta quella relativa al coefficiente di diffusione e per seconda, in Figura 4.20, quella relativa al coefficiente di assorbimento.

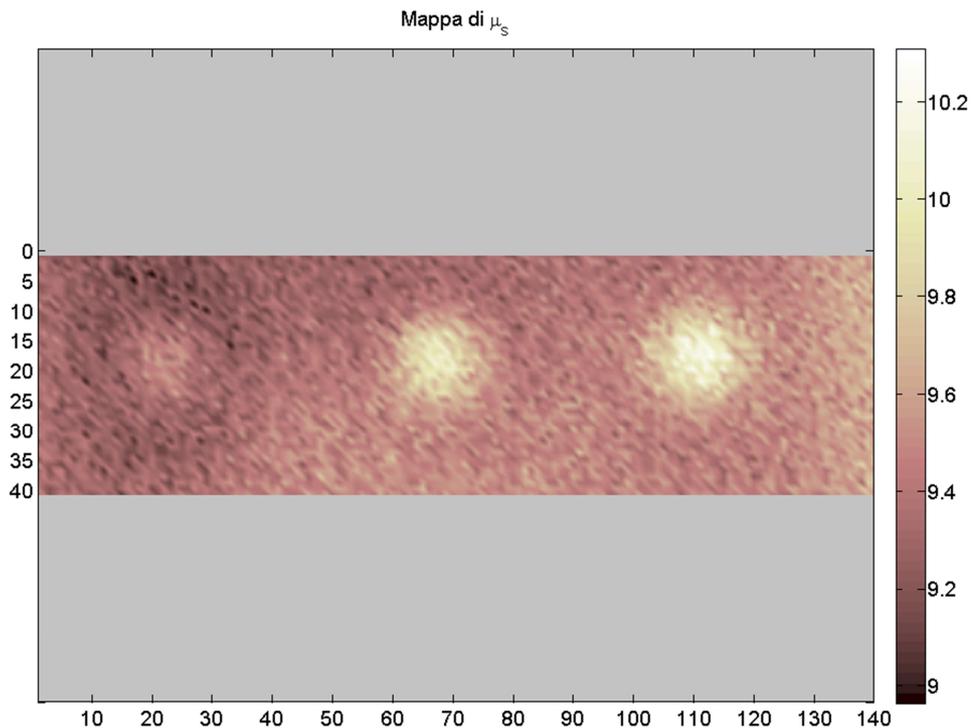
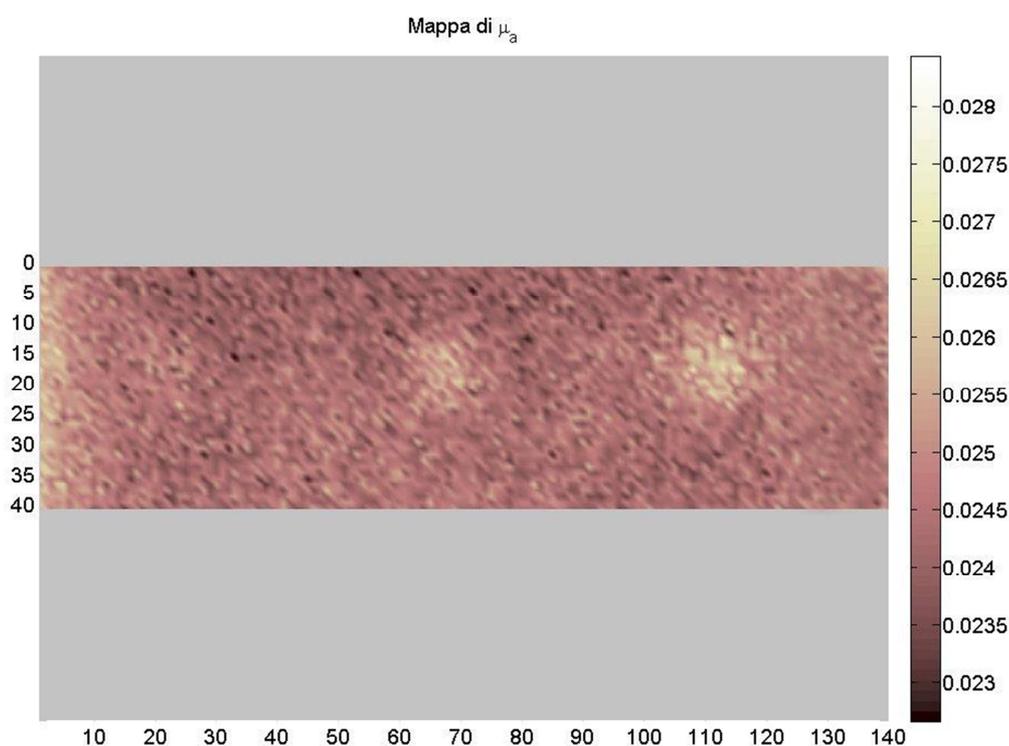


Figura 4.19: Mappa del coefficiente di diffusione.

Come si può notare dalla mappa del coefficiente di diffusione, sono facilmente individuabili, rispetto al fondo, le inclusioni con più alto potere diffondente rispetto al fondo ( $\mu'_s=9.27 \text{ cm}^{-1}$ ): quella centrale (C di Figura 4.15,  $\mu'_s=9.88 \text{ cm}^{-1}$ ) e quella a destra (A di Figura 4.15,  $\mu'_s=10.05 \text{ cm}^{-1}$ ). Si può notare inoltre che l'inclusione A risulta più larga e a contorni meno definiti dell'inclusione C: questo è dovuto all'effetto di un accoppiamento che ha l'assorbimento (doppio rispetto al fondo nell'inclusione C; pari al fondo nell'inclusione A) sullo *scattering* e che tende a limitare l'area di diffusione ricostruita. Per quanto riguarda invece l'inclusione B (quella a sinistra): questa dovrebbe essere in principio totalmente uniforme con il fondo poiché ne possiede lo stesso valore del coefficiente di diffusione. Tuttavia ha un valore del coefficiente di assorbimento doppio rispetto al fondo: questo genera un accoppiamento su  $\mu'_s$  ricostruito. Questo accoppiamento è responsabile dello sparo alone a più basso  $\mu'_s$  (rispetto al fondo), nel cui centro vi è una zona con un  $\mu'_s$  leggermente superiore al fondo ( $\mu'_s=9.37 \text{ cm}^{-1}$ ), che è visibile in figura. Sebbene in termini di valore assoluto il valore del coefficiente di diffusione per il fondo sia circa in linea con quanto atteso (considerato anche che il valore convenzionalmente vero non è noto con precisione, ma è noto solo quello ottenibile seguendo la ricetta di preparazione del *phantom*), il valore per l'inclusione totalmente

diffondente invece risulta sottostimato e comunque sicuramente non pari al doppio del valore del fondo come teoricamente atteso. Tuttavia questo fenomeno, così come anche tutti gli effetti degli accoppiamenti tra  $\mu'_s$  e  $\mu_a$ , è previsto in quanto dipende anche dai limiti del modello teorico utilizzato. In particolare, viene utilizzato un modello per mezzi omogenei mentre il *phantom* in oggetto è intrinsecamente eterogeneo. Inoltre l'inclusione occupa solo una piccola parte dell'intera altezza del *phantom* e questo limita ulteriormente la capacità di localizzazione e l'accuratezza della stima di  $\mu'_s$  poiché i fotoni che diffondono nell'inclusione risentono per breve tempo di un differente valore del coefficiente di diffusione rispetto al fondo.

Passiamo ora alla mappa del coefficiente di assorbimento.



**Figura 4.20: Mappa del coefficiente di assorbimento.**

Si può notare come la mappa del coefficiente di assorbimento, seppur caratterizzata da una generica uniformità dei valori, sia circa una replica, a contrasti meno marcati, di quanto osservato per la mappa del coefficiente di diffusione. In particolare, per l'inclusione A si nota una più larga zona ad alto valore di  $\mu_a$  rispetto all'inclusione C che appare più circoscritta. Per l'inclusione B invece, si nota una zona molto ridotta con un

valore di  $\mu_a$  leggermente superiore al fondo. Al contrario di quanto ci si aspetterebbe, questo comportamento è atteso.

La motivazione è da ricercare ancora una volta principalmente nel modello teorico utilizzato per la stima dei parametri ottici cioè un modello di tessuto omogeneo. Si è già detto in 1.6.2 che il contributo dell'assorbimento è principalmente visibile sulla coda della distribuzione di fotoni: questo perché maggiore è il tempo che i fotoni trascorrono nel tessuto, maggiore sarà la loro probabilità di essere assorbiti. Tuttavia, allo stesso tempo, passando più tempo nel tessuto, i fotoni subiranno anche un maggior numero di eventi di diffusione e questo porta a un maggiore volume del tessuto investigato prima che questi siano rivelati: l'effetto che ne deriva è quindi una continua perdita di informazione riguardo la localizzazione della zona assorbente risultando in un ridotto contrasto di questa rispetto al fondo. In altre parole, il contrasto ottenibile diminuisce all'aumentare del tempo che i fotoni trascorrono nel tessuto.

Se si volesse utilizzare un modello più realistico di tipo eterogeneo la complessità degli algoritmi di analisi e di implementazione aumenta notevolmente. Inoltre questo tipo di modello è basato in genere sulla previa conoscenza di forma e dimensione delle inclusioni, informazioni che dovrebbero essere recuperate attraverso altre tecniche oppure facendo delle approssimazioni. Un'altra alternativa che si è utilizzata nella realtà clinica è un modello che prevede un approccio perturbativo al problema della ricostruzione impiegando quindi una curva di riferimento, chiamata omogenea, acquisita lontano dalle zone del seno che contengono le inclusioni (tumori, cisti, etc.), e una curva perturbata, cioè acquisita in prossimità della lesione: con questo modello si riesce ad ottenere un miglioramento notevole dei risultati e una riduzione degli accoppiamenti tra  $\mu_a$  e  $\mu_s'$ .

Nella realtà clinica, per i fini diagnostici sono utilizzate immagini del coefficiente di diffusione per il quale il modello omogeneo funziona bene poiché il contributo principale di questo parametro si ha su tempi corti della curva di distribuzione al contrario di quello che si ha per il coefficiente di assorbimento. Per i limiti sopra esposti, è invece evitato l'utilizzo di immagini del coefficiente di assorbimento. Per valutare quest'ultimo si utilizza invece la tecnica di *Gated Intensity Imaging* presentata nel paragrafo 1.6.2 ed in particolare i *late gate* che sono maggiormente sensibili all'assorbimento stesso.

Si presenta ora in Figura 4.22 un'immagine ottenuta tramite la citata tecnica di *Gated Intensity Imaging*. In particolare sono state utilizzate 15 finestre temporali da 533 ps ciascuno ottenendo così una scala temporale di indagine pari a 8000 ps che ben esaurisce la dinamica della curva di trasmittanza. In Figura 4.21 è rappresentata la curva di distribuzione dei fotoni sulla quale sono evidenziati i *gate*. I conteggi dei primi 2 *gate* sono stati sommati per raccogliere quelli che sono considerati gli *early photons* e che tendono a rappresentare maggiormente il contributo della diffusione. Allo stesso modo i fotoni dei *gate* da 8 a 10 sono stati sommati per evidenziare il contributo dei *late photons* e quindi dell'assorbimento, perché come già detto quest'ultimo ha effetto soprattutto sulla coda della curva di distribuzione dei fotoni (si veda 1.6.2). Considerato ciò, quello che ci si attende è che negli *early gate* l'inclusione B sia meno definita e meno visibile rispetto all'inclusione A e C che contengono entrambe dei contributi del coefficiente di diffusione. Proseguendo verso i *late gate* invece, si tende a sottolineare il contributo del coefficiente di assorbimento e quindi l'inclusione A dovrebbe diminuire la sua visibilità in favore invece dell'inclusione B che ha una forte componente di  $\mu_a$ . La visibilità dell'inclusione C dovrebbe rimanere nel complesso generalmente immutata, o al limite subire un leggero allargamento, poiché comprende pari contributi sia del coefficiente di diffusione, sia di quello di *scattering* e quindi gli effetti introdotti tendono a compensarsi. Ciò che è invece stato osservato è riportato in Figura 4.22.

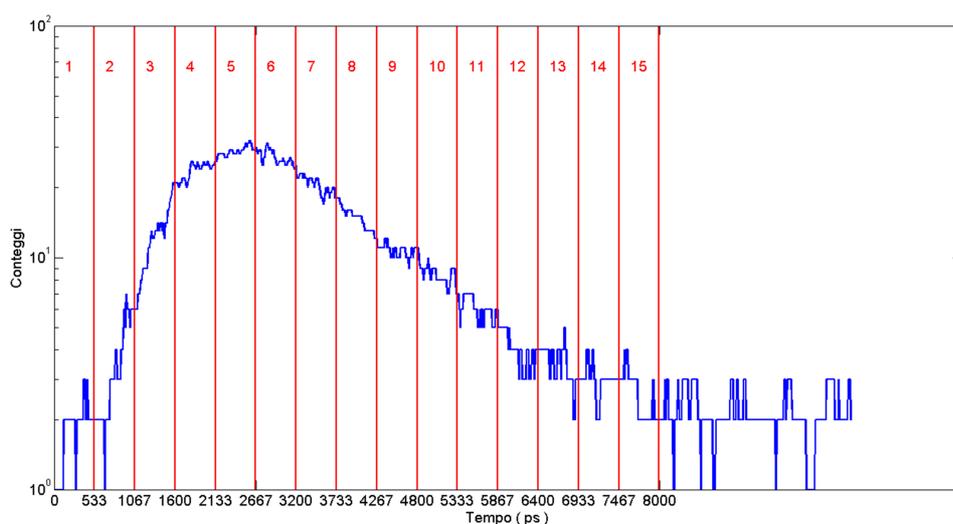


Figura 4.21: Curva di distribuzione dei fotoni in cui sono evidenziati i *gate* utilizzati

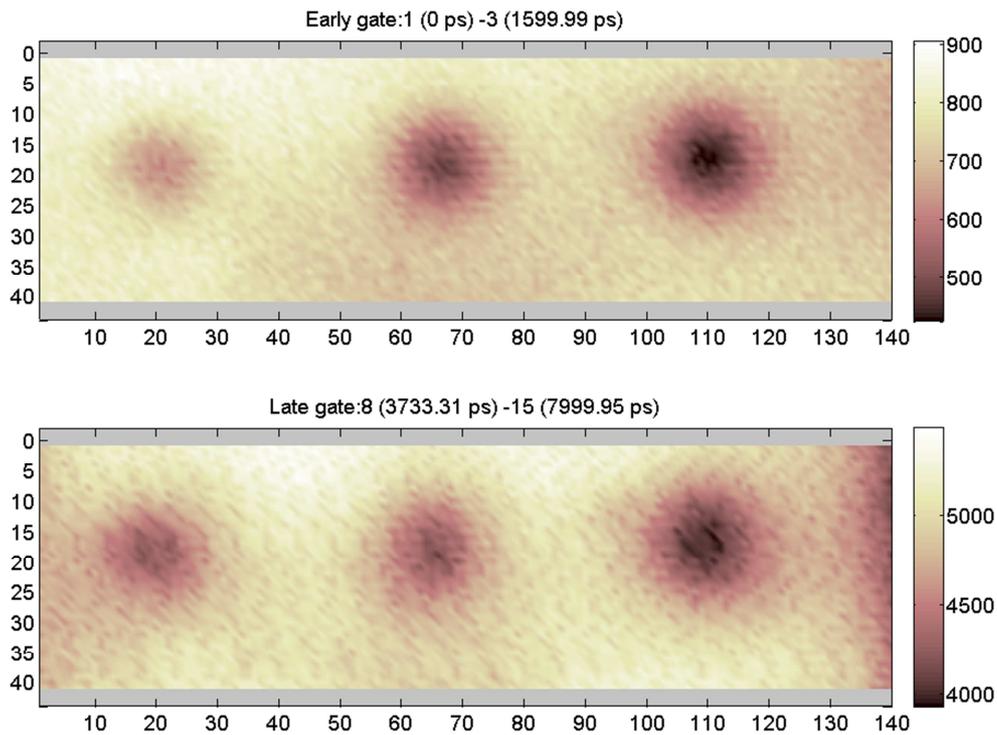
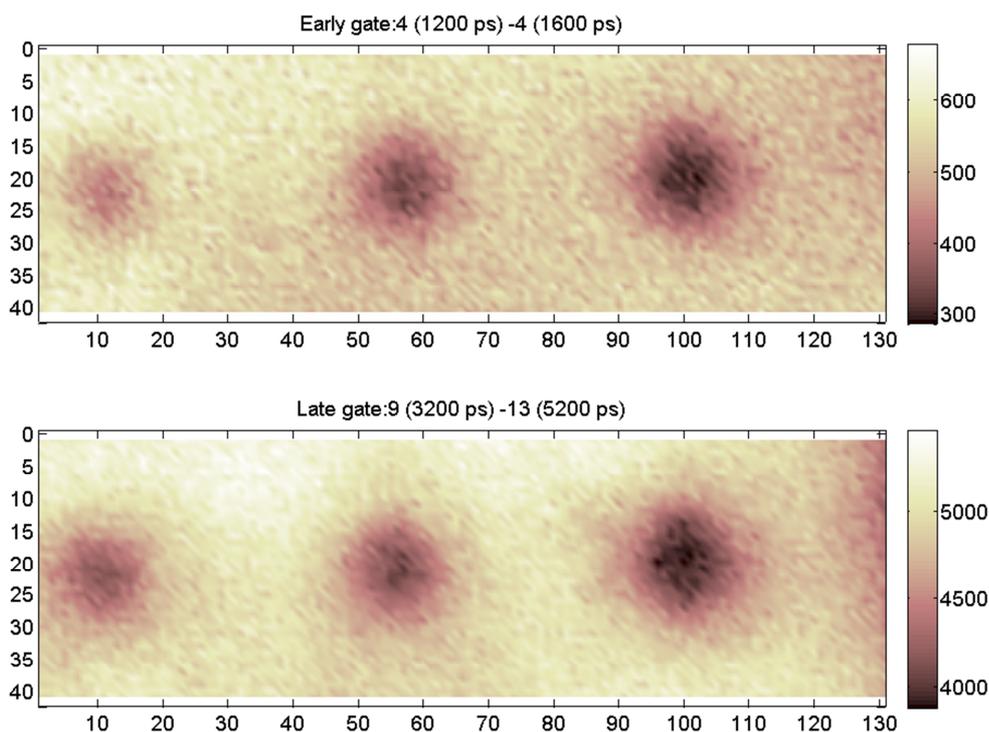


Figura 4.22: Mappe dei conteggi ottenuti negli *early gate* e nei *late gate*.

Si può notare come, nel passaggio dagli *early gate* ai *late gate*, effettivamente ci sia un allargamento e un incremento di visibilità, in termini di contrasto rispetto alle altre due inclusioni, della zona a più bassi conteggi che rappresenta l'inclusione B. Allo stesso tempo la visibilità dell'inclusione C subisce un leggero allargamento ma nel complesso rimane circa immutata. Tuttavia la visibilità dell'inclusione A non sembra variare significativamente, contrariamente a quanto atteso. Questo ha portato a ipotizzare che vi sia stata nel tempo una possibile degradazione di questa particolare inclusione che porterebbe a risultati non previsti oppure che questa contenga un contributo non esattamente nullo di assorbimento rispetto al fondo che quindi risulta nelle immagini *gated*. Per confermare comunque la correttezza e la validità delle immagini ottenute si è eseguita un'analoga misura in scansione del *phantom* utilizzando però come sistema di acquisizione la scheda *SPC130* e come rivelatore il *PMT* per la luce visibile. I risultati sono riportati in



**Figura 4.23: Mappe dei conteggi ottenuti negli *early gate* e nei *late gate* utilizzando la scheda *SPC130* come sistema di acquisizione e il *PMT* per la luce visibile come rivelatore.**

Dalla figura si notano le stesse caratteristiche discusse per Figura 4.22 per tutte le inclusioni. In particolare, anche in questo caso la visibilità dell'inclusione A non cambia nel passaggio dagli *early gate* al *late gate* come teoricamente previsto. Questo avvalorava l'ipotesi di un qualche degrado di questa particolare inclusione dal momento che, utilizzando il precedente sistema di rivelazione del mammografo, si possono ragionevolmente escludere motivi legati all'utilizzo dei *SiPM* come rivelatori o del *TDC* come sistema di acquisizione.

La discussione effettuata è basata sui risultati ottenuti dal gruppo di ricerca negli anni in analoghi tipi di misura: per i dettagli si veda la (47).

### Conclusioni

In questo capitolo si è mostrato come sia stato possibile ottenere un'immagine del *phantom* "Hebden" riuscendo così a dimostrare di poter gestire contemporaneamente la movimentazione del *probe* su un piano e i processi di acquisizione dei dati dal *TDC* anche

se deve essere ancora individuata la causa delle strutture periodiche individuate nell'immagine dei conteggi integrati su tutta la curva (Figura 4.17). I risultati ottenuti dalle immagini sono complessivamente in linea con quanto atteso: si è, infatti, osservata una chiara distinzione delle inclusioni nella mappa del coefficiente di diffusione mentre da quella del coefficiente di assorbimento si è ottenuto lo scarso contrasto e la sostanziale omogeneità prevista. Infine dalla mappa ottenuta tramite la tecnica *Gated Intensity Imaging* si è osservato il cambiamento di visibilità delle inclusioni previsto a seguito del passaggio dagli *early gate* ai *late gate*. Tuttavia, quest'ultima analisi ha fatto sorgere dubbi circa l'integrità dell'inclusione diffondente e la sua reale combinazione di valori del coefficiente di assorbimento e di quello di diffusione.

#### 4.4. La responsività del sistema di rivelazione

Si è già detto che gli elementi innovativi che sono stati introdotti nella nuova versione del mammografo ottico sono mirati a un aumento della sensibilità di rivelazione. Per verificare l'effettiva efficacia dei cambiamenti è quindi opportuno riuscire a valutare la capacità complessiva di rivelazione del mammografo ottico. Un modo per farlo è eseguire una misura di responsività, cioè una misura del rapporto tra il segnale misurato in uscita dal mezzo e l'intensità dell'illuminazione di ingresso.

La valutazione della responsività del sistema di rivelazione fa parte di un protocollo di valutazione delle caratteristiche di base di uno strumento di ottica diffusiva che influenzano la qualità e l'accuratezza delle misure nelle applicazioni cliniche. Si tratta del protocollo *BIP* o *Basic Instrumental Performance* (Valutazione delle prestazioni di base di uno strumento), il quale è presentato in dettaglio nella voce (48) della bibliografia.

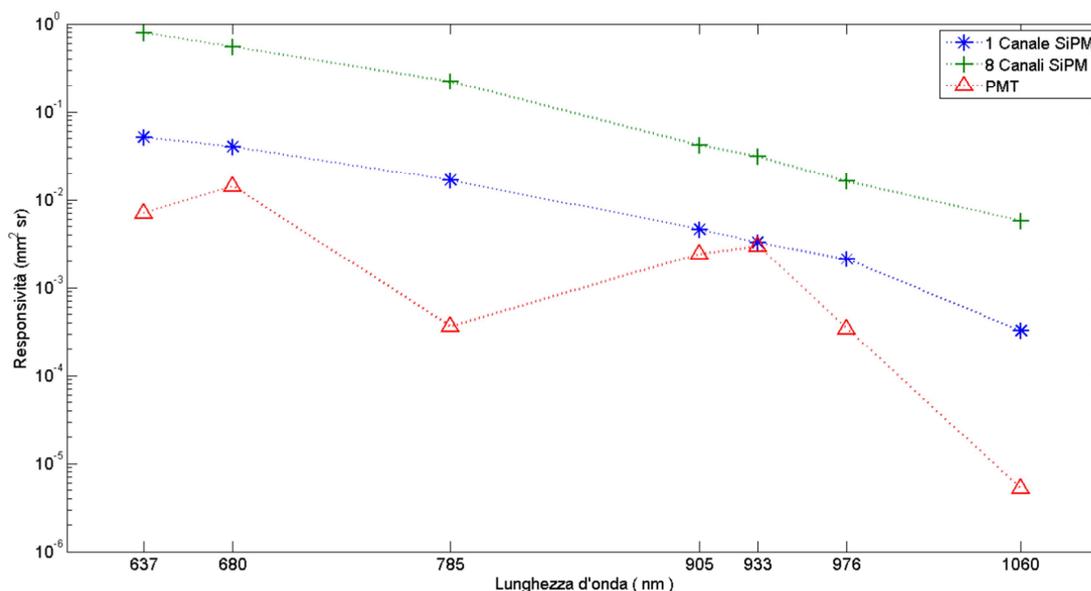
Per riassumerne il contenuto, la responsività può essere valutata tramite la seguente relazione:

$$R(\lambda) = N_{tot} / (t_{mis} \kappa_p(\lambda) P_{in}) \quad \text{Eq (4.1)}$$

L'unità di misura della responsività è  $\text{m}^2\text{sr}$ .  $N_{tot}$  è il numero di fotoni che sono raccolti, al netto dei conteggi di rumore, nel tempo di misura  $t_{mis}$ .  $P_{in}$  è invece la potenza incidente sul mezzo.  $\kappa_p(\lambda)$  è invece un fattore di trasmittanza di fotoni di uno specifico *phantom* che viene utilizzato per questo tipo di misure e ha unità di misura  $\text{W}^{-1}\text{s}^{-1}\text{m}^{-2}\text{sr}^{-1}$ : il valore di questo fattore dipende dalla lunghezza d'onda che si considera e questo giustifica la dipendenza della responsività dalla lunghezza d'onda stessa.

La valutazione della responsività complessiva è consistita in una serie di misurazioni eseguite nella geometria di trasmittanza su di un *phantom* cilindrico (10.5 cm di diametro e 2 cm di spessore) realizzato in resina epossidica con particelle di  $\text{TiO}_2$  come sostanza diffondente e inchiostro nero come sostanza assorbente, ottenendo così un coefficiente di *scattering* e di assorbimento di  $\sim 0$  e  $0.1 \text{ mm}^{-1}$  rispettivamente. Ogni misura, eseguita per tutte le lunghezze d'onda disponibili, è stata ripetuta 5 volte. In particolare, raggiunto

un valore del *count rate* pari a 10 Mcps su tutti i canali (questo porta ad avere, al netto dei conteggi di buio, circa un 1 Mcps per canale che garantisce una buona definizione della curva al di fuori del rumore di fondo) e registrata la curva di distribuzione di fotoni ottenuta, si è proceduto alla misurazione della potenza di illuminazione in ingresso al *phantom* nelle stesse condizioni di attenuazione da parte dell'attenuatore circolare della corrispondente lunghezza d'onda utilizzata. I risultati ottenuti sono riassunti in Figura 4.24.



**Figura 4.24: Andamento della responsività del sistema di rivelazione in funzione della lunghezza d'onda della sorgente utilizzata. Sono presentate 3 diverse configurazioni del sistema di rivelazione.**

Sono presentate 3 diverse configurazioni del sistema di rivelazione:

- “PMT”: Si intende la configurazione di rivelazione descritta in 2.1 e cioè un tubo fotomoltiplicatore (aree efficaci di 13 mm<sup>2</sup> per il *R5900U-01-L16* -  $\lambda < 800$  nm - e 5 mm di diametro per il *H7422-60* -  $\lambda > 800$  nm -) come rivelatore e la scheda *SPC130* come sistema di acquisizione, entrambi che erano utilizzati nella precedente versione del mammografo.
- “1 Canale SiPM”: Si intende l'utilizzo di un singolo *SiPM Excelitas* con area attiva di 1 mm<sup>2</sup> come rivelatore e la scheda *SPC130* come sistema di acquisizione.
- “8 Canali SiPM”: Si intende l'impiego di un *probe* (si veda 2.2.2 - L'innovazione: Il SiPM) sul quale sono montati 8 rivelatori con un'area efficace complessiva di 4 mm<sup>2</sup>. Il sistema di acquisizione utilizzato è il *TDC*.

È chiaro dalla figura un andamento decrescente della responsività in funzione della lunghezza d'onda in tutti i casi presentati: quest'andamento è legato all'efficienza quantica (*Quantum Efficiency, QE*)<sup>29</sup> e alla sensibilità dei due tipi di rivelatore utilizzati che diminuisce per alte lunghezze d'onda come riportato in Figura 4.25 e Figura 4.27. L'improvviso aumento di responsività che si vede per la serie "PMT" a 905 nm è legato al cambiamento del fotomoltiplicatore utilizzato e quindi al cambiamento della *QE* di rivelazione.

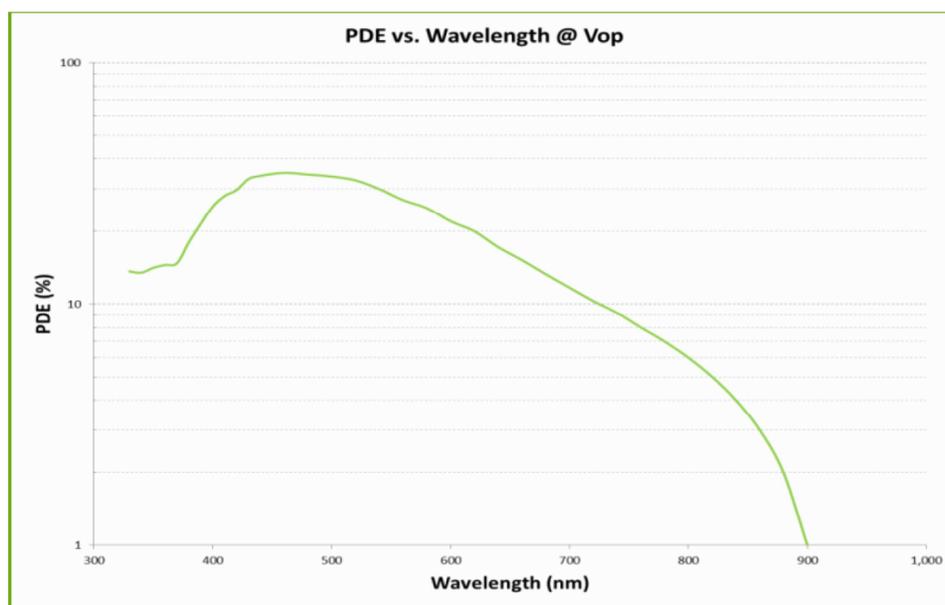


Figura 4.25: Efficienza di raccolta di fotoni del *SiPM C30742-11 Excelitas*<sup>30</sup>

In realtà quanto riportato in Figura 4.25 fa sorgere qualche dubbio: infatti il crollo dell'efficienza che si osserva attorno a 800 nm non è tipico del silicio e può essere legato ad un artefatto della misura di efficienza eseguita da parte di *Excelitas*. Se si presenta, infatti, in Figura 4.26, l'andamento della *Photon Detection Efficiency (PDE)* del *SiPM*, ottenuto da misure eseguite da un gruppo all'interno del Dipartimento di Fisica, si nota

<sup>29</sup> L'efficienza quantica (*Quantum efficiency, QE*) è in genere definita come il numero di fotoelettroni emessi dal fotocatodo (o assimilabili) diviso per il numero di fotoni incidenti.

<sup>30</sup> L'efficienza di raccolta dei fotoni (*Photon Detection Efficiency, PDE*) è una misura di che percentuale di fotoni incidenti è rivelata e tradotta in un impulso elettrico: è concettualmente analoga alla *QE* solo dipende da parametri diversi (perché diverso è il fenomeno fisico legato alla rivelazione) per il *SiPM* e per il *PMT*. È espressa dalla relazione:  $PDE = QE \times \varepsilon \times GE$ . *QE* = Quantum Efficiency.  $\varepsilon$  = fattore geometrico. *GE* = probabilità di valanga. Fonte:

<http://www.excelitas.com>

come questa non presenti più un taglio attorno a 800 nm ma anzi la risposta del dispositivo si estenda fino a 1100 nm (lunghezza d'onda di taglio del silicio).

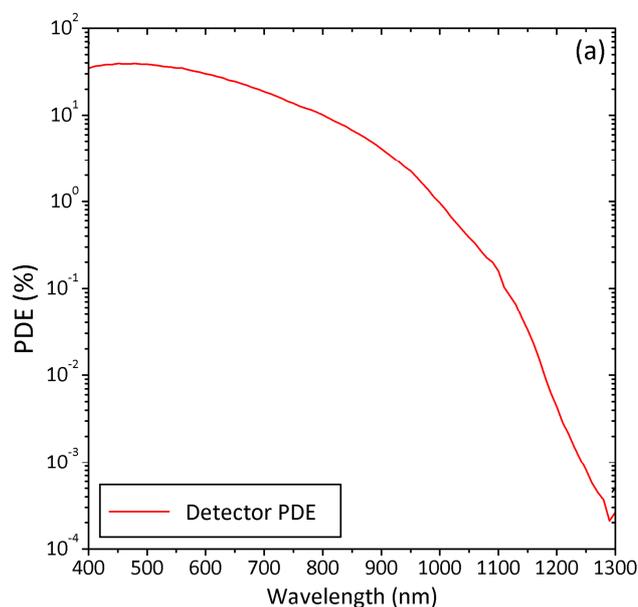


Figura 4.26: PDE del SiPM utilizzato misurata a 6 V di tensione in eccesso e una temperatura di 25°C. PDE del rivelatore basato sul SiPM C30742-11 Excelitas

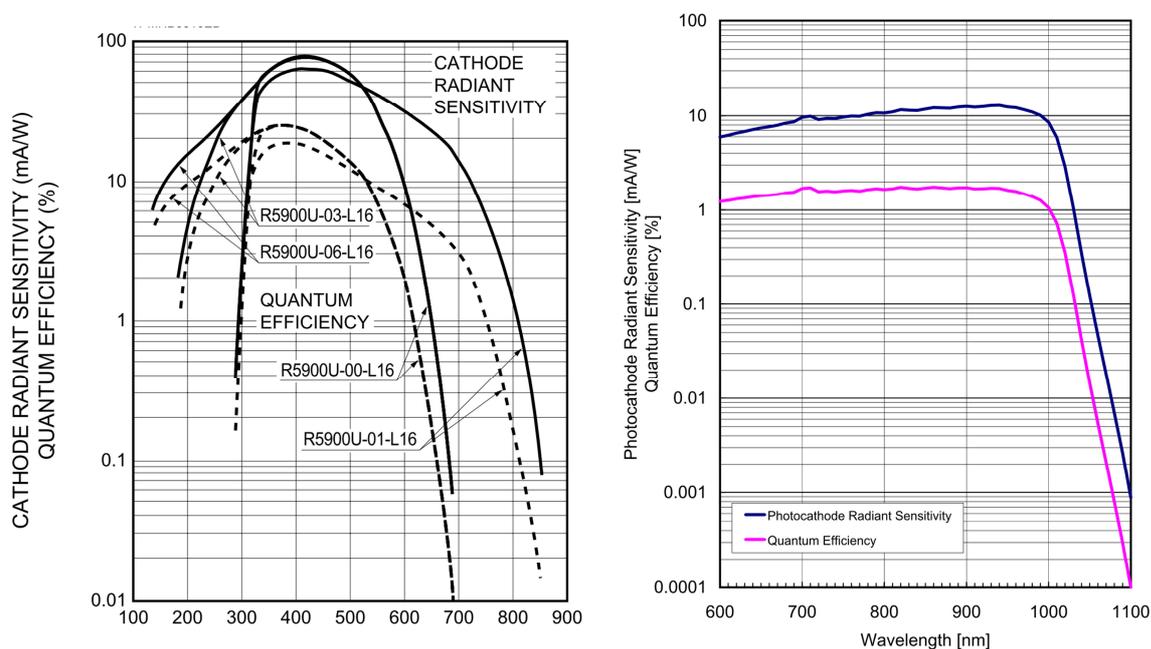


Figura 4.27: Sensibilità del catodo ed efficienza quantica del tubo fotomoltiplicatore R5900U-01-L16 a sinistra e del H7422-60 a destra<sup>31</sup>

<sup>31</sup> La sensibilità alla radiazione del catodo (*Radiant sensitivity, RS*) è la corrente fotoelettrica prodotta dal fotocatodo divisa per la potenza di radiazione incidente ad una data lunghezza

Si può notare inoltre un netto aumento di responsività nel caso di utilizzo di un singolo *SiPM* rispetto all'utilizzo dei *PMT*. Questo guadagno aumenta ancora nel caso dell'impiego del *probe* con 8 *SiPM* impiegato nella nuova versione del mammografo: nel complesso si realizza un guadagno, espresso in termini di rapporto tra le responsività nella configurazione "8 Canali *SiPM*" e configurazione "*PMT*", per ogni lunghezza d'onda che è riassunto in Tabella 4.11.

**Tabella 4.11: Guadagno di responsività ottenuto passando alla configurazione "8 Canali *SiPM*" partendo da quella "*PMT*".**

Lunghezza d'onda (nm)	Guadagno
637	119
683	46
785	871
905	31
930	19
975	92
1060	978

Come si nota dalla tabella, il valore del guadagno ottenuto è in generale alto, in particolare per la lunghezza d'onda 1060 nm dove i *PMT* hanno una bassa efficienza quantica. Si nota un guadagno elevato anche per le lunghezze d'onda 637-785 nm, e 975 nm, mentre il guadagno alle 905 e 930 nm è meno marcato per via dell'incremento di responsività della configurazione "*PMT*" in questo *range* di lunghezze d'onda.

Il guadagno ottenuto è legato a vari aspetti:

- I *SiPM* nel complesso offrono una migliore efficienza di fotorivelazione espressa tramite una maggiore efficienza quantica (30% a 600 nm per il *SiPM* utilizzato e 8% per il *PMT*).
- Nel caso dell'utilizzo del *probe* a 8 *SiPM* vengono ridotte le perdite nel percorso ottico rispetto all'impiego dei *PMT*. Questo perché come già detto in 2.1, nella

---

d'onda ed espressa in A/W. Si ha:  $QE = RS \times 1240/\lambda$  [ $\times 100$ ]. Fonte: <http://www.hamamatsu.com>

configurazione precedente la luce in uscita dal seno veniva raccolta da un *bundle* di fibre di raccolta di diametro pari a 5.6 mm e lunga un metro che portava la radiazione a due differenti *PMT*, introducendo quindi delle perdite legate all'accoppiamento in fibra e alla biforcazione della fibra stessa. Inoltre su ciascun *PMT* erano presenti delle ottiche per la focalizzazione della luce incidente sul fotocatodo e queste realizzavano ulteriori perdite. Con il *probe* utilizzato invece, la luce viene direttamente raccolta al di sotto della piastra di raccolta inferiore, come mostrato in Figura 2.5b. Questo permette di eliminare parte delle perdite associate all'accoppiamento in fibra del segnale. Tuttavia sull'attuale *probe* rimane presente un vetro di protezione dei *SiPM* che causa una lieve attenuazione del segnale.

- L'apertura numerica ottenuta utilizzando il *probe* è prossima ad uno<sup>(42)</sup> e risulta quindi maggiore di quella in genere ottenibile da fibre ottiche (nel caso del *bundle* di fibre della precedente versione del mammografo  $NA \sim 0.37$ ) e questo si traduce in una maggiore quantità di luce che può essere rivelata<sup>(21)</sup>.
- Le caratteristiche del *TDC* fanno sì che la probabilità di perdita di conteggi dovuta al tempo morto sia ridotta rispetto alla scheda *SPC130*. In particolare si ricorda infatti che il tempo morto per il *TDC* è circa 5 ns mentre per quanto riguarda la scheda *SPC130* è di circa 125 ns.

Riassumendo: si è resa necessaria una riduzione della potenza degli impulsi emessi dalle sorgenti laser e una conseguente riduzione della loro durata temporale per ridurre l'effetto che ha la coda della risposta temporale dei *SiPM* sulla stima dei parametri ottici (si veda la sezione 2.2.1 - L'innovazione: Il Sepia II e 2.2.2 - L'innovazione: Il *SiPM*).

Tuttavia la combinazione che prevede l'utilizzo di 8 *SiPM* e il *TDC* come sistema di rivelazione ha portato ad un incremento della responsività riassunto in Tabella 4.11. Nel complesso quindi si presenta il valore di guadagno ottenuto in Tabella 4.12, calcolato come un rapporto tra il guadagno di responsività ottenuto e il rapporto di perdita di potenza espresso in Tabella 2.1.

**Tabella 4.12: Valore del guadagno complessivo ottenuto considerando la riduzione di potenza introdotta e l'aumento di responsività del sistema**

<b>Lunghezza d'onda (nm)</b>	<b>Guadagno</b>
<b>637</b>	<i>16</i>
<b>683</b>	<i>5</i>
<b>785</b>	<i>101</i>
<b>905</b>	<i>18</i>
<b>930</b>	<i>1</i>
<b>975</b>	<i>6</i>
<b>1060</b>	<i>76</i>

Come si può notare dalla tabella, per tutte le lunghezze d'onda, tranne che per la 930 nm, è stato raggiunto un guadagno in termini di segnale raccolto se confrontato con la precedente versione del mammografo. In particolare, si osserva un alto guadagno soprattutto per la 1060 nm permettendo così di ottenere una maggiore sensibilità al componente del collagene che è uno dei motivi che ha guidato il processo di aggiornamento del mammografo. Si raggiunge quindi uno degli scopi del lavoro di tesi. L'alto guadagno ottenuto a 785 nm è spiegabile con il fatto che questa è l'ultima frequenza per la quale era utilizzato il *PMT* per il visibile che quindi presentata una bassa efficienza quantica. Per il resto delle lunghezze d'onda si raggiunge comunque un discreto guadagno di almeno un fattore 5. Solo per la 930 nm non si raggiunge un guadagno ma ci si limita a mantenere lo stesso livello di segnale ottenuto anche con la versione precedente del mammografo.

Nel complesso comunque i risultati sono soddisfacenti e consentono di mostrare come gli elementi introdotti possano portare al raggiungimento di una maggior sensibilità per la maggior parte delle lunghezze d'onda.



## Conclusioni

Il lavoro di tesi svolto si è concentrato sull'introduzione di elementi innovativi nello strumento di mammografia ottica del Dipartimento di Fisica del Politecnico di Milano e sulla loro caratterizzazione e validazione. Questi hanno riguardato in particolare il rivelatore e il sistema di acquisizione utilizzati. Degli aggiornamenti sono stati introdotti inoltre nel sistema di gestione delle sorgenti laser e per quello di movimentazione.

Il principale motivo che ha portato a compiere il processo di aggiornamento è legato alla possibilità di migliorare la capacità di rivelazione di luce dello strumento per tutte e 7 le lunghezze d'onda presenti con emissione nel rosso-vicino infrarosso (630 – 1060 nm). Ciascuna consente di ottenere informazioni sui principali costituenti del seno ma in particolare si desidera raggiungere un guadagno maggiore per la 1060 nm la quale permette di indagare il costituente del collagene. Questo, infatti, ha fornito prove di essere un valido indicatore del rischio di sviluppo del tumore al seno oltre che un indicatore della natura della lesione.

Si riassumono le principali modifiche apportate. In particolare, per quanto riguarda:

- **Il rivelatore.** Nella precedente versione del mammografo erano utilizzati due tubi fotomoltiplicatori. Questi sistemi sono caratterizzati da un elevato guadagno ( $10^6 - 10^7$ ), una *Transit Time Spread* tipica dell'ordine dei 250 ps e un conteggio di buio ridotto. Tuttavia sono molto sensibili ai campi magnetici e a eccessi di illuminazione; sono inoltre in genere voluminosi, con una efficienza quantica ridotta (~ 25%) e hanno un costo anche di diverse migliaia di Euro (~5 K€).

L'alternativa che si è proposta per aumentare la capacità di raccolta della luce riguarda l'utilizzo di un insieme di 8 *Silicon Photomultiplier* o *SiPM*. Questi rivelatori sono estremamente compatti poiché basati su una elettronica integrata, hanno un'alta efficienza di rivelazione, sono robusti per via della ridotta sensibilità ai campi elettromagnetici e a una forte esposizione alla luce e permettono di ottenere un guadagno di un fattore  $10^5 - 10^7$ . Hanno una buona risposta temporale, leggermente migliore di quella dei fotomoltiplicatori (140-200 ps) ma un conteggio di buio molto più alto, dell'ordine dei 150-200 KCps. Inoltre possiedono una risposta temporale

caratterizzata da due componenti di decadimento: una molto rapida (decine di picosecondi) e una molto lenta (ordine del nanosecondo). Si tende a parlare di “coda” veloce e “coda” lenta della risposta temporale. Nel complesso i vantaggi introdotti da questo nuovo tipo di rivelatori ne hanno giustificata l’introduzione, anche se vi erano alcuni dubbi riguardo la possibilità di stimare correttamente i parametri ottici a causa della particolare forma della coda.

Tuttavia il lavoro di tesi, tramite prove di analisi ed estrazione delle caratteristiche eseguite su vari fantocci, ha permesso di confermare l’effettiva possibilità di stimare in modo ragionevolmente corretto i parametri ottici.

- **Il sistema di acquisizione.** Il sistema di acquisizione che è impiegato nella precedente versione nel mammografo è una scheda per la tecnica di *Time Correlated Single Photon Counting*. Questa è caratterizzata da una ridotta non linearità ( $< 2\%$ ) e un’elevata risoluzione temporale data dalla larghezza del singolo canale temporale che può arrivare a 813 fs. Tuttavia presenta un tempo morto pari a 125 ns che limita il massimo *count rate* utilizzabile e può introdurre distorsioni nella curva ricostruita della distribuzione di fotoni. Inoltre ha un costo elevato ( $\sim 10$  K€) e quest’ultimo tende a limitare il numero di schede acquistabili. Tuttavia, la volontà di raccogliere una maggior quantità di luce in uscita dal seno ha portato all’incremento del numero di rivelatori e di conseguenza si è reso necessario un sistema di acquisizione, possibilmente economico, che potesse gestire questo numero. L’alternativa proposta è rappresentata da un *Time-to-Digital Converter* o *TDC*: questo possiede una durata del canale temporale pari a 82 ps inferiore quindi alla scheda per *TCSPC*. Inoltre presenta una non linearità differenziale molto marcata con variazioni percentuali del bin temporale anche del 40%. D’altro canto è un sistema economico ( $\sim 6.5$  K€) per la gestione contemporanea di ben otto canali indipendenti collegabili ad altrettanti rivelatori aprendo così alla possibilità di una maggiore acquisizione di luce. Inoltre possiede un tempo morto di molto inferiore (5.5 ns) rispetto alla scheda *TCSPC* permettendo l’utilizzo di un *count rate* di misura molto più alto.

Durante il lavoro di tesi si è proceduto a una caratterizzazione della non linearità differenziale proponendo tre differenti metodi di correzione. I risultati delle tre diverse modalità di correzione sono stati confrontati in termini di larghezza della curva di distribuzione di fotoni corretta e in termini del profilo della curva ottenuto

ma non hanno permesso di discriminare con certezza quale fosse il miglior metodo. Per questo motivo si è eseguita un'analisi spettrale su una curva di buio alla quale sono state applicate le tre modalità di correzione. I risultati hanno mostrato come tutti i metodi proposti attenuassero fortemente e in modo simile le periodicità presenti nella curva di buio e legate alla non linearità differenziale. Tuttavia due metodi, basati su una linearizzazione della scala temporale utilizzata, hanno mostrato di introdurre delle leggere distorsioni nello spettro, soprattutto alle alte frequenze corrispondenti alla larghezza del canale temporale utilizzato nella linearizzazione. D'altro canto, queste distorsioni non hanno preoccupato per via della loro debole intensità. Dalle analisi eseguite è emersa quindi una sostanziale omogeneità nei metodi di correzione: una nuova conferma si è avuta con delle prove successive. Sono state affrontate anche altre problematiche riguardanti il *TDC* quali il tempo morto di misura (intendendo il tempo in eccesso che lo strumento impiega per completare una acquisizione). Eseguendo diverse misure, variando il tempo di acquisizione e il tempo di accumulo dello strumento si è mostrato che, combinando opportunamente queste due tempistiche, il tempo morto si può ridurre a valori prossimi allo 0.1% del tempo di acquisizione. In particolare questo succede scegliendo un rapporto  $T_{acq}/T_{acc}$  pari a 100 o superiore e un tempo di acquisizione di 1000 ms o superiore.

Nel complesso si è riusciti ad acquisire contemporaneamente i dati dagli 8 canali del *TDC* permettendo quindi di sfruttare completamente il maggior numero di rivelatori impiegato rispetto alla precedente versione del mammografo.

- **Il sistema di movimentazione.** Il sistema di movimentazione ha subito varie modifiche di tipo meccanico e un aggiornamento *software* delle schede di gestione dei motori. I cambiamenti sono mirati alla riduzione del contributo di vibrazioni e rumore durante la movimentazione e l'eliminazione della possibilità di perdita di passi da parte dei motori. Durante il lavoro di tesi si è voluto quindi verificare che il sistema di movimentazione modificato non portasse a una perdita di passi dei motori durante la scansione e che il livello di vibrazioni e rumorosità rimanesse contenuto. Sono state eseguite varie prove a diverse velocità dei motori. I risultati ottenuti hanno mostrato come velocità comprese tra i 20 mm/sec e 80 mm/sec non portino a una perdita di passi e il livello di rumorosità e vibrazioni rimanga contenuto. Queste

considerazioni valgono per la direzione X, cioè parallela al petto della paziente, mentre per quella Y, perpendicolare al petto della paziente, si è trovato che le migliori condizioni si hanno con velocità comprese tra 6.5 mm/sec e 8.5 mm/sec.

- **Il sistema di gestione delle sorgenti laser.** La gestione delle 7 sorgenti laser impiegate nel mammografo è affidata a un unico *driver*. Questo permette di controllare la potenza degli impulsi emessi, il loro profilo temporale e l'ordine di attivazione delle sorgenti laser. Nella precedente versione del mammografo il sistema di gestione era affetto da un problema di stabilità. In particolare, dopo 4 ore di *warm up*, non veniva ancora raggiunta una valida stabilità in termini di energia emessa e larghezza degli impulsi. Nella nuova versione del mammografo è utilizzato un aggiornato dello stesso *driver* che ha permesso di raggiungere un alto livello di stabilità (in genere ben all'interno dell'intervallo del 2% di variazione) grazie ad un sistema di raffreddamento delle sorgenti laser. Oltre all'aggiornamento del *driver* di gestione delle teste laser, nella nuova versione del mammografo è stato necessario modificare opportunamente la durata temporale degli impulsi prodotti dalle singole sorgenti, riducendola, rispetto a quanto si aveva nella precedente versione del mammografo. Questo per ridurre il peso che ha la lenta coda della risposta temporale del *SiPM* e permettere quindi al *software* preposto la corretta estrazione dei parametri ottici dalla curva di distribuzione dei fotoni. Contemporaneamente alla riduzione della durata temporale degli impulsi, avviene anche una riduzione della potenza emessa dalle sorgenti laser: questo per via della minore tensione di alimentazione fornita. Nel complesso si è quindi resa necessaria una riduzione di potenza, rispetto alla configurazione della precedente versione del mammografo, di un minimo di un fattore 7 ad un massimo di un fattore 20. Una delle successive prove mira a valutare se tale perdita è compensata dall'utilizzo del *probe* composto di 8 *SiPM* e se quindi nel complesso sia stato raggiunto il guadagno di segnale desiderato.

Durante il lavoro di tesi sono state inoltre eseguite delle prove di caratterizzazione delle prestazioni dello strumento nel complesso.

- Il primo tipo di prova consiste nell'effettuare delle misurazioni variando il **count rate di misura** sia utilizzando il *TDC* sia utilizzando la scheda per *TCSPC*. Lo scopo è valutare il tipo di distorsione che può essere introdotta sulla curva di distribuzione

dei fotoni quando si utilizza un *count rate* di misura che non è quello strettamente richiesto dalla tecnica di *TCSPC*. I risultati confermano la presenza della distorsione dei parametri ottici attesa per quanto riguarda la scheda per *TCSPC*. Se si considera invece il *TDC* si è mostrato come questo sia in larga misura meno soggetto alle classiche distorsioni presenti nelle schede per *TCSPC*, presentando tuttavia alcuni lievi andamenti dei parametri ottici con il *count rate* di misura i cui motivi non sono del tutto chiari. È quindi auspicabile per il futuro un'analisi più approfondita di questa problematica in modo da individuare con precisione gli effetti di un elevato *count rate* di misura. D'altro canto, le misure preliminari e le conoscenze acquisite durante il lavoro di tesi sembrano indicare che il *TDC* sia in linea di principio esente dalle problematiche di perdita di conteggi e di deformazione delle curve che invece caratterizzano le schede *TCSPC*: questo porterebbe a un grande vantaggio rendendo immediatamente disponibile una maggiore quantità di segnale ottenuta aumentando il *count rate* di misura che nel caso della scheda *TCSPC* ha dei precisi limiti.

- Il secondo tipo di prova, il **protocollo *MEDPHOT***, è mirato alla valutazione delle prestazioni del sistema in termini di accuratezza e linearità. Il sistema possiede una buona linearità sia in termini di  $\mu'_s$  sia di  $\mu_a$  anche se limitata entro alcuni valori del coefficiente di assorbimento ( $0.2 \text{ cm}^{-1}$ ), un ridotto accoppiamento negativo di  $\mu'_s$  su  $\mu_a$  e un forte accoppiamento positivo di  $\mu_a$  su  $\mu'_s$ . Inoltre l'accuratezza ottenuta su  $\mu'_s$  e su  $\mu_a$  è in linea, in realtà leggermente maggiore, rispetto ai risultati ottenuti eseguendo il protocollo *MEDPHOT* sulla precedente versione del mammografo ottico.
- La terza prova consiste nell'**acquisizione di un'immagine** di un particolare *phantom*. Le immagini ottenute del coefficiente di diffusione e di quello di assorbimento hanno mostrato come si sia stato in grado di gestire contemporaneamente le problematiche riguardanti l'acquisizione dei dati tramite il *TDC* e la movimentazione sul piano X-Y. Inoltre, le stesse immagini mostrano la capacità di distinguere abbastanza facilmente zone con un differente valore del coefficiente di diffusione e del coefficiente di assorbimento rispetto al fondo, mantenendo un discreto accordo con i valori assoluti dei parametri ottici attesi. Tuttavia si sono notati alcuni andamenti periodici nella visualizzazione delle immagini che meritano nuove indagini.

- La quarta e ultima prova è stata eseguita per valutare se i cambiamenti introdotti portassero ad un concreto aumento della capacità complessiva di rivelazione del mammografo ottico. In particolare, è stata valutata la **responsività del sistema**, definita nell'ambito di un protocollo di valutazione delle caratteristiche di base di uno strumento di ottica diffusiva e che influenzano la qualità e l'accuratezza delle misure nelle applicazioni cliniche: il protocollo *BIP*. Sono state messe a confronto tre diverse configurazioni del sistema di rivelazione complessivo: i *PMT* come rivelatori e la scheda per *TCSPC* come sistema di acquisizione; un *SiPM* come rivelatore e la scheda per *TCSPC* per l'acquisizione e infine un *probe* di 8 *SiPM* e il *TDC* per l'acquisizione. I risultati indicano che l'ultima configurazione, che è quella impiegata nella nuova versione del mammografo, permette di ottenere la maggior responsività a tutte le lunghezze d'onda. In realtà, per valutare il guadagno che è stato complessivamente raggiunto, bisogna considerare anche la perdita di potenza che è stata necessaria introdurre riducendo la durata temporale degli impulsi. Nel complesso si è quindi ottenuto un elevato guadagno soprattutto alle lunghezze d'onda 785 nm (guadagno: 100) e 1060 nm (guadagno: 75) dove i *PMT* presentavano una bassa efficienza quantica. Per le altre lunghezze d'onda si è ottenuto un fattore di guadagno maggiore di 5. Solo per la 930 nm si è mantenuto lo stesso livello di segnale rispetto alla precedente versione del mammografo. Il guadagno ottenuto, in particolare per la 1060 nm, che si traduce in una maggiore sensibilità all'importante costituente del seno quale è il collagene, ha permesso di valutare positivamente gli elementi innovativi introdotti.

In conclusione: il lavoro di tesi, attraverso un processo di sviluppo, caratterizzazione e di validazione avvenuto in più momenti e attraverso diversi tipi di misura, ha mostrato come le nuove tecnologie introdotte, sia riguardo alla rivelazione, sia riguardo al sistema di acquisizione permettano una buona stima dei parametri ottici in termini di accuratezza e di linearità. Si è mostrato inoltre che, utilizzando un sistema di acquisizione digitale si possano superare i limiti delle normali schede di acquisizione per *Time Correlated Single Photon Counting* permettendo così di impiegare un maggior tasso di conteggi durante le misure. Si è mostrata la capacità di produrre un'immagine in una modalità simile a quanto viene eseguito durante una reale misura del mammografo ottico. Infine si è verificato che gli elementi innovativi introdotti portano a un aumento della figura di

merito nota come responsività rispetto alla configurazione del sistema di rivelazione utilizzata nella precedente versione del mammografo.

Nel complesso gli scopi prefissati del lavoro di tesi sono stati raggiunti. Tuttavia vi sono ampi margini di miglioramento per il futuro soprattutto per quanto riguarda il sistema di acquisizione e la qualità dell'immagine. E', infatti, possibile ricercare e implementare eventuali altri metodi di compensazione della non linearità differenziale che caratterizza il *TDC* in modo da migliorare continuamente la qualità della correzione; in modo analogo è anche possibile ottimizzare l'algoritmo di esecuzione dell'operazione di *refolding*. È necessario poi migliorare la gestione del flusso di dati dal *TDC* al PC e la rilettura della memoria del primo Si vuole, infatti, evitare interruzioni improvvise del *software* di misura *TRS* in modo che sia possibile sfruttare a pieno le potenzialità dello strumento di acquisizione, soprattutto in termini dell'alto numero di eventi in principio processabile. Una migliore gestione e controllo dal punto di vista *software* del *TDC* permetterebbe inoltre di migliorare il processo di sincronizzazione tra acquisizione e movimentazione che in questo momento non è implementato. Sono auspicabili infine l'esecuzione di misure *in vivo* sul seno per la validazione finale dello strumento nel suo complesso proprio nell'ambito in cui questo dovrà in un futuro operare che è quello ospedaliero e quindi al di fuori di un ambiente a condizioni controllate com'è un laboratorio di ricerca.



1. **Grosenick, Dirk, et al., et al.** Optical breast imaging and spectroscopy .
2. **Regine, Choe e Turgut, Durduran.** Diffuse Optical Monitoring of the Neoadjuvant Breast Cancer Therapy. *IEEE JOURNAL OF SELECTED TOPICS IN QUANTUM ELECTRONICS*. 2012, Vol. 18, 4.
3. **Taroni, Paola.** Diffuse optical imaging and spectroscopy of the breast: A brief outline of history and perspectives. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2012, Vol. 11, 241.
4. **F. Semiglazov, Vladimir e F. Semiglazov, Vladislav.** Neoadjuvant (Preoperative) Therapy in Breast Cancer. [aut. libro] Maurie M. Markman. *Neoadjuvant Chemotherapy - Increasing Relevance in Cancer Management*. 2013.
5. **Luparello, Claudio.** Aspects of Collagen Changes in Breast Cancer. *J Carcinogene Mutagene*. 2013.
6. **McCormack, Valerie A. e dos Santos Silva, Isabel.** Breast Density and Parenchymal Patterns as Markers of Breast Cancer Risk: A Meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006, Vol. 15, 6.
7. **Taroni, Paola, et al., et al.** Optical identification of subjects at high risk of developing breast cancer. *JBO Letters*. 2013, Vol. 18, 6.
8. **Koga, Katia Hironoto, et al., et al.** Monitoring the Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer. [aut. libro] Maurie M. Markman. *Neoadjuvant Chemotherapy - Increasing Relevance in Cancer Management*. 2013.
9. **Adam, Gibson e Hamid, Dehghani.** Diffuse optical imaging. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*. 2009, 367, p. 3055-3072.
10. **Durduran, T, et al., et al.** Diffuse optics for tissue monitoring and tomography. *REPORTS ON PROGRESS IN PHYSICS*. 2010, Vol. 73.
11. **Patterson, Michael e Chance B, Wilson B.** Time resolved reflectance and transmittance for the non invasive measurement of tissue optical properties. *Applied Optics*. 1989, Vol. 28, 12.
12. **Quarto, Giovanna, et al., et al.** Estimate of tissue composition in malignant and benign breast lesions by time-domain optical mammography. *Biomedical Optics Express*. 2014.
13. **Nilsson, Annika M.K., et al., et al.** Changes in spectral shape of tissue optical properties in conjunction with laser-induced thermotherapy. *Applied Optics*. 1998, Vol. 37, 7.

14. **Leff, Daniel Richard, et al., et al.** Diffuse optical imaging of the healthy and diseased breast: A systematic review. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2008, Vol. 108:9-22.
15. **Agronskaia, A.V. e Gerritsen, L. Tertoolen H.C.** High frame rate fluorescence lifetime imaging. *Applied Physics*. 2003, Vol. 36.
16. **Dowling, K., et al., et al.** Fluorescence lifetime imaging with picosecond resolution for biomedical applications. *Optics Letters*. 1998, Vol. 23.
17. **Krishnan, R.V., et al., et al.** Development of a multiphoton fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) system using a streak camera. *Review of Scientific Instruments*. 2003, Vol. 74.
18. **Biskup, C., Zimmer, T. e Benndorf, K.** FRET between cardiac Na<sup>+</sup> channel subunits measured with a confocal microscope and a streak camera. *Nature Biotechnology*. 2004, Vol. 22.
19. **Smith, G.E.** The invention and early history of the CCD. *Nuclear Instruments and Methods*. 2009, Vol. 607.
20. **Becker, Wolfgang.** *Advanced Time-Correlated Single Photon Counting Applications*. s.l. : Springer.
21. —. *The bh TCSPC Handbook*. s.l. : Becker & Hickl GmbH, 2006.
22. **Wahl, Michael.** *Time-Correlated Single Photon Counting*. Berlino : PicoQuant GmbH, 2014.
23. **Chaplin, Vandiver, et al., et al.** Analytical modeling of pulse-pileup distortion using the true pulse shape, with applications to Fermi-GBM. *Nuclear Instruments and Methods in Physics* . 2013, Vol. 21, 36.
24. **Venugopal, Vivek e Intes, Xavier.** Recent Advances in Optical Mammography. *Current Medical Imaging Reviews* . 2012, Vol. 8, 3.
25. **Bevilacqua, F, et al., et al.** Broadband absorption spectroscopy in turbid media by combined frequency-domain and steady-state methods. *Applied Optics*. 2000, Vol. 39.
26. **Ueda, Shigeto, et al., et al.** Baseline Tumor Oxygen Saturation Correlates with a Pathologic Complete Response in Breast Cancer Patients Undergoing Neoadjuvant Chemotherapy. *American Association for Cancer Research*. 2012, Vol. 72, 17.
27. **Taroni, Paola, et al., et al.** Seven-wavelength time-resolved optical mammography extending beyond 1000 nm for breast collagen quantification. *Optics Express*. 2009, Vol. 19, 18.
28. **Taroni, Paola, et al., et al.** Noninvasive assesment of breast cancer risk using time-resolved diffuse optical spectroscopy. *JBO Letters*. 2010, Vol. 15, 6.

29. *Combined Dynamic and Static Optical Tomography for Prediction of Treatment outcome in Breast Cancer Patients*. **Gunther, Jacqueline, et al., et al.** s.l. : European Convention of Biomedical Optics, 2015.
30. **Jiang, Shudong, et al., et al.** Pre-treatment total hemoglobin in breast cancer is a predictor for complete response to neoadjuvant chemotherapy. *Biomedical Optics*. 2014.
31. **Santoro, Ylenia, et al., et al.** Breast cancer spatial heterogeneity in near-infrared spectra and the prediction of neoadjuvant chemotherapy response. *Journal of Biomedical Optics*. 2011, Vol. 16, 9.
32. **Cerussi, Albert E., et al., et al.** Diffuse optical spectroscopic imaging correlates with final pathological response in breast cancer neoadjuvant chemotherapy. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*. 2011.
33. **Larsson, Jim, et al., et al.** Development of a compact multipass oxygen sensor used for gas diffusion studies in opaque media. *Applied Optics*. 2015, Vol. 54, 33.
34. **A, Torricelli, et al., et al.** Time resolved reflectance spectroscopy for non-destructive assessment of food quality. *Sens. & Instrument. Food Qual.* 2008, Vol. 2.
35. **Bianco, S. Del, et al., et al.** Liquid phantom for investigating light propagation through layered diffusive media . *Optics Express*. 2004, Vol. 12.
36. **Renker, D.** New Trends on photodetectors . *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*. 2007, Vol. 1, 6.
37. **Hamamatsu.** Multianode photomultiplier tube R5900U-L16 Series. [Online] 1999. <https://www.hamamatsu.com>.
38. —. Metal Package PMT with Cooler Photosensors Modules H7422 Series. [Online] <https://www.hamamatsu.com>.
39. **Vladimir V. Ghukasyan, Ahmed A. Heikal.** *Natural Biomarkers for Cellular Metabolism: Biology, Techniques, and Applications*. s.l. : CRC Press, 2014.
40. **Cova, Sergio, Zappa, Franco e Ghioni, Massimo.** Fotorivelatori microelettronici ultrasensibili. *Alta frequenza*. 1997, Vol. 9, 1.
41. **Schaart, Dennis R, et al., et al.** A novel, SiPM-array-based, monolithic scintillator detector for PET. *PHYSICS IN MEDICINE AND BIOLOGY*. 2009, Vol. 54.
42. **Dalla Mora, Alberto, et al., et al.** Fast silicon photomultiplier improves signal harvesting and reduces complexity in time-domain diffuse optics. *Optical Society of America* . 2015.
43. **Martinenghi, E., et al., et al.** Spectrally Resolved Single-Photon Timing of Silicon Photomultipliers for Time-Domain Diffuse Spectroscopy. *Institute of Electrical and Electronics Engineers Photonics Journal*. 2015, Vol. 7, 4.
44. [Online] [http://surface-concept.com/downloads/info/Datasheet\\_TDC.pdf](http://surface-concept.com/downloads/info/Datasheet_TDC.pdf).

45. **Pifferi, Antonio, et al., et al.** Performance assessment of photon migration instruments: the MEDPHOT protocol. *APPLIED OPTICS*. 2005, Vol. 44, 11.
46. **D'Andrea, C., et al., et al.** Time-resolved spectrally constrained method for the quantification of chromophore concentrations and scattering parameters in diffusing media. *Optics Express*. 2006, Vol. 14, 5.
47. **Cubeddu, Rinaldo, et al., et al.** Imaging of optical inhomogeneities in highly diffusive media: Discrimination between scattering and absorption contributions. *Applied Physics Letters*. 1996, Vol. 69, 27.
48. **Wabnitz, Heidrun, et al., et al.** Performance assessment of time-domain optical brain imagers, part 1:basic instrumental performance protocol. *Journal of Biomedical Optics*. 2014, Vol. 19, 8.
49. **Fei, Sun e Lo, Guo-Qiang.** New silicon photomultiplier structure promises more efficient photon detection. *Laser Focus World*. 2014.
50. **Gadella, T.W.J., Jovin, T.M. e Clegg, R.M.** Fluorescence lifetime imaging microscopy (FLIM) —spatial resolution of structures on the nanosecond timescale. *Biophysical Chemistry*. 1993, Vol. 48.
51. **Lakowicz, J.R., et al., et al.** Fluorescence lifetime imaging. *Analytical Biochemistry*. 1992, Vol. 202.