

Scuola di Scienze
Corso di Laurea Magistrale in Fisica

**STUDIO DI UN NUOVO SISTEMA
ANGIOTERMOGRAFICO
TRIDIMENSIONALE PER LA
DIAGNOSTICA DEL TUMORE AL SENO**

Relatore:
Prof. Maria Pia Morigi

Presentata da:
Patrizia Inferrera

Correlatrice:
Dott.ssa Rosa Brancaccio

**Sessione II
Anno Accademico 2013/14**

Indice

<i>Introduzione</i>	<i>1</i>
<i>Capitolo 1. La diagnostica del tumore al seno</i>	<i>2</i>
<i>1.1 Tumore al seno</i>	<i>2</i>
<i>1.2 Angiogenesi tumorale</i>	<i>3</i>
<i>1.3 Lo screening</i>	<i>3</i>
<i>1.4 Tecniche diagnostiche con raggi X</i>	<i>4</i>
<i>1.4.1 Mammografica analogica e digitale</i>	<i>4</i>
<i>1.4.2 Mammografia 3D</i>	<i>7</i>
<i>1.4.3 Contrast Enhanced Digital Mammography (CEDM)</i>	<i>7</i>
<i>1.4.4 Digital Subtraction Angiography (DSA)</i>	<i>9</i>
<i>1.5 Tecniche ecografiche (ultrasuoni)</i>	<i>10</i>
<i>1.5.1 Ecografia</i>	<i>10</i>
<i>1.5.2 Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS)</i>	<i>11</i>
<i>1.5.3 Doppler Ultrasonography</i>	<i>13</i>
<i>1.6 Tecniche di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR)</i>	<i>14</i>
<i>1.6.1 Risonanza Magnetica Mammaria</i>	<i>14</i>
<i>1.6.2 Dynamic Contrast enhanced-Magnetic Resonance Imaging (DCE-MRI)</i>	<i>16</i>
<i>1.6.3 Functional Breast MRI with BOLD Contrast</i>	<i>16</i>
<i>1.7 Tecniche di imaging ottico</i>	<i>17</i>
<i>1.7.1 DOI (Diffuse Optical Imaging) e mammografia ottica</i>	<i>17</i>
<i>1.7.2 Diffuse Optical Breast Imaging (DOBI)</i>	<i>17</i>
<i>1.7.3 Tomografia fotoacustica</i>	<i>19</i>
<i>1.8 Tecniche basate sulla trasmissione del calore</i>	<i>20</i>
<i>1.8.1 Termografia a infrarossi</i>	<i>20</i>

<i>1.8.2 Termografia a contatto</i>	<i>21</i>
<i>1.8.3 Angiotermografia dinamica (DATG)</i>	<i>23</i>
- <i>Apparato strumentale AURA</i>	<i>24</i>
- <i>Applicazione clinica</i>	<i>26</i>
- <i>Sensibilità e specificità</i>	<i>28</i>
- <i>Vantaggi e svantaggi della DATG</i>	<i>28</i>
<i>1.9 Progetto per la caratterizzazione e la tridimensionalità della DATG</i>	<i>30</i>
<i>Capitolo 2. Caratterizzazione delle placche</i>	<i>31</i>
<i>2.1 Strumentazione sperimentale</i>	<i>31</i>
<i>2.2 Calcolo dell'emissività</i>	<i>32</i>
<i>2.3.1 Calcolo dell'emissività della placca con cornice bianca</i>	<i>34</i>
<i>2.3.2 Calcolo emissività della placca con cornice grigia</i>	<i>36</i>
<i>2.3.3 Calcolo dell'emissività della placca con cornice nera</i>	<i>38</i>
<i>2.4 Calibrazione del sensore di temperatura</i>	<i>40</i>
<i>2.5 Conversione delle immagini a colori RGB in tonalità (hue)</i>	<i>41</i>
<i>2.6 Risoluzione delle placche</i>	<i>48</i>
<i>2.6.1 Risoluzione della placca con cornice bianca</i>	<i>49</i>
<i>2.6.2 Risoluzione della placca con cornice grigia</i>	<i>52</i>
<i>2.6.3 Risoluzione della placca con cornice nera</i>	<i>55</i>
<i>2.7 Risposta del sistema</i>	<i>57</i>
<i>Capitolo 3. Studio tridimensionale della DATG</i>	<i>59</i>
<i>3.1 Legge del trasporto del calore di Fourier</i>	<i>59</i>
<i>3.2 Metodo del fattore di forma conduttivo</i>	<i>60</i>
<i>3.3 Schematizzazione della geometria della vascolarizzazione della mammella</i>	<i>60</i>

<i>3.4 Ricostruzione tridimensionale</i>	<i>61</i>
<i>3.5 Prove sperimentali di ricostruzione tridimensionale</i>	<i>64</i>
<i>3.5.1 Ricostruzione tridimensionale del filo del fantoccio</i>	<i>64</i>
<i>3.5.2 Ricostruzione tridimensionale della vascolarizzazione del seno ricavata in vivo</i>	<i>69</i>
<i>Conclusioni</i>	<i>73</i>
<i>Ringraziamenti</i>	<i>76</i>
<i>Bibliografia</i>	<i>78</i>

Abstract

L'angietermografia dinamica (DATG) è una tecnica diagnostica per il tumore al seno non invasiva e che non richiede l'utilizzo di radiazioni ionizzanti. La strumentazione fornisce immagini della vascolarizzazione della mammella rilevate e visualizzate da tre placche a cristalli liquidi. Le immagini, sulla base della teoria della neoangiogenesi, permettono la diagnosi anche precoce del tumore al seno. Inoltre, la DATG può essere impiegata su donne di ogni età e grazie al suo basso costo può coadiuvare le altre tecniche per lo screening.

Scopo di questo lavoro è la caratterizzazione della strumentazione e lo studio di un nuovo metodo di elaborazione che permetta di ottenere immagini tridimensionali della vascolarizzazione.

Poiché le immagini fornite dalla DATG sono a colori, si è elaborato il calcolo della tonalità (*hue*) per poter avere un valore da mettere in relazione con la temperatura misurata con una termocamera. Sperimentalmente è stato osservato che le placche rispondono a temperature comprese rispettivamente tra 31,5°C e 34,0°C per quella con cornice bianca, con una risoluzione tra 0,50 e 1,50 mm, tra 32,5°C e 34,5°C per quella con cornice grigia, che è in grado di rivelare dettagli con dimensioni minime dell'ordine di 0,50-2,50 mm e tra 34,0°C e 36,5°C per quella con cornice nera, con una risoluzione compresa tra 0,25 mm e 1,50 mm.

Le immagini fornite dalla DATG sono bidimensionali. Per ricavare l'informazione sulla profondità di provenienza del segnale, è stata acquisita una sequenza dinamica angietermografica *in vivo*. Per ottenere la distribuzione spaziale della vascolarizzazione in tre dimensioni, sulla base dell'equazione del trasporto del calore di Fourier, è stata ipotizzata una relazione esponenziale tra contributo temporale nella formazione dell'immagine e profondità di provenienza del segnale. I primi test sperimentali mostrano con buona approssimazione che è possibile ottenere immagini tridimensionali angietermografiche, anche se il metodo andrà ulteriormente affinato.

In futuro si cercherà di realizzare dei fantocci dedicati che consentano di verificare ulteriormente la modalità con cui si formano le immagini e di sfruttare i dati raccolti per conoscere con maggior accuratezza la profondità da cui proviene il segnale. Si spera, infine, che questo studio possa contribuire a diffondere la conoscenza di tale metodica e il suo utilizzo sia per la diagnosi che per lo screening del tumore al seno.

Introduzione

Scopo di questa tesi è lo studio di un nuovo sistema per la diagnostica del tumore al seno.

Nel capitolo introduttivo si descrivono i più comuni casi di tumore al seno e il fenomeno dell'angiogenesi che gioca un ruolo fondamentale nella formazione di un tumore. In secondo luogo, si riporta una rassegna di tecniche impiegate per la diagnosi e lo screening del cancro al seno, tra cui le più comunemente impiegate quali mammografia, ecografia e risonanza magnetica mammaria. Infine si introduce la tecnica in esame: l'angiogramma dinamico (DATG). La DATG è un esame che fornisce un'immagine della vascolarizzazione mammaria che, in base alla teoria dell'angiogenesi, permette una diagnosi a basso costo e senza controindicazioni e che può essere applicata a donne di qualsiasi età e con patologie di diversa natura. D'altro canto essa può fornire solo immagini bidimensionali che non danno informazioni sulla profondità dei vasi sanguigni, rendendo talvolta incerta l'interpretazione della vascolarizzazione. Scopo del progetto DATG è quindi lo studio e il miglioramento della tecnica.

Nel secondo capitolo si affronta la caratterizzazione del sistema DATG al fine di conoscerne le proprietà ed i limiti. Poiché le immagini angiogrammatiche sono acquisite a colori, è stato studiato un metodo di elaborazione basato sul calcolo della tonalità (*hue*) per ricavare le informazioni relative alla temperatura rilevata. Sono state quindi misurate sperimentalmente l'emissività dei tre sensori del sistema, la risoluzione e la risposta di ciascuna di essi in funzione della temperatura.

Il terzo capitolo tratta lo studio di un metodo, basato sulla soluzione dell'equazione del trasporto del calore di Fourier, per ricavare l'informazione sulla profondità del segnale elaborando una sequenza dinamica di immagini. Sono qui presentati i primi risultati sperimentali ottenuti analizzando sia un insieme di dati di laboratorio che di immagini riprese in vivo.

Infine si presentano nelle conclusioni l'interpretazione dei risultati sperimentali e le proposte per lo sviluppo futuro del progetto.

Capitolo 1.

La diagnostica del tumore al seno

1.1 Tumore al seno

Il seno della donna (Figura 1) è formato da un insieme di ghiandole e tessuto adiposo ed è posto tra la pelle e la parete del torace, e presenta un insieme di strutture ghiandolari, chiamate lobuli, che insieme formano un lobo. Infine, vi sono i dotti lattiferi (o galattofori) che sono dei piccoli tubicini tramite i quali il latte che proviene dai lobuli arriva al capezzolo.

Come per qualsiasi tumore maligno, anche quello al seno è causato dalla moltiplicazione incontrollata di alcune cellule della ghiandola mammaria che si trasformano in cellule tumorali maligne, che cioè si staccano dal tessuto che le ha generate per invadere i tessuti circostanti e, col tempo, anche gli altri organi del corpo. Il tumore al seno, una volta divenuto invasivo, può evolversi in diverse tipologie, tra cui le più diffuse sono il carcinoma duttale ed il carcinoma lobulare in base alla parte che coinvolge.

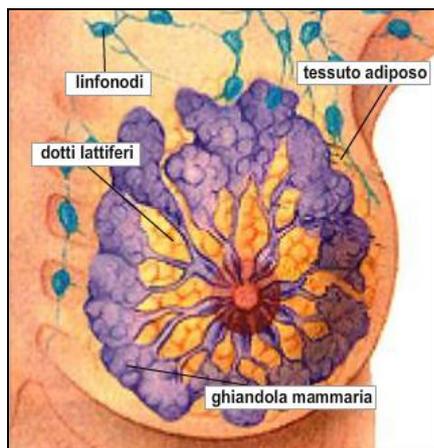


Figura 1. Rappresentazione delle strutture interne della mammella [1].

Il tumore del seno, una volta comparso, si evolve in cinque stadi (stadio 0, stadio I, stadio II, stadio III e stadio IV), in base alla gravità che lo caratterizza.

Tra i diversi fattori di rischio del cancro al seno, di cui alcuni prevenibili, vi sono l'età (più del 75% dei casi di tumore del seno colpisce donne con più di 50 anni), la familiarità (circa il 5-7% delle donne con tumore al seno ha più di un familiare stretto malato, specie nei casi giovanili), la

predisposizione genetica (la mutazione dei geni BRCA1 e BRCA2 (*BR*east *C*ancer) sono la causa di circa il 50% delle forme ereditarie di cancro al seno e all'ovaio), gli ormoni (la formazione del cancro al seno è favorita da un uso eccessivo di estrogeni), l'obesità e il fumo.

1.2 Angiogenesi tumorale

Col termine angiogenesi si indica il processo per cui si sviluppano nuovi vasi dalla crescita e dalla ramificazione di quelli già esistenti. L'angiogenesi del tumore è inoltre strettamente legata ad uno scambio tra regolatori angiogenici positivi e negativi

(rispettivamente, *pro-angiogenici* e *anti-angiogenici*) [2]. Prima che vengano favoriti i fattori pro-angiogenici, i tumori si trovano nella loro fase inattiva in cui i processi angiogenici sono ancora assenti ed il rate di proliferazione delle cellule è bilanciato dal rate apoptico¹ e il tumore può svilupparsi solo di pochi millimetri [3]. Se, però, entrano in gioco i fattori di crescita pro-angiogenici come il fattore di crescita vascolare dell'endotelio, VEGF (*vascular endothelial growth factors*) [40], viene favorita l'angiogenicità con la conseguente proliferazione delle cellule tumorali (Figura 2).

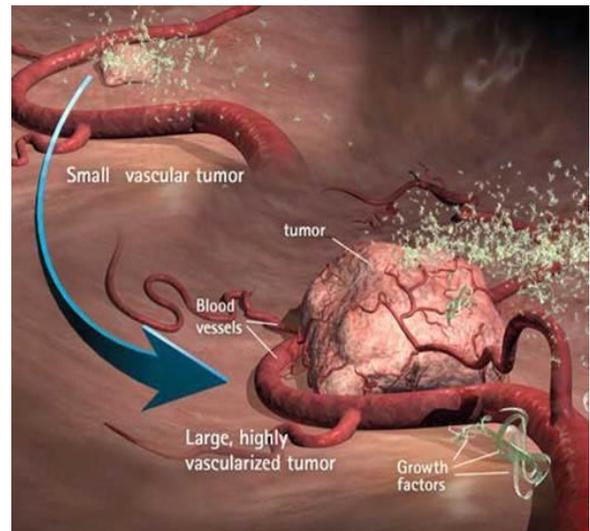


Figura 2. Rappresentazione dell'aumento della massa tumorale a seguito dell'angiogenesi [57].

1.3 Lo screening

Lo scopo dello *screening*, in generale, è quello di identificare le malattie in una fase precoce presenti all'interno di una comunità, permettendo così di giungere ad interventi terapeutici tempestivi al fine di ridurre la mortalità, i disturbi legati alla malattia, i costi sociali ed, eventualmente, gli effetti collaterali dei trattamenti somministrati in una fase avanzata della malattia.

Per evitare di incorrere in risultati errati, è necessario che i test impiegati in un programma di screening abbiano una buona specificità in aggiunta ad una sensibilità accettabile, laddove con il termine sensibilità si fa riferimento alla capacità intrinseca di un test di screening di individuare correttamente in una popolazione di riferimento i soggetti malati, mentre la specificità identifica

¹ **apoptico (processo)** E' un processo di morte cellulare detto *apoptosi* controllato geneticamente che comporta la morte naturale di una cellula per ogni processo di mitosi.

correttamente come negativi i soggetti sani. Di conseguenza, un test sarà tanto più sensibile quanto più bassa risulterà la quota dei falsi negativi (cioè di soggetti malati identificati erroneamente dal test come sani). La sensibilità S è data dal rapporto

$$S = \text{Veri positivi} / \text{Totale malati} = \text{Veri positivi} / (\text{Veri positivi} + \text{Falsi negativi}), \quad (1)$$

mentre la specificità S_p viene calcolata come

$$S_p = \text{Veri negativi} / \text{Totale sani} = \text{Veri negativi} / (\text{Veri negativi} + \text{Falsi positivi}) \quad (2)$$

Spesso, nel valutare l'efficacia di una tecnica, si ricorre anche alla predittività (o capacità predittiva), cioè la probabilità che un soggetto positivo ad un test di screening sia effettivamente malato. La predittività si calcola come la quantità di soggetti veri positivi rispetto al totale dei positivi (veri e falsi positivi), come mostrato nell'equazione (3):

$$VPP = \frac{V_+}{TOT_+} = \frac{V_+}{(V_+ + F_+)} \quad (3)$$

dove V_+ indica i veri positivi e F_+ i falsi positivi.

Ad oggi, vengono impiegate svariate tipologie di esami clinici per poter diagnosticare e prevenire il cancro al seno, il cui funzionamento si basa sui principi fisici dell'interazione radiazione materia (tecniche a raggi X, ad esempio), della propagazione e diffusione delle onde sonore (come l'ecografia) e della diffusione del calore (termografia). Di seguito è riportato un elenco delle tecniche diagnostiche e di screening più comunemente utilizzate.

1.4. Tecniche diagnostiche con raggi X

1.4.1 Mammografia analogica e digitale

Il principio di funzionamento si basa sull'irraggiamento di una mammella alla volta con bassa dose equivalente (di solito circa 0,7 mSv) di raggi X. La dose ghiandolare media ricevuta dalla donna è di circa 2mGy (0,2 rad) per esposizione o 4 mGy (0,4 rad) per un tipico esame con due proiezioni, capace di rivelare la presenza di neoformazioni di piccole dimensioni e di lesioni in fase iniziale. Nell'immagine ottenuta, tali neoformazioni possono apparire come opacità, microcalcificazioni o distorsioni del tessuto ghiandolare mammario. Le dosi per le mammelle maggiormente compresse sono significativamente più basse di quelle per le mammelle

meno compresse. Maggiore è l'intensità di corrente del tubo a raggi X, minore è il tempo di esposizione che occorre per ottenere un adeguato annerimento del radiogramma.

Nella mammografia di screening, vengono realizzate due proiezioni della mammella: una dall'alto verso il basso (cranio-caudale, CC) e una angolata in vista laterale (obliqua medio-laterale, OML). Entrambe le proiezioni vengono acquisite mantenendo la mammella immobile tra il dispositivo di compressione e il rivelatore che la comprimono marcatamente riducendo lo spessore anche per



Figura 3. Esempio di mammografo digitale [41].

separare gli elementi fibrogliandolari, con una forza di compressione pari a circa 11-20 Kg. La compressione è fondamentale perché ha lo scopo di separare il tessuto ghiandolare normale dall'eventuale tumore permettendone una migliore visualizzazione e riduce lo spessore della mammella diminuendo sia il tempo di esposizione, e quindi la probabilità d'immagini sfuocate dovute a movimenti della paziente, sia la dose di radiazione somministrata. La mammografia diagnostica può includere queste ed altre proiezioni, con la possibilità di ingrandire le immagini per l'analisi e l'approfondimento di particolari.

L'esame mammografico si distingue in mammografia analogica, la più comune, per cui un'immagine viene impressa su lastre come quelle delle normali radiografie, e in mammografia digitale, per cui l'immagine, invece di essere rilevata da lastre analogiche, è acquisita da un rivelatore digitale ed è trasmessa direttamente al computer in tempo reale.

Dai sistemi schermo-pellicola utilizzati in mammografia analogica si ottiene un'elevata risoluzione spaziale utilizzando una pellicola a singola emulsione che, una volta sottoposta alle radiazioni, porta alla formazione di un'immagine che risulterà più chiara laddove avrà assorbito una quantità minore di radiazioni in corrispondenza di tessuti più densi.

Analogamente alla mammografia analogica, anche in quella digitale si ottiene il mammogramma sottoponendo la mammella ad una compressione ed irraggiandola con raggi X, si utilizza però un rivelatore digitale che può essere di tipo indiretto o diretto [6]. Con il tipo indiretto si ottengono immagini digitali non in tempo reale tramite la digitalizzazione di immagini analogiche, utilizzando dei fosfori fotostimolabili [5] che convertono ciascun fotone X rilevato in centinaia di fotoni nella banda della luce visibile. Con la digitalizzazione diretta, invece, si ottengono immagini digitali in tempo reale e in due possibili modalità: a conversione indiretta e

diretta di energia. Nel caso della conversione indiretta di energia, i raggi X vengono convertiti in luce visibile che viene poi trasformata in segnale elettrico per poter essere digitalizzato. Mentre, nel caso dei sistemi a conversione diretta di energia, i raggi X sono convertiti in segnale elettrico senza dover effettuare il passaggio intermedio della luce visibile, con una risoluzione spaziale finale piuttosto elevata.

Un vantaggio della mammografia digitale è il cosiddetto *post processing*, cioè la fase in cui, mediante algoritmi di elaborazione, la mammografia digitale viene resa adattabile ad ogni trasformazione digitale dell'immagine, migliorando così la possibilità di interpretazione dell'esame e dunque incrementando l'accuratezza diagnostica.

Il vantaggio dell'imaging analogico è l'elevata risoluzione spaziale che è dell'ordine delle 15-20 lp/mm (paia di linee per millimetro). Purtroppo però si ottiene un'immagine statica che non è elaborabile al computer e che nel caso non sia della giusta qualità (sfocamento, bassa intensità) comporta necessariamente la ripetizione dell'esame. Al contrario nell'imaging digitale, nonostante la risoluzione spaziale sia inferiore a quella dell'imaging analogico (5-10 lp/mm), il post-processing, permette di ottenere un'immagine dinamica di buona qualità, riuscendo a distinguere strutture con spessori e densità molto diversi ed è anche possibile effettuare una compensazione degli errori di esposizione, che contribuisce ad una riduzione della dose assorbita dalla paziente.

Attualmente, la mammografia rappresenta il *gold standard*, ovvero la tecnica di riferimento per la diagnostica del tumore al seno, e viene impiegata come esame di controllo nelle donne di età superiore ai 35 anni e per lo screening nelle donne la cui età supera i 50 anni, con mammella meno densa [4]. Inoltre si tratta di una tecnica molto diffusa grazie alla sua rapida esecuzione, alle elevate sensibilità e specificità (sensibilità compresa tra l'85% e il 90% per mammelle adipose, e prossima al 70% per mammelle dense, con specificità dell'ordine del 90-95%), al rapporto costo/efficacia e alla sua disponibilità sul territorio. Mentre il valore predittivo varia in base alla tipologia di cancro e oscilla per la mammografia analogica tra il 3,3% e il 46% e per quella digitale tra 3,4% e 39% [52].

La mammografia viene impiegata per la diagnosi di tumori e cisti. Statisticamente, infatti, è noto che la mortalità per tumore al seno è ridotta per chi si sottopone all'esame periodicamente, cioè ogni anno per le donne che hanno fattori di rischio, come ad esempio un pregresso tumore al seno o la predisposizione genetica, oppure ogni 2 anni in tutte le donne che non rientrano nella classe a rischio. Inoltre, la mammografia di screening è gratuita.

1.4.2 Mammografia digitale in 3D

Nonostante il successo della mammografia nella rivelazione del cancro al seno iniziale, tale metodica risente del problema della sovrapposizione dei tessuti a causa della sua geometria di acquisizione in due dimensioni. Per superare tale limitazione si può ricorrere all'utilizzo della tomosintesi digitale del seno (DBT, *digital breast tomosynthesis*) che genera immagini sfruttando il principio di funzionamento della tomografia. Con questo esame è possibile acquisire immagini stratificate della mammella dello spessore di 1 mm a diverse angolazioni (Figura 5), analoghe alle immagini mammografiche, che vengono poi elaborate dal software per fornire una ricostruzione e visualizzazione tridimensionale (3D).

La mammografia 3D è una tecnica tomografica che si avvale dell'acquisizione di diverse proiezioni (anche se non su tutto il range angolare di 360°) e, per mezzo di opportuni algoritmi di ricostruzione, permette di ovviare al problema della sovrapposizione dei tessuti che possono nascondere una lesione. Questa tecnica, quindi, fornisce la posizione spaziale in tre dimensioni del tumore [7].

1.4.3 Contrast Enhanced Digital Mammography (CEDM)

Tra i sistemi di angiografia digitale che permettono un imaging ed un'elaborazione molto rapidi, in grado di localizzare i tumori appena sviluppatasi, vi è la mammografia con contrasto (CEDM) che consiste nell'eseguire una mammografia digitale con un'iniezione intravena di un agente di contrasto (in genere iodio) per evidenziare le lesioni maligne al seno [8].

Esistono due tipi di CEDM: la tecnica di sottrazione temporale o dinamica e la tecnica a doppia energia (dual-energy). Nel caso della tecnica di sottrazione temporale, vengono registrate immagini ad alta energia, di cui, una prima dell'iniezione, e le successive a diversi istanti di tempo dopo l'iniezione del mezzo di contrasto, per poi sottrarre l'immagine pre-contrasto a quelle post-contrasto [11]. Le immagini vengono acquisite dopo vari minuti con una leggera compressione del seno (Figura 6) e la dose per immagine impartita alla paziente risulta pari a quella dell'esame mammografico standard.



Figura 5. Sezione mobile di un mammografo 3D [7].

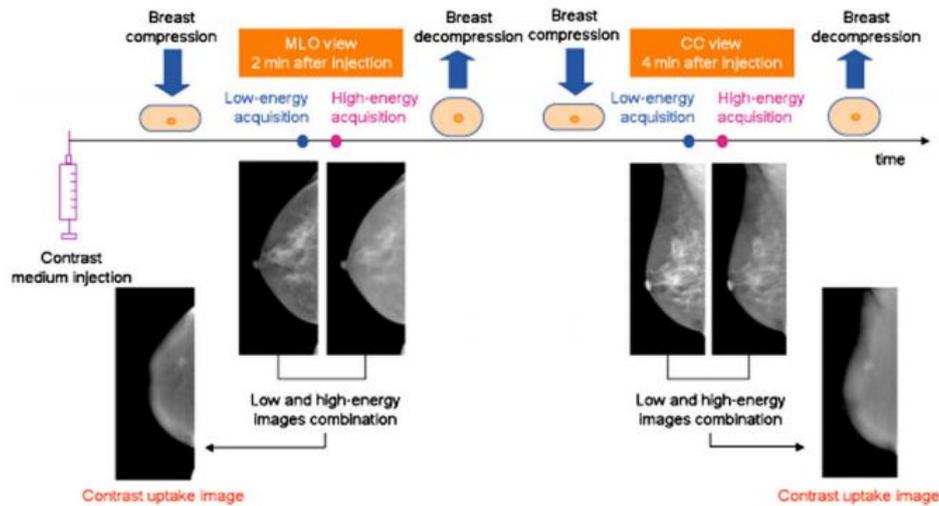


Figura 6. Schema della tecnica di *sottrazione temporale* della CEDM [42].

Un miglioramento della tecnica che supera questa limitazione è rappresentata dalla CEDM a doppia energia, per cui la sottrazione energetica di entrambe le immagini mammografiche viene effettuata dopo l'iniezione del mezzo di contrasto utilizzando le energie medie dei fasci di raggi X, al di sotto e al di sopra del k-edge (33.2 keV) dell'agente di contrasto. Al fine di minimizzare il rumore di fondo dovuto al tessuto del seno, viene applicata una sottrazione pesata delle due immagini che massimizza anche la visibilità del mdc (mezzo di contrasto). A differenza della precedente, questa tecnica ha il fine di evidenziare le aree con maggior assorbimento del mezzo di contrasto [9]. Tuttavia, l'esposizione da radiazione risulta superiore per la dual-energy CEDM piuttosto che per la temporal CEDM, poiché vengono impiegate basse e alte energie. Studi hanno mostrato che la CEDM può essere impiegata in associazione con altre tecniche per la diagnosi del cancro alla mammella nelle donne che hanno un seno denso [10], con una sensibilità di circa l'80%, fornendo anche un'elevata correlazione tra le dimensioni del tumore istologico e l'entità dell'aumento della distribuzione del mezzo di contrasto [11]. La specificità oscilla tra il 60% e il 90% [49].

1.4.4 Digital Subtraction Angiography (DSA)

Le tecniche angiografiche vengono impiegate in esami clinici come la radiografia (specificamente nella tecnica dell'angiografia sottrattiva), la tomografia computerizzata, la risonanza magnetica e l'ecografia. Il principio su cui si basano queste tecniche è l'analisi della distribuzione dei vasi sanguigni e, a seconda del metodo utilizzato, l'esame angiografico risulta più o meno invasivo. In genere, l'esame viene effettuato introducendo un catetere all'interno di un vaso principale (ad esempio una arteria femorale o la carotide) fino a raggiungere il distretto d'interesse, per poi iniettare il mezzo di contrasto direttamente in loco.

La somministrazione del mezzo di contrasto (solitamente di iodio) avviene per via intravenosa, ed è seguita da un set di immagini radiografiche, ecografiche o di risonanza magnetica, del seno ottenute utilizzando un sistema di intensificazione dell'immagine. Si è osservato che la presenza di un arrossamento della cute in corrispondenza dell'eventuale tumore, nonché di una ritenzione prolungata e localizzata del mezzo di contrasto, accompagnata da caratteristiche anormali dei vasi fosse indicativo di lesioni maligne. In genere, l'immagine ottenuta prima dell'iniezione (maschera) viene sottratta alle immagini in cui invece il mezzo di contrasto è presente, al fine di rimuovere il disturbo dovuto alle strutture statiche. Questa tecnica viene denominata angiografia sottrattiva o DSA (*Digital Subtraction Angiography*).

Dopo la digitalizzazione, i dati dell'immagine sono trasformati logaritmicamente, cioè i valori dei pixel sono stati sostituiti dai rispettivi logaritmi, al fine di rimuovere le strutture anatomiche stazionarie durante la sottrazione delle immagini. Tuttavia, la maggior parte dei sistemi di imaging attualmente impiegati eseguono la trasformazione logaritmica direttamente al livello del convertitore analogico/digitale per mezzo di una tabella di look-up digitale che sostituisce semplicemente un valore digitale con un nuovo valore proporzionale al suo logaritmo.

Tuttavia, non è di uso comune sottoporre le pazienti a questa tipologia di esame a causa della eccessiva dose di radiazioni e dei tempi di esposizione troppo lunghi.

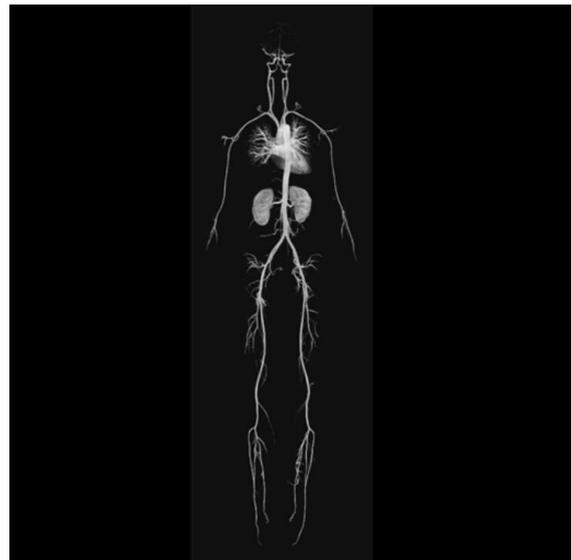


Figura 7. Immagine digitale di un'angiografia total body. [43].

1.5 Tecniche ecografiche (ultrasuoni)

1.5.1 Ecografia

Attualmente, l'ecografia viene utilizzata routinariamente in ambito radiologico, chirurgico e ostetrico. Essa si basa sul fenomeno fisico dell'eco degli ultrasuoni, generati da cristalli piezoelettrici sottoposti ad un impulso elettrico, e dell'analisi del tempo che impiegano le onde per andare e tornare, una volta emesse dalla sonda [12] sottoforma di fascio d'onde tridimensionale (Figura 8). Di queste onde si studiano tre componenti: assiale (Y , profondità), laterale (X , larghezza) e altezza (Z , spessore).

Il trasduttore (la sonda) emette e rileva le onde sonore che rimbalzano indietro per essere digitalizzate da un computer per creare l'immagine di output. Gli esami con ultrasuoni non sono invasivi per la paziente perché non fanno uso di radiazioni ionizzanti (come i raggi X impiegati nelle radiografie). Poiché le immagini a ultrasuoni vengono registrate in tempo reale, esse possono mostrare gli organi interni del corpo, così come il flusso del sangue attraverso i vasi sanguigni [13]. Inoltre, dato che le onde sonore si propagano meglio e più velocemente nei mezzi densi, i tessuti molli, che sono costituiti per la massima parte da acqua, si prestano in maniera particolare all'applicazione medica.

L'energia posseduta dall'ultrasuono si attenua progressivamente in intensità man mano che attraversa le varie strutture tissutali, principalmente per riflessione, trasmissione e rifrazione.

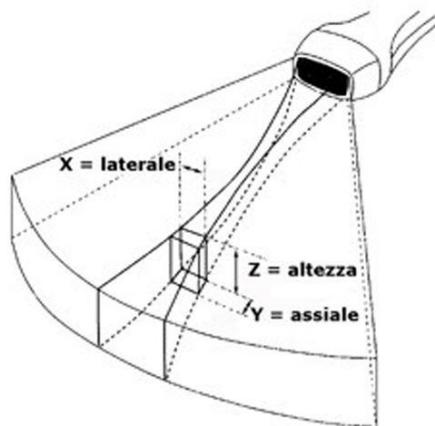


Figura 8. Rappresentazione schematica delle tre dimensioni cartesiane del fascio di ultrasuoni emesso dalla sonda [44].

Nel caso specifico dell'esame alla mammella, questo viene condotto facendo scorrere un piccolo trasduttore sul seno della paziente, mostrando sul monitor le alterazioni della struttura mammaria. L'ecografia è un esame da preferire nelle donne giovani, che hanno un seno molto compatto, ed è perciò raccomandata come primo test alle donne con età inferiore ai 35 anni, nonché alle donne in

gravidanza e in allattamento [12]. Gli ultrasuoni possono offrire uno strumento di screening anche per le pazienti che con un alto fattore di rischio (e che quindi devono ripetere frequentemente i controlli) o non sono in grado di sottoporsi ad un esame MRI, oppure per coloro che per una qualche ragione non possono essere esposte a radiazioni ionizzanti, come è necessario con la mammografia. Quando un esame ad ultrasuoni rivela una anomalia sospetta al seno, un medico può scegliere di effettuare una biopsia guidata ad ultrasuoni le cui immagini sono fornite in tempo reale, vantaggio che permette al chirurgo di effettuare la biopsia mentre osserva le immagini sul monitor. Inoltre, l'ecografia è caratterizzata dalla sensibilità che può raggiungere il 90% con una specificità del 98% ed un valore predittivo del 68% e può aiutare a scoprire e classificare una lesione al seno nei casi in cui la sola mammografia non può dare una diagnosi certa.

Un esame a ultrasuoni viene in genere impiegato prima della biopsia al fine di pianificare la procedura e di determinare se è possibile o meno ricorrervi. Tuttavia, gli ultrasuoni non vengono solitamente impiegati per lo screening perché forniscono numerosi falsi positivi.

1.5.2 Contrast enhanced ultrasound (CEUS)

La tecnica del CEUS si basa sulle diverse modalità con cui le onde sonore vengono riflesse dalle interfacce dei diversi strati che incontrano che possono essere rappresentati dalle superfici di una piccola bolla d'aria o di una struttura più complessa. Gli agenti di contrasto per ultrasuoni contengono delle microbolle ed offrono un'elevata sensibilità (cioè l'abilità di "vedere" una singola bolla) con un livello di sicurezza adeguato almeno quanto gli agenti di contrasto convenzionali; infatti, possono essere impiegati per aumentare i segnali vascolari nell'ultrasonografia [14] poiché le microbolle (con diametro dell'ordine del micron) inserite sono in grado di produrre un aumento dell'intensità dell'eco del segnale relativo al flusso sanguigno. Tali mezzi di contrasto vengono somministrati per endovena e le microbolle contenute sono caratterizzate da un alto grado di ecogenicità, che è la proprietà di riflettere segnali eco, soprattutto in riferimento a strutture organiche nelle indagini ecografiche ed ecotomografiche, in cui la differenza tra il gas nelle microbolle e le pareti del tessuto molle del corpo è molto grande. In tal modo, l'imaging per ultrasuoni aumenta la retrodiffusione degli ultrasuoni, o la riflessione delle onde US, fino a produrre un unico sonogramma con un aumento del contrasto dovuto all'elevata ecogenicità.

Esistono più varietà di agenti di contrasto con microbolle che differiscono l'una dall'altra sia nella composizione della struttura esterna (*shell*) che nella composizione della struttura interna (*core*) della microbolla gassosa. La selezione del materiale della *shell* è fondamentale al fine di minimizzare la possibilità che le microbolle siano attaccate dal sistema immunitario. Nel caso

invece del *core* è d'importanza primaria la scelta di un gas che abbia una adeguata ecogenicità ed una buona capacità di far sì che le microbolle rimangano intatte il più a lungo possibile (ad esempio, i gas pesanti sono meno solubili nell'acqua cosicché hanno minore probabilità di fuoriuscire dalle microbolle portandole alla dissoluzione e perdurano più a lungo nella circolazione).

Durante l'analisi delle immagini, è possibile distinguere le microbolle dai globuli rossi perché hanno diametri differenti. Le microbolle sono infatti abbastanza uniformi, con un diametro che va da 1 μm a 4 μm (Figura 9). Questo le rende più piccole dei globuli rossi (7,5 μm), il che permette loro di fluire facilmente attraverso la circolazione, così come per la microcircolazione.

Oltre a rappresentare un metodo minimamente invasivo, la dissoluzione delle microbolle del CEUS per effetto degli ultrasuoni nel piano dell'immagine permette una quantificazione assoluta della perfusione del tessuto [16].

Si è osservato che l'utilizzo di questo tipo di mezzo di contrasto migliora talmente la differenziazione visiva fra lesioni benigne e maligne da innalzare la sensibilità e la specificità fino al 95 % [15].

Dobbiamo però ricordare che il CEUS non può fornire informazioni sull'intero seno, come invece è possibile fare la maggior parte delle altre tecniche diagnostiche. Un altro svantaggio alquanto importante nello studio del seno tramite CEUS riguarda il fatto che la valutazione della mammella è soggettiva e non tutti gli studi hanno mostrato correlazioni significative tra l'immagine ottenuta e la densità istologica dei microvasi. Addirittura, la maggiore specificità di questa tecnica talvolta si ottiene a scapito di una bassa sensibilità [17]. Infine,

come accade per la DCE-MRI, l'aumento del contrasto può anche essere osservato in alcune lesioni benigne, come le infiammazioni ipervascolarizzate ed i fibromi, che possono essere erroneamente confuse per maligne, così come un carcinoma ipervascolarizzato di basso grado può essere diagnosticato come benigno [15].

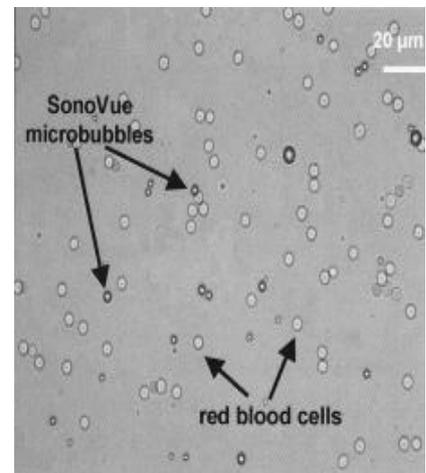


Figura 9. Confronto delle microbolle con i globuli rossi [45].

1.5.3 Doppler Ultrasonography

L'ecografia Doppler, come l'ecografia tradizionale, è una tecnica diagnostica basata sull'impiego degli ultrasuoni. Rispetto all'ecografia, però, possiede la particolarità di sfruttare il fenomeno fisico dell'effetto Doppler, consistente nel fatto che se si dirige verso un corpo in movimento un'onda sonora, dunque un impulso meccanico, questa

rimbalza, generando un suono diverso (il cosiddetto suono riflesso) le cui caratteristiche dipendono dalla velocità del corpo in movimento. Ciò rende l'eco-color-doppler una tecnica particolarmente usata per la caratterizzazione di strutture, come i vasi sanguigni, in cui sono presenti dei liquidi circolanti. Si tratta di una tecnica sicura, rapida, non invasiva e sufficientemente precisa che, nel caso specifico dell'esame al seno, consente di lavorare con una elevata accuratezza, onde evidenziare la presenza di cisti, infiammazioni o tumori.

Le informazioni dell'esame Doppler vengono visualizzate graficamente con la metodica *Doppler spettrale* (Figura 10), che descrive la variazione della velocità del flusso sanguigno, o come un'immagine a colori, utilizzando il *color Doppler (Doppler direzionale)* (Figura 11) o il *Power Doppler (Doppler non direzionale)*.

I metodi di acquisizione si distinguono inoltre in due sistemi fondamentali: la *sonografia Doppler ad onda continua*, in cui il trasduttore emette un'oscillazione costante che permette uno studio morfodinamico (cioè della morfologia e del movimento) dei flussi sanguigni?, e *Doppler a ultrasuoni*, in cui l'emissione è fasica, in relazione alla funzione alternata trasmettitore/ricevitore di un unico cristallo. Quest'ultimo sistema consente di ottenere informazioni anche sulla distanza tra la superficie riflettente ed il trasduttore. Generalmente, le arterie vengono rappresentate in rosso e le vene in blu (Figura 11).

Infine, per aumentare la capacità diagnostica dell'eco Doppler si può utilizzare un mezzo di contrasto iniettato direttamente in vena. La sensibilità media dell'eco-color-Doppler è stata stimata dell'ordine dell'85%, con una sensibilità media

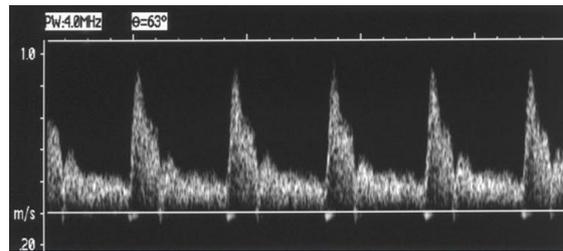


Figura 10. Rappresentazione grafica del Doppler Spettrale [46].

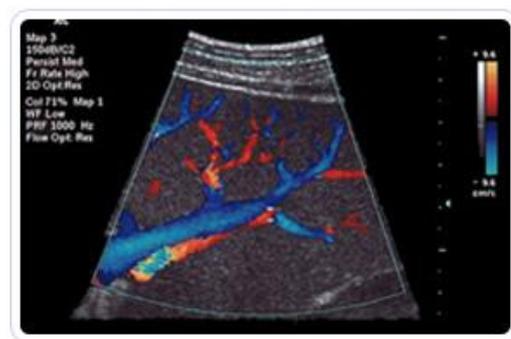


Figura 11. Eco-color Doppler vascolare [47].

prossima all'88%. Entrambe le percentuali aumentano (superando anche il 90%) o diminuiscono in base alla parte sottoposta all'esame.

1.6 Tecniche di Risonanza Magnetica Nucleare (NMR)

Le tecniche di risonanza magnetica nucleare si basano sull'azione di un campo magnetico \vec{B}_0 a radiofrequenza (RF) che determina l'orientamento del vettore degli spin dei nuclei atomici (solo atomi con spin diverso da zero) nella direzione di \vec{B}_0 . Il ritorno allo stato di equilibrio è caratterizzato dai tempi di rilassamento: T1, ovvero "tempo di rilassamento spin-reticolo", e T2, "tempo di rilassamento spin-spin". I tempi di rilassamento indicano la velocità di cessione dell'energia in eccesso al reticolo da parte dei nuclei risonanti al termine dell'impulso di RF e si possono misurare perché l'energia in eccesso viene emessa sotto forma di onde elettromagnetiche. Se si pone una bobina accanto al sistema sarà possibile misurare T1 e T2 misurando la corrente indotta in essa. L'andamento temporale della perdita di coerenza di fase del sistema al cessare dell'impulso fornisce informazioni sul tipo di materiale e la sua concentrazione nel campione analizzato. Se il campo magnetico \vec{B}_0 applicato non è omogeneo si otterranno informazioni spaziali sulla distribuzione e concentrazione dei materiali.

1.6.1 Risonanza Magnetica Mammaria

La Risonanza Magnetica mammaria (mammo-RM, MRM) è in grado di fornire informazioni di tipo morfologico e funzionale sul tessuto mammario normale e patologico. Come una normale risonanza magnetica, sfrutta l'effetto di intensi campi magnetici che non comportano alcun rischio per la salute. L'utilizzo di gradienti performanti associato ai campi magnetici viene impiegato per ottenere le caratteristiche di risoluzione spaziale, temporale e di contrasto richieste. Inoltre, all'aumentare del campo magnetico applicato \vec{B}_0 aumenta il rapporto segnale/rumore SNR, ottenendo così immagini con una più elevata risoluzione spaziale in un intervallo di acquisizione relativamente breve se si utilizzano le idonee sequenze d'impulso. Inoltre, il campo magnetico deve essere omogeneo poiché con un'intensità di campo da bassa a intermedia (cioè <1 T) la mancanza di omogeneità impedisce la soppressione del tessuto adiposo rischiando di compromettere la qualità d'immagine.



Figura 12. Bobine di superficie [48].

L'apparecchiatura si presenta come un lungo tubo, di circa 2 metri, nel quale la paziente viene fatta coricare in posizione prona, con il seno appoggiato in due grosse coppe, dette bobine (Figura 12) e con le mani sotto il capo o lungo i fianchi, in posizione confortevole, come mostrato in figura 13. Durante l'esame viene effettuata una lieve compressione in senso latero-mediale al fine di ridurre sia la quantità di tessuto da studiare in quella direzione di scansione che il tempo di acquisizione.

L'esame è assolutamente indolore, l'unico fastidio è dato dal rumore, a cui si può ovviare con l'uso di tappi per le orecchie. Durante l'indagine vengono studiate contemporaneamente entrambe le mammelle, in tutto il loro volume, ed è necessaria l'iniezione di un mezzo di contrasto paramagnetico (gadolinio) in una vena del braccio per poter



Figura 13. Posizione che deve essere assunta dalla paziente [49].

distinguere le aree malate da quelle sane e i tumori maligni da quelli benigni. Questo mezzo di contrasto è ben diverso da quelli impiegati per la TAC o l'urografia in quanto non deve reagire a radiazioni ionizzanti (raggi X), ma ad un campo magnetico, e solitamente non crea alcun problema.

Per poter definire se la lesione è benigna o maligna, è necessario conoscere la velocità, la durata e l'intensità con cui si visualizza la lesione dato che le neoformazioni maligne della mammella mostrano un'impregnazione del mezzo di contrasto più rapida e intensa rispetto alle alterazioni benigne e soprattutto al tessuto fibrogliandolare normale. È per questo che si acquisiscono almeno sei immagini consecutive in fasi differenti dell'esame (la MRM viene anche indicata con il termine "MRM dinamica").

Caratteristica principale di questa tecnica è l'elevata sensibilità (92,7%), una discreta specificità (79,6%) [39] soprattutto nei casi in cui mammografia ed ecografia danno un risultato dubbio (funzione "tipizzante") ed un valore predittivo dell'89% [56]. ma rimane comunque un esame complementare a tali metodiche, spesso in grado di risolverne i limiti, senza però poterli sostituire perché molto più costosa e di conseguenza meno disponibile.

Solo nel caso di processi infiammatori o elevata concentrazione ormonale (dovuta al ciclo mestruale o all'assunzione di farmaci) si possono avere falsi positivi. Al fine di minimizzare questi casi basta programmare l'esame in base al ciclo mestruale o alla situazione della paziente.

1.6.2 Dynamic Contrast enhanced-Magnetic Resonance Imaging (DCE-MRI)

La tecnica Dynamic Contrast enhanced-Magnetic Resonance Imaging non fa uso di radiazioni ionizzanti e rappresenta la modalità di imaging meglio adoperabile per visualizzare l'aumento della vascolarizzazione del tumore e viene spesso utilizzata come metodo supplementare alla mammografia a raggi X e all'ecografia, specie per lo screening delle donne giovani con un elevato rischio di contrarre il cancro al seno [20]. Durante l'esame, viene iniettato nel flusso sanguigno un agente di contrasto che accorcia la durata del tempo di recupero T1. Tale agente di contrasto è in genere caratterizzato da un basso peso molecolare - l'elemento più utilizzato è il gadolinio (Gd³⁺), uno ione paramagnetico che è in grado di diminuire non solo T1, ma anche T2 - e può passare attraverso i vasi sanguigni generati dal tumore.

Gli studi riportati in letteratura rilevano per questa tecnica un'elevata accuratezza diagnostica, con una specificità del 91% ed una sensibilità prossima al 100% [19]. La sensibilità praticamente assoluta della DCE-MRI prova che l'imaging della vascolarizzazione del tumore è in grado di fornire informazioni sulle caratteristiche maligne, sulla morfologia del tumore e sulla cinetica del mezzo contrasto. Tuttavia, la DCE-MRI identifica spesso il fibroadenoma (tumore benigno) come una forma cancerosa, portando a falsi positivi, né può essere impiegata per tutte le pazienti come, ad esempio, quelle calustrofobiche o incinte. Inoltre, la specificità diminuisce molto in presenza di alcune tipologia di cancro, come il ductal carcinoma *in situ* (DCIS).

Al giorno d'oggi, l'imaging con risonanza magnetica con contrasto dinamico avanzato rappresenta uno dei metodi più diffusi in ambito clinico.

1.6.3 Functional Breast MRI with BOLD Contrast

La tecnica dell'MRI funzionale (fMRI, *functional magnetic resonance imaging*) rivela la variazione emodinamica in un tessuto dovuta agli scambi di ossigenazione utilizzando un metodo chiamato contrasto BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent*). Solitamente, questa tecnica viene impiegata per studiare il cervello, ma consente di valutare anche il metabolismo tumorale e l'angiogenesi della mammella sulla base delle variazioni dell'ossigenazione che possono dare informazioni sul tipo di tumore, valutare l'effetto delle terapie anti-angiogeniche, tenendone sotto controllo la risposta, e monitorare le cure chemioterapiche.

L'impiego della metodica del contrasto BOLD nell'MRI per il tumore al seno rappresenta una tecnica non invasiva che fornisce un imaging migliore rispetto a quello tradizionale con risonanza magnetica, in grado di fornire anche un incremento della specificità dell'MRI nella rivelazione dei tumori [21].

1.7 Tecniche di imaging ottico

1.7.1 DOI (Diffuse Optical Imaging) e mammografia ottica

L'imaging ottico per diffusione prevede l'utilizzo della luce del vicino infrarosso (lunghezza d'onda compresa tra 0,75 e 1,4 μm) che, dopo aver attraversato diversi centimetri del tessuto mammario, all'interno del quale viene sia assorbita che scatterata, viene rilevata fornendo una identificazione della lesione in base alle anomalie funzionali. Questa tecnica rappresenta un innovativo strumento diagnostico complementare alla mammografia. La risoluzione spettroscopica della composizione dell'emoglobina nei tessuti e la saturazione dell'ossigeno possono incrementare l'identificazione delle lesioni al seno. Si è inoltre osservato che la concentrazione di emoglobina nelle lesioni al seno è circa il doppio di quella presente nei tessuti sani.

Quando il DOI viene applicato allo studio dei tessuti della mammella, è indicato come mammografia ottica (OM) e può fornire immagini in 2D o 3D. A differenza della mammografia, la OM è una tecnica non ionizzante, a basso costo e non invasiva che richiede solo una lieve compressione del seno, se non addirittura nessuna. Inoltre, ha la capacità di delineare le proprietà fisiologiche dei tessuti come la concentrazione di emoglobina (HbT), la saturazione di ossigeno nel sangue (SO_2) e il contenuto di acqua e lipidi, offrendo così la rivelazione delle lesioni basata non solo sui cambiamenti strutturali, ma anche sulle anomalie funzionali [22].

1.7.2 Dynamic Optical Breast Imaging (DOBI)

Il dispositivo impiegato per l'applicazione di tale tecnica prende il nome di *DOBI ComfortScan* (Figura 14), è costituito da tre componenti principali: il braccio a C, il controller e il computer. Il funzionamento del DOBI si basa sull'analisi della trasmissione della luce rossa attraverso il tessuto mammario. L'onda rossa rilevata permette la memorizzazione delle risposte transitorie per via della compressione che induce dei cambiamenti nel volume del flusso sanguigno. Questo stimolo della pressione si osserva nel comportamento dinamico delle proprietà ottiche del tessuto creando profili dinamici diversi nelle regioni con vascolarizzazione anormale, paragonati a quelli normali dei tessuti sani.



Figura 14. DOBI ComfortScan device [14].

Durante l'esame, la paziente si trova di fronte alla macchina col seno posizionato all'interno del pannello del braccio a C, in modo che i LED del sistema illuminino il seno e la luce (con lunghezza d'onda di 640 nm) è trasmessa attraverso i tessuti e misurata dall'altro lato da una camera CCD (*charge coupled device*). Nella finestra di acquisizione del software, l'operatore può evidenziare la regione di interesse (ROI, *region of interest*) posizionando due indicatori, uno in corrispondenza del capezzolo e uno dove si suppone si trovi la lesione. Infine, una sottile membrana trasparente di silicone è posta a contatto con la superficie superiore della mammella e, venendo gonfiata, esercita una leggera pressione su di essa.

I cambiamenti locali della perfusione del sangue e la saturazione dell'ossigeno vengono tradotti in variazioni del contrasto dell'immagine. Una regione in cui si osservino delle variazioni locali del passaggio del sangue è indice di una qualche patologia e quindi viene definita regione di interesse patologico (API, *area of pathologic interest*). Tipico della API è la presenza contemporanea di un incremento del volume del sangue e una diminuzione dell'ossigeno, con una conseguente riduzione dell'intensità luminosa nell'immagine. Questa regione caratteristica appare come un'area con diminuzione dell'intensità del contrasto dei colori, che così variano dal blu scuro al viola, man mano che l'intensità diminuisce. Il software seleziona automaticamente il contrasto migliore per l'analisi delle immagini, variando la scala dei colori usata sull'asse delle ascisse [24].

Nel caso della diagnosi del cancro al seno nelle donne giovani, il DOBI è caratterizzato da una sensibilità dell'80% ed una specificità dell'87%, con una capacità predittiva del 92,2% [23]. Vi sono, tuttavia, molte limitazioni che è necessario tenere in considerazione. Infatti, il DOBI permette di effettuare le acquisizioni solo in proiezione cranio-caudale, il che può inficiare la rivelazione dei tumori localizzati nel pilastro ascellare e/o nel solco mammario. Inoltre, questo sistema non dovrebbe essere applicato nelle donne con seno denso e molto piccolo perché rischierebbe di non risultare abbastanza illuminato, così come nelle donne sottoposte in precedenza ad un'operazione e/o a biopsia, a causa dell'edema residuo. Altri fattori limitanti sono rappresentati dalle condizioni infiammatorie del seno, dai tatuaggi alla pelle del seno, alle fasi del ciclo mestruale e dalla vasculite.

1.7.3 Tomografia fotoacustica

Tale metodica si basa sul fenomeno fotoacustico che consiste nella trasformazione delle variazioni di energia luminosa in onde sonore. Si invia un laser ad impulsi, non ionizzante, sui tessuti biologici, la cui energia viene assorbita e convertita in calore, portando ad una momentanea espansione termoelastica, con una conseguente emissione ultrasonica a banda larga (ad esempio dell'ordine dei mega Hertz). Le onde ultrasoniche prodotte sono poi rivelate da trasduttori ultrasonici e il segnale acquisito utilizzato per la ricostruzione dell'immagine. È noto, infatti, che l'assorbimento ottico è strettamente legato alle proprietà fisiologiche, come la concentrazione di emoglobina e saturazione dell'ossigeno. Come risultato finale, l'intensità dell'emissione ultrasonica (cioè il segnale fotoacustico), che è proporzionale al rilascio locale di energia, misura il contrasto ottico specifico fisiologico, fornendo immagini in 2D o 3D delle aree di interesse [28]. La fotoacustica prende anche il nome di mammografia ottica e rappresenta, sostanzialmente, la fusione delle tecniche di imaging ottico e acustico. Questa metodica, analogamente al DOI, si basa sulla capacità dell'emoglobina (che alimenta i tumori) di assorbire la lunghezza d'onda del rosso e dell'infrarosso in un impulso di un bilionesimo di secondo. Lo studio della luce scatterata e assorbita permette di differenziare la zona malata da quella sana fornendo informazioni legate alla diversa attività sanguigna.

Lo strumento che sfrutta il fenomeno fotoacustico prende il nome di mammoscopio fotoacustico (PAM, *Photoacoustic MAmmoscope*) ed è stato ideato nel 2007 presso l'Università di Twente, del Medisch Spectrum Twente Hospital di Oldenzaal, nei Paesi Bassi, e ha la capacità di distinguere i tumori benigni da quelli maligni [26].

Il mammoscopio fotoacustico utilizza un laser con lunghezza d'onda di 1,064 nm per scansionare il seno: dal momento che i tessuti maligni assorbono la luce maggiormente rispetto alle aree sane, la temperatura nella zona malata aumenta leggermente, portando alla espansione termoelastica che viene poi registrata dal rivelatore a ultrasuoni con lo scopo di essere elaborata dal sistema per la ricostruzione delle immagini. Il dispositivo (Figura 15) è incorporato in un letto d'ospedale, su cui la paziente viene fatta sdraiare in posizione prona, col seno leggermente compresso tra una lastra di vetro ed il rivelatore di ultrasuoni [27].



Figura 15. PAM incorporato nel letto d'ospedale [53].

1.8 Tecniche basate sulla trasmissione del calore

1.8.1 Termografia a infrarossi

La termografia viene effettuata con una telecamera a infrarossi che, collegata al monitor di un computer, fornisce le immagini della parte del corpo che si vuole analizzare, mostrando le parti più fredde con colori freddi (blu-verde) e quelle calde con il rosso, l'arancione, il giallo e il bianco, man mano che aumenta la temperatura (Figure 16 e 17). Ogni colore corrisponde a un definito intervallo di temperatura. Un software elabora queste informazioni identificando zone con anomalie termiche che presumibilmente indicano zone sospette. Nel caso dell'esame al seno, la termografia si rivela utile per la comparazione tra le due mammelle e lo studio del gradiente termico [31].

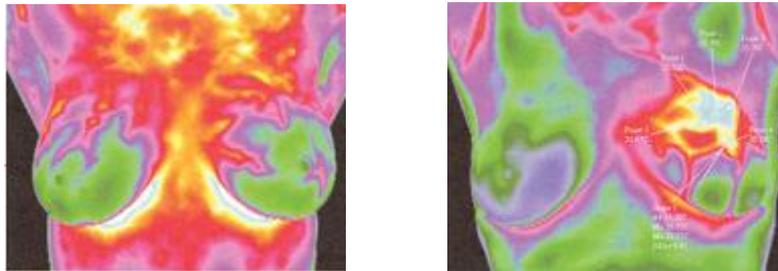


Figura 16. Termografia al seno effettuata con telecamera a infrarossi con esito negativo. Entrambi i seni sono sani.

Figura 17. Termografia al seno effettuata con telecamera a infrarossi con esito positivo. Il seno sinistro presenta un tumore maligno (macchia bianca). [38]

Il funzionamento della termografia si basa sull'emissione della radiazione infrarossa che viene emessa da tutti gli oggetti che abbiano una temperatura superiore allo zero assoluto. Il corpo umano irradia, per esempio, energia termica dalla superficie della pelle, con un'emissività della pelle pari a 0,98, che è vicina a quella di un perfetto corpo nero. Pertanto, la temperatura può essere determinata misurando la radiazione infrarossa emessa dalla pelle con lunghezza d'onda compresa tra 0,8 e 1,0 micron. L'immagine ottenuta in output sul monitor è una mappa visiva (o termogramma) della distribuzione delle temperature sulla superficie della pelle [30].

La termografia a infrarossi del seno è una procedura non invasiva che non comporta la compressione del tessuto del seno o l'esposizione a radiazioni, che fonda il suo funzionamento su una valutazione delle caratteristiche fisiologiche, fornendo informazioni del tessuto mammario.

Tuttavia, la termografia, registrando un'immagine termica della pelle, non è in grado di localizzare in profondità una lesione e in generale pur indicando la presenza di anomalie, non permette dunque di definire un'area specifica che possa essere sottoposta a biopsia. Inoltre le aree con bassa attività metabolica o che appaiono fredde comportano una notevole difficoltà

nell'identificazione dei tumori. Di conseguenza, avendo una sensibilità compresa tra l'84% e il 95%, con un tasso di falsi positivi (specificità) tra il 6% e il 13%, non viene più impiegata per la diagnostica della mammella da diverso tempo.

1.8.2 Termografia a contatto

Col passare del tempo, la termografia a infrarossi si è evoluta in termografia a contatto che richiede l'utilizzo di particolari placche a cristalli liquidi. Le placche sono composte da cristalli liquidi colesterici che hanno sia le caratteristiche fisiche e ottiche dello stato cristallino (anisotropia alla luce, birifrangenza) che quelle meccaniche dello stato liquido (fluidità, tensione superficiale). Quando la placca è posta a contatto con una superficie calda (al di sopra della temperatura ambiente) si osservano delle variazioni cromatiche, strettamente correlate alla temperatura, dovute a variazioni fisio-molecolari dei cristalli liquidi. Questa tecnica trova impiego in campo medico per la diagnostica delle malattie degenerative vascolari, infiammatorie e neoplastiche, che hanno la caratteristica di dar luogo a variazioni della temperatura cutanea.

La tecnologia di produzione che permette la conglomerazione dei cristalli liquidi in microsferule (con un diametro di 20 micron) e in microcapsule, e la successiva disposizione in placche, ha fatto sì che queste acquistassero notevole maneggevolezza e standardizzabilità nell'applicazione della diagnostica della mammella. Infatti, la ghiandola mammaria, per la sua topografia superficiale, ben si presta all'esplorazione termografica dei suoi aspetti degenerativi e proliferativi.

Tale metodica è stata particolarmente usata in Francia dal Dott. Tricoire che ha analizzato ampie casistiche definendo bene i limiti tra normalità e patologia e significatività diagnostica della termografia a contatto [32]. Nell'applicazione pratica è necessario prendere come punto di riferimento una zona con caratteristiche cliniche rilevanti da centrare nella placca; se tutta la circolazione è visibile l'indagine si può considerare conclusa, altrimenti è necessario effettuare altri controlli a diversi angoli di incidenza. La stessa manovra va ripetuta sul seno contro-laterale (cioè dal lato opposto) nelle medesime proiezioni di rilievo.

In questo caso la temperatura ambiente riveste grande importanza in funzione del contrasto termico, e il gradiente di temperatura fra la zona neoplastica e la ghiandola normale si rivela fondamentale per la differenziazione diagnostica. Ecco perché è preferibile lavorare ad una temperatura ambiente di 21°C, che permette di aumentare il contrasto termico. Tale temperatura però può comportare riflessi di vasocostrizione, specialmente con il prolungarsi dell'esame, il che può inficiare l'esito dell'esame a causa della sensibilità critica della placca che a temperatura ambiente non rileva alcun segnale.

L'operatore trae le sue conclusioni in seguito all'osservazione delle immagini durante l'esame anche in relazione ad immagini archiviate e registrate fotograficamente in occasione di esami precedenti. In quest'ultimo caso, è fondamentale che l'angolo di incidenza fotografico rimanga costante; a questo scopo è stato costruito un supporto rigido per effettuare le acquisizioni sempre alle stesse distanze e ortogonalità di rilevamento.

La formulazione diagnostica viene effettuata in un secondo tempo correlando le informazioni ottenute con le altre indagini effettuate.

Nel caso in cui si stia esaminando un seno sano, i suoi limiti, cioè i punti di inserzione sulla parete toracica, sono più caldi della restante mammella. La parete toracica risulta un po' meno calda, mentre i peduncoli² vascolari interni ed esterni molto caldi. Il peduncolo esterno (con diametro di 1 cm) è il più importante poiché prolunga il calore ascellare del seno e rende difficile l'esplorazione di questa zona della ghiandola, a meno che non sia sede di un processo freddo (lipoma, cioè un tumore benigno, costituito da tessuto adiposo) che al contrario mostra un buon contrasto.

Le immagini vascolari risultano come piccoli tratti, generalmente ricurvi, oppure come strie lineari confluenti nel peduncolo vascolare. In altri casi tale vascolarizzazione lineare assume una forma reticolata. Mentre, nel caso in cui vi siano delle anomalie, esse appaiono come zone calde corrispondenti alle lesioni maligne. Tali informazioni però vanno analizzate con molta attenzione sia in riferimento alla massa palpabile, sia al parenchima circostante, sia alle caratteristiche morfologiche dei vasi riprodotti. Infatti se il tumore ha la stessa temperatura del restante parenchima o della zona di seno contro-laterale, può essere più freddo del resto del seno, il che può essere indice di un tumore benigno, oppure tale massa può essere più calda e l'aumento della temperatura può risultare massivo, uniforme e a macchia. Quest'ultima può essere dissociata in elementi più piccoli, di taglia variabile e disposti in modo disordinato. Infine, è possibile osservare anche un tumore col centro freddo circondato da una zona più calda, il cui spessore è sovente molto ridotto e può avere le dimensioni di un vaso da cui si dipartono spesso piccole strie vascolari che invadono radialmente la zona fredda.

Tuttavia la termografia a contatto è stata abbandonata perché non forniva informazioni sulla vascolarizzazione della mammella e quindi sull'eventuale presenza di neoformazioni, limitandosi a rilevare soltanto la temperatura. Di conseguenza, vi era una quantità troppo grande di falsi positivi, con una sensibilità compresa tra 35% e 66% [50] ed una specificità del 70% [51].

² **paduncolo**: in anatomia viene così chiamato l'insieme delle formazioni che collegano un organo ad altre strutture.

1.8.3 Angiotermografia dinamica (DATG)

La DATG appartiene alla categoria della “termografia a contatto” ed è riconosciuta e codificata dalla comunità scientifica internazionale (*International Classification of Disease*, ultima rev. del 2002). Tali studi hanno portato alla realizzazione di una nuova placca completamente diversa rispetto a quella usata negli anni '70 nella tradizionale termografia a contatto dal Dottor Tricoire, grazie all'impegno iniziale del suo alunno, il Dott. Gian Carlo Montruccoli. Il nuovo supporto ha una risoluzione spaziale migliore rispetto alle vecchie placche ed è quindi in grado di dare informazioni sulla reale microcircolazione della ghiandola mammaria, fornendo dunque una “fotografia morfologica”. Questa nuova tecnica differisce profondamente dalla “vecchia” termografia a contatto perché non studia più la temperatura dei vasi e dell'eventuale tumore ma si basa piuttosto sul principio angiotermografico per cui, in assenza di qualsiasi patologia, la vascolarizzazione della mammella rimane costante durante tutta la vita di una donna con i vasi sanguigni che si diramano verso il capezzolo, proprio come una impronta digitale (*blood pattern*). Di conseguenza una neoformazione di vasi, o deviazioni dalla normale e costante vascolarizzazione, è indice di anomalia o patologia in atto. In quest'ottica nella valutazione diagnostica delle immagini non conta più il colore (temperatura) del pattern riprodotto alla placca, quanto piuttosto la sua forma e distribuzione. Proprio per queste ragioni, la DATG non dà luogo all'alto numero di falsi positivi che si avevano con la termografia a contatto sviluppata da Tricoire. La DATG deve essere utilizzata insieme alle altre tecniche diagnostiche più comunemente impiegate per la diagnosi e lo screening del tumore al seno, quali la mammografia, l'ecografia, la palpazione e la risonanza magnetica. Questa tecnica spesso si comporta come una guida diagnostica che indica al medico quali sono le zone sospette il cui esame clinico va poi approfondito con altre metodologie.

In particolare, questa tecnica trova un ottimo applicativo nelle donne giovani e per l'istologia “lobulare”, per la microcircolazione simile al carcinoma duttale, per le quali si osserva che i segni di sospetto o malignità sono indipendenti dalle dimensioni e dalla forma della lesione (non c'è infatti bisogno della presenza di un nodulo perché la DATG visualizzi il problema). Infine, la DATG presenta grandi vantaggi dal punto di vista economico perché non è costosa come le altre tecniche e permette di avere informazioni in tempi molto brevi poiché l'immagine sulla placca si forma in pochi secondi, con la possibilità di avere un referto immediato; è inoltre adatta ad ogni età e consente una prevenzione di alta qualità in senologia (anche per tumori lobulari), senza ricorrere all'utilizzo di radiazioni o ad agenti chimici per mezzi di contrasto, risultando così non invasiva, né tantomeno dolorosa (come invece spesso si rivela la mammografia) ed è ripetibile e riproducibile ogni qualvolta sia necessario.

Trattandosi di una tecnica di esame su base funzionale, l'angiogramma dinamico consente di personalizzare il ritmo di controllo della paziente in base alle sue necessità e caratteristiche patologiche. In ogni caso, volendo valutare un ritmo standard generico, esso sarebbe di tutta tranquillità se calcolato tra i 12 e i 18 mesi. Inoltre, la spesa per l'esecuzione della visita con la DATG risulta essere piuttosto bassa in quanto è limitato sia il costo dell'apparecchiatura che quello della sua manutenzione. La stessa placca angiogramma dinamica ha una vita molto lunga, anche di decine di anni. Altre cause del bassissimo costo di esecuzione sono il breve tempo richiesto per ogni visita, l'impiego di un unico operatore, la semplicità di archiviazione dei risultati. Da non sottovalutare è anche l'ottima *compliance*, cioè la capacità di mettere a proprio agio la paziente quando sottoposta alla DATG.

Si ricordi infine che questa tecnica è di tipo qualitativo, non è quindi in grado di fornire informazioni sulla dimensione del tumore e la sua localizzazione in profondità. Da questo svantaggio nasce però un ulteriore vantaggio: infatti essendo la risposta del sistema indipendente dalla dimensione della neoplasia, non solo può diagnosticare il cancro, ma anche localizzare le lesioni preinvasive nella mammella, rendendo così possibile una diagnosi precoce ed una efficace prevenzione.

- *Apparato strumentale AURA*

Il modello impiegato per questo lavoro prende il nome di AURA, sviluppato dalla ditta di Brescia, vedi sul sito *BreastLife S.r.l.* (Figura18).



Figura 18. Supporto per DATG, modello AURA [54].

Per lavorare all'Angiotermografia Dinamica si hanno a disposizione tre placche (o sonde) di tre sensibilità differenti (con cornice nera, grigia e bianca) da impiegare, man mano che è necessaria una maggiore sensibilità, sia con le pazienti giovani sia con quelle meno giovani. Queste placche presentano un sottilissimo supporto di mylar³ (18×24 cm² con uno spessore di alcuni centesimi di mm) su cui sono stati spalmati uno strato sottile di cristalli liquidi colesterici micro incapsulati (ELC, *encapsulated liquid crystal*) su un lato, che sarà quello visualizzato dall'operatore, ed uno strato di vernice nera sulla parte che andrà a contatto col seno. Il processo di microincapsulazione racchiude il cristallo liquido in microsfere proteggendolo dagli agenti esterni. I cristalli liquidi microincapsulati mostrano il cambiamento di colore sempre nello stesso modo e ordine con velocità che variano a seconda della scala di temperatura.

La struttura molecolare dei cristalli permette loro di assorbire selettivamente la luce ambientale e riflettere determinate lunghezze d'onda a seconda del calore rilevato dal supporto quando il film è a contatto col seno. Questo processo avviene perché il calore prodotto dalla vascolarizzazione induce un cambiamento dello stato dei cristalli che passano dallo stato solido (colore nero) a quello liquido (dal giallo al blu, in funzione della temperatura di sollecito, laddove il blu indica la temperatura più alta).

In questo modo le placche sono in grado di recepire rapidamente il calore cutaneo, e altrettanto rapidamente di raffreddarsi fino a tornare alle condizioni di base. La formazione dell'immagine e la sua scomparsa (che si osservano appoggiando e scostando la placca dalla cute della mammella) avviene in pochi secondi.

La placca viene posizionata su un dispositivo di supporto che ingloba anche un dispositivo di raffreddamento (Figura 18) per eliminare dall'immagine le vene superficiali che sono di disturbo per una corretta diagnosi. Il supporto prevede inoltre un indicatore mediante un LED che si accende su comando del medico a seconda della parte del seno che si sta visitando (Figura 19). All'estremità opposta del supporto vi è un gancio a cui viene attaccata la fotocamera digitale che rimane costantemente alla medesima distanza e angolazione dalla placca, garantendo acquisizioni e analisi a distanze costanti.

³ **mylar**: film trasparente in poliestere, flessibile ed eccezionalmente forte e duraturo, dotato di uno straordinario insieme di proprietà che lo rende adatto a molti impieghi industriali, in particolar modo nell'industria elettromeccanica.

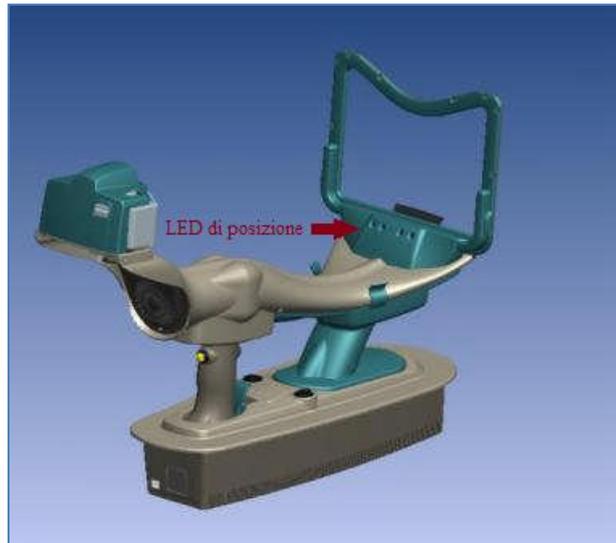


Figura 19. La freccia rossa indica la posizione dei LED [55].

Generalmente la visita inizia esaminando i quadranti laterali della mammella di destra poi i quadranti frontali, si continua con i quadranti frontali della mammella di sinistra per terminare con i quadranti laterali.

La fotocamera utilizzata è una Olympus E-420 Digital SRL, caratterizzata da una risoluzione di 10 MP ed un display LCD di 2,7 pollici, con lenti Zuiko 14-42mm f/3.5-5.6.

Alla fine dell'esame è possibile trasferire le immagini digitali acquisite al computer tramite cavo usb.

- *Applicazione clinica*

Il funzionamento della DATG si basa sul principio dell'angiogenesi per cui un tumore per nascere, svilupparsi e crescere, ha necessità di nuovi vasi sanguigni da cui "ricevere nutrimento"; quindi, studiando le variazioni del pattern sanguigno, è possibile diagnosticare anche neoplasie molto precoci. Questa tecnica, non nuova ma ancora poco diffusa, s'inserisce nell'insieme delle tecniche diagnostiche per lo studio e la prevenzione del tumore al seno al fine di completare il quadro clinico della paziente. D'altro canto, pur riuscendo a mettere in evidenza variazioni della vascolarizzazione mammaria, la DATG non è in grado di indicare la dimensione del tumore né la sua profondità.

Com'è stato precedentemente accennato, l'idea di base è che ogni donna abbia il proprio *blood pattern* che, in condizioni di buona salute, rimane costante nel tempo. L'alterazione di questo pattern, al contrario, potrebbe essere indice di una possibile attività tumorale o pretumorale.

Mentre nella vecchia termografia mammaria si registrava la temperatura della zona da investigare mediante una fotocamera all'infrarosso o tramite placche a contatto, con la DATG è la morfologia

della vascolarizzazione ad essere analizzato, riuscendo a localizzare anche stati preinvasivi, evidenziandone chiaramente l'insorgenza mediante cambiamenti nel pattern sanguigno. Infatti, studi scientifici sulla neoangiogenesi hanno comprovato la presenza di nuovi vasi sanguigni fin dai primissimi momenti della carcinogenesi mammaria.

Ecco che la DATG si rivela utile nella comprensione della storia naturale della malattia e nell'allargare il periodo di osservazione clinica grazie al fatto che questa metodica è indipendente dall'età della paziente che può cominciare i controlli a qualsiasi età. La capacità di controllare il flusso funzionale ematico permette inoltre sia di evidenziare localizzazioni multifocali che di controllare in periodo post operatorio l'eventuale comparsa di recidive locali. Consente cioè di avere un totale controllo dell'evoluzione della malattia e di conseguenza una forte ottimizzazione dei risultati terapeutici oltre che diagnostici.

In letteratura infatti è stato dimostrato che l'angiogenesi neoformata è contemporanea allo *switch*⁴ della cellula neoplastica verso il fenotipo angiogenetico. Ne consegue che se si riesce a diagnosticare l'inizio dell'angiogenesi, si diagnostica al tempo stesso l'inizio dell'invasività del tumore.

I risultati ottenuti con la DATG dimostrano che essa è in grado di evidenziare anche lesioni semplicemente atipiche non ancora istologicamente classificabili come carcinoma "in situ", come le iperplasie. Tale meccanismo è ancora da chiarire, ma è comunque della massima utilità.

In caso di presenza di tumore o di lesione precancerosa, l'immagine formata sulla placca ha una forma arrotondata o è il risultato di diversi canali convergenti per l'alimentazione del tumore. Ricordiamo infatti che tipico delle neoformazioni è il discostarsi dalle normali linee di flusso che invece puntano al capezzolo.

L'immagine digitale può essere immediatamente interpretata dal medico che può eventualmente ricorrere alla sua elaborazione. In ogni caso, è poi necessario approfondire la diagnostica con altre metodologie che siano in grado di fornire informazioni spaziali quali la profondità e la dimensione del tumore (naturalmente si impiegano l'ecografia e la mammografia).

⁴ **switch**: passaggio o evoluzione della cellula da uno stato ad un altro (in questo caso, dallo stato neoplastico a quello angiogenetico).

- *Sensibilità e specificità*

Dal punto di vista della casistica, invece, e dunque in termini di sensibilità e specificità, in seguito a più di vent'anni in cui i Dottori Gian Carlo e Daniele Montruccoli hanno acquisito migliaia di dati su pazienti con età mediana di 48,6 anni (da 15 a 86 anni), i risultati sono stati sorprendenti con una sensibilità complessiva ed una specificità che, nel peggiore dei casi, erano rispettivamente del 91% e 96%. I risultati sono attualmente in fase di elaborazione e pubblicazione, ma nel database a disposizione la capacità diagnostica della DATG è stata confrontata con più di un migliaio di analisi istologiche e con i risultati di altri metodi diagnostici come la mammografia o l'ecografia. Una prima selezione di casi su questo database è già stata pubblicata [33] e l'analisi conclusiva è attualmente in via di pubblicazione. La sensibilità molto alta è confermata anche dall'impiego della DATG da parte di altri gruppi che, attualmente, utilizzano la stessa strumentazione in Brasile, Croazia e Romania, così come in Italia. Si deve tener presente, comunque, che l'elaborazione dei dati qui esposta riguarda uno studio di tipo osservazionale retrospettivo.

- *Vantaggi e svantaggi della DATG*

Per quanto concerne le peculiarità e la fruibilità dell'angiogramma dinamico, oltre ai vantaggi già citati, quali i bassi costi e l'invasività nulla, si riscontra anche che:

- è molto utile per pazienti giovani o con seno denso, a differenza della mammografia che può essere eseguita solo su donne con età superiore ai 35 anni;
- ha una grande facilità di applicazione (dopo adeguato addestramento del medico) con l'ausilio di una strumentazione che, se necessario, è facile da spostare;
- essendo totalmente non invasiva può essere impiegata anche nei casi di mastite (infiammazione della mammella) acuta o cronica;
- è possibile osservare segni di sospetto (angiogenesi) o di malignità anche nei casi di carcinomi che non hanno ancora formato massa;
- il risultato è indipendente dall'età e dalla concentrazione ormonale, dunque se la paziente è in menopausa o in età fertile; quindi, la ghiandolarità o la adiposità mammaria non sono condizionanti ai fini dell'esame;
- è adatta per lo screening ed è anche in grado di rilevare lesioni precancerose laddove non vengono evidenziate con la palpazione o le altre metodiche strumentali in uso;

- risulta utilissima anche nel riconoscimento del carcinoma lobulare, midollare⁵ e colloide⁶;
- è particolarmente indicata nel monitoraggio delle pazienti a rischio di familiarità e/o sottoposte a terapia ormonale contraccettiva e sostitutiva estroprogestinica, e/o a stimolazione ovarica per fecondazione in-vitro;
- in presenza di malattie dermatologiche, quali herpes zoster, angiomi cutanei o la sindrome di Recklinghausen, non si rischia di falsare il risultato dell'esame, così come se la paziente è in gravidanza o allatta;
- il melanoma cutaneo riproduce una formazione caratteristica dell'immagine;
- nel caso di un lipoma o di un liposarcoma⁷, ne consente la differenziazione dal maligno mostrando nel primo la totale assenza di vascolarizzazione, mentre il secondo risulta ampiamente irrorato di sangue;
- si rivela adatta al controllo delle terapie (*follow-up*), ad esempio se la paziente è sottoposta a chemioterapia antiblastica⁸;
- è fortemente indicata nello screening, soprattutto nei Paesi in via di sviluppo.

Tuttavia, come ogni tecnica di screening e di diagnostica, la DATG presenta degli svantaggi:

- ad oggi, fornisce immagini della distribuzione della vascolarizzazione solo in 2D, a differenza di esami come MRI, PET e DOBI che permettono osservazioni di immagini ricostruite in 3D;
- non dà informazioni sulle dimensioni del tumore, ma si limita ad indicare soltanto la presenza di una lesione sospetta e i punti della zona in cui cercarlo, dovendo ricorrere ad altre tecniche;
- è necessario che sulla paziente non vengano applicate creme per il corpo, né gel ecografico, poco prima della visita, perché possono facilmente comportarsi da filtro, portando ad una diagnosi non corretta con il conseguente rischio di falso negativo;
- le protesi mammarie, gli interventi di chirurgia plastica - quali mastopessi⁹, riduzione ecc. - potrebbero inficiare la diagnosi; sarebbe infatti opportuno avere un'immagine DATG pre-operatoria.

Ad oggi, stanno avendo inizio dei *trial* sul confronto tra DATG e altre tecniche diagnostiche presso strutture pubbliche italiane.

⁵ **carcinoma midollare**: tumore maligno della mammella con rapida espansione ed invasività.

⁶ **carcinoma colloide**: tumore a crescita lenta, tipico delle donne anziane.

⁷ **liposarcoma**: forma maligna del lipoma, che è una neoplasia del tessuto adiposo.

⁸ **chemioterapia antiblastica**: finalizzata all'arresto o al rallentamento della proliferazione cellulare.

⁹ **mastopessi**: intervento di chirurgia estetica per sollevare il seno ptosico, cioè cadente in seguito ad un rilassamento dei tessuti.

1.9 Progetto per la caratterizzazione e la tridimensionalità della DATG

Come è stato già discusso precedentemente, nonostante la DATG sia caratterizzata da un'elevata semplicità di esecuzione su pazienti di ogni età e con patologie al seno di diversa origine, tale tecnica ha il limite di fornire solo immagini in due dimensioni, senza dare informazioni sulla profondità dei vasi e, quindi, anche di un'eventuale massa tumorale, richiedendo in tal caso che la paziente si sottoponga necessariamente ad altri esami. Inoltre l'immagine bidimensionale acquisita è l'integrazione temporale del segnale in temperatura che emerge in superficie, di conseguenza a volte non è possibile distinguere la direzione reale di un vaso sospetto perché manca l'informazione relativa alla terza dimensione.

Date tali considerazioni, l'obiettivo di questa ricerca è duplice: caratterizzare il sistema DATG al fine di conoscerne proprietà e limiti e migliorarne la fruibilità cercando un metodo per risalire alla profondità del segnale acquisito sulla base dell'acquisizione dinamica di una sequenza temporale. Il sistema verrà quindi studiato in relazione alla risoluzione spaziale, risposta del sistema in temperatura e calcolo della emissività e calibrazione delle varie placche. Successivamente si studierà un metodo di elaborazione delle immagini, che vengono acquisite a colori, al fine di estrarre l'informazione relativa alla temperatura del segnale. Infine, sulla base dell'equazione del trasporto del calore di Fourier, si cercherà una metodologia che permetta di ricostruire la terza dimensione spaziale.

Capitolo 2.

Caratterizzazione delle placche

In questa seconda fase del lavoro è stata calibrata la termocamera per poter valutare correttamente la risoluzione del sistema, cioè le minime dimensioni degli oggetti che le placche sono in grado di rivelare e, infine, la sua risposta, cioè il range di temperatura in cui le placche forniscono risposte attendibili.

2.1 Strumentazione sperimentale

La strumentazione utilizzata per questo lavoro consiste di:

- generatore di corrente alternata;
- fantoccio rettangolare con filo metallico piegato in modo da formare delle linee parallele, sempre più vicine tra loro (Figura 1);
- foglio adesivo di materiale ad emissività nota da qui in poi chiamato brevemente DOT (titanio, silicio, alluminio, ossigeno);
- fantoccio quadrato con filo metallico piegato in modo non geometrico, coperto con uno strato di plexiglass (Figura 14);
- strumentazione DATG, mod. AURA:
 - base di appoggio,
 - fotocamera, mod. Olympus E-420 Digital SRL,
 - placca con cornice bianca,
 - placca con cornice grigia,
 - placca con cornice nera;
- termocamera a infrarossi, mod. Optris PI200;
- sensore di temperatura, mod. DLP-TEMP-G;
- termometro.

2.2 Calcolo dell'emissività

Il primo passo di questo lavoro sperimentale è stato l'osservazione del funzionamento delle placche, per poi calibrare la termocamera e misurare la loro risoluzione. A tal fine è stato collegato al generatore di corrente il fantoccio rettangolare su cui è stata poggiata la placca con la cornice bianca. Una volta acceso il generatore e aumentando gradualmente l'intensità di corrente i ed il voltaggio V - dunque la potenza W - sono state registrate delle immagini in sequenza tramite la fotocamera partendo da $i_0 = 0 \text{ A}$ e $V_0 = 0 \text{ V}$, per arrivare a $i = 0,34 \text{ A}$ e $V = 13 \text{ V}$, con una potenza finale di $P = 4,42 \text{ W}$. L'immagine ottenuta con $P = 0 \text{ W}$ è stata utilizzata come fondo per le successive elaborazioni. Man mano che aumentava la potenza, il segnale dei singoli fili iniziava ad essere ben visibile, fino a quando la temperatura non aveva raggiunto un valore tale da comportare la saturazione del segnale.

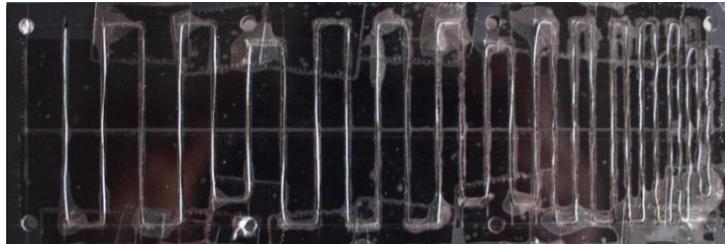


Figura 2. Fantoccio rettangolare.

Una volta testato il funzionamento di una placca in risposta all'innalzamento della temperatura generato dal filo attraversato da corrente, è stata effettuata la calibrazione della termocamera ricorrendo all'utilizzo del sensore di temperatura: il fantoccio è stato posto in aderenza alla superficie posteriore della placca ed il sensore a contatto con quella anteriore, in corrispondenza della regione in cui i fili del fantoccio erano più vicini, cioè quella che si scaldava prima (Figura 2); inoltre contemporaneamente si è ripresa una sequenza di immagini con la termocamera, posta vicino alla fotocamera in modo da avere immagini termografiche ad angolazioni e distanze il più simili possibile all'immagine DATG.



Figura 3. Apparato sperimentale con fantoccio, placca con la cornice bianca e il sensore a stretto contatto tra di loro.

La calibrazione della termocamera è stata necessaria perché questa misura l'effettiva temperatura di un oggetto, nota la sua emissività. A questo proposito si ricorda la legge di Stefan-Boltzmann $E = \varepsilon\sigma T^4$ in cui E è l'energia associata alla radiazione, ε l'emissività, σ la costante di Stefan-Boltzmann e T la temperatura assoluta.

Per determinare l'effettiva temperatura delle ROI (*region of interest*) è stato utilizzato inizialmente il sensore di temperatura DLP-TEMP-G (da qui in poi semplicemente chiamato sensore di temperatura) a diretto contatto con la placca per confrontare la temperatura letta con quella riportata dalla termocamera.

In un secondo tempo, è stato osservato che la temperatura indicata dal sensore era integrata su tutto il volume del sensore mentre la sua sonda era posta a contatto con la placca solo da un lato e nell'altro era immerso nell'aria. Di conseguenza, si è preferito utilizzare un DOT (Figura 3) di emissività nota ($\varepsilon = 0,950$) per avere un riferimento assoluto.

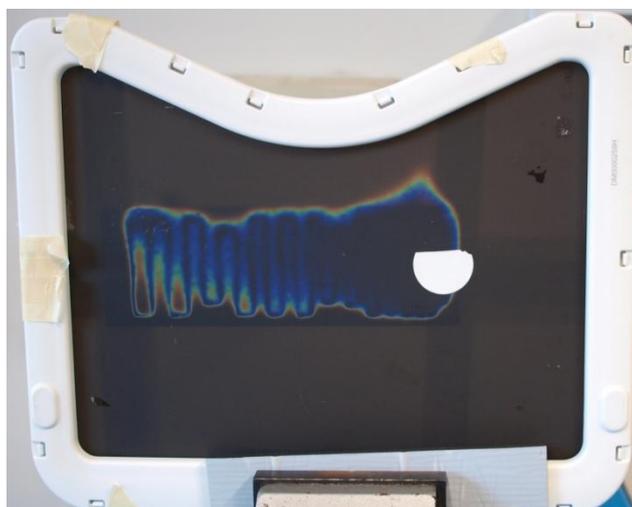


Figura 4. Placca con cornice bianca su cui è stato applicato il DOT (bianco).

Innanzitutto, sono state selezionate due ROI, una sul DOT e un'altra sulla placca in esame di cui poi studiare la risposta della temperatura al passare del tempo ed in funzione della potenza. Le due ROI sono state scelte molto vicine perché si presuppone che si trovino alla stessa temperatura. Nota l'emissività del DOT è quindi possibile stabilire la temperatura a cui si trovano le due zone di interesse e variare l'emissività della ROI che cade sulla placca fino a determinare l'emissività che permette di ottenere la stessa temperatura letta nella ROI del DOT per tutta la scala della potenza applicata.

Le prime registrazioni sono state eseguite a temperatura ambiente che, per ipotesi, assicura una temperatura circostante uniforme. Successivamente, una volta acceso il generatore di corrente ed aumentata la potenza, è stata registrata la risposta della termocamera. Lo stesso procedimento è stato effettuato per tutte e tre le placche, iniziando da quella con la cornice bianca.

2.3 Calcolo dell'emissività della placca con cornice bianca

Dopo aver misurato col termometro la temperatura ambiente (26,0 °C), sono stati assegnati valori sempre più alti al voltaggio, all'intensità di corrente e di conseguenza alla potenza, come riportato in Tabella 1.

Tensione (V)	Corrente (A)	Potenza (W)	Incertezza su V	Incertezza su i	Incertezza su P
0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00
3,80	0,10	0,38	0,05	0,01	0,11
4,10	0,10	0,41	0,05	0,01	0,11
4,55	0,11	0,50	0,05	0,01	0,10
5,15	0,13	0,67	0,05	0,01	0,08
5,45	0,14	0,76	0,05	0,01	0,08
5,90	0,15	0,89	0,05	0,01	0,07
6,30	0,16	1,01	0,05	0,01	0,07
6,55	0,17	1,11	0,05	0,01	0,06
7,05	0,18	1,27	0,05	0,01	0,06
7,50	0,19	1,43	0,05	0,01	0,06

Tabella 1. Valori di voltaggio, corrente e potenza scelti per il calcolo dell'emissività della placca con cornice bianca con le relative incertezze.

Variando la potenza applicata, il filo del fantoccio si scaldava e la temperatura delle ROI, misurata dalla termocamera al passare del tempo, sia del DOT che della placca ha assunto un comportamento "a gradini" ogni qual volta veniva incrementata la potenza. Questo stesso procedimento è stato ripetuto lavorando offline col programma della termocamera, modificando i valori dell'emissività della ROI sulla placca, ottenendo diverse curve, ciascuna per ogni valore di

emissività (Figura 4). Tra queste, la curva che entro l'errore del 2% ha mostrato di rispondere in modo più simile a quella della ROI del DOT è stata quella con emissività pari a 0,995, come risulta evidente nel grafico sottostante.

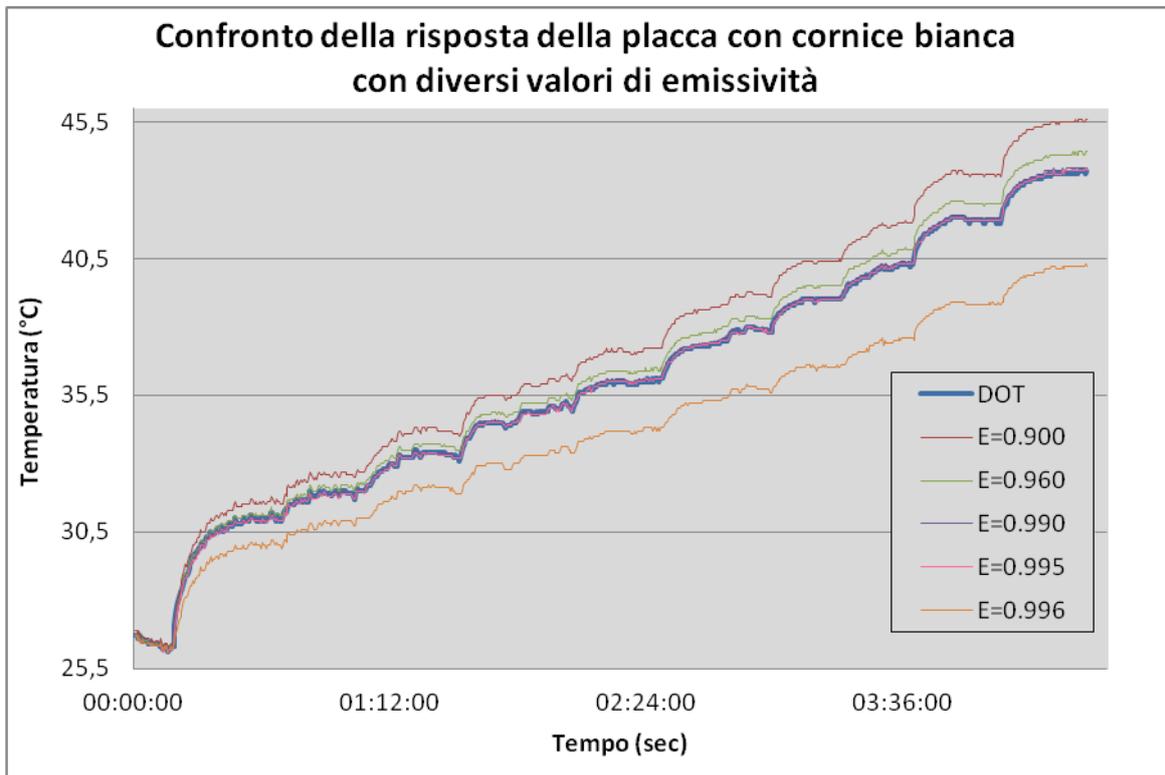


Figura 5. Andamento della temperatura delle ROI del DOT e della placca al passare del tempo, registrate tramite la termocamera.

Una volta ricavata l'emissività della placca con cornice bianca, è stata messa in relazione con la potenza la temperatura dei segmenti di curva in cui era costante (*plateau*) per visualizzarne la dipendenza. Ciò che ci aspettavamo di vedere era una risposta lineare, dovuta al fatto che man mano che il filo metallico si scaldava, la sua temperatura cresceva linearmente (effetto Joule). Facendo una media per ogni plateau e graficando tutti i valori ottenuti in funzione della potenza, questo è stato effettivamente ciò che abbiamo osservato (Figura 5).

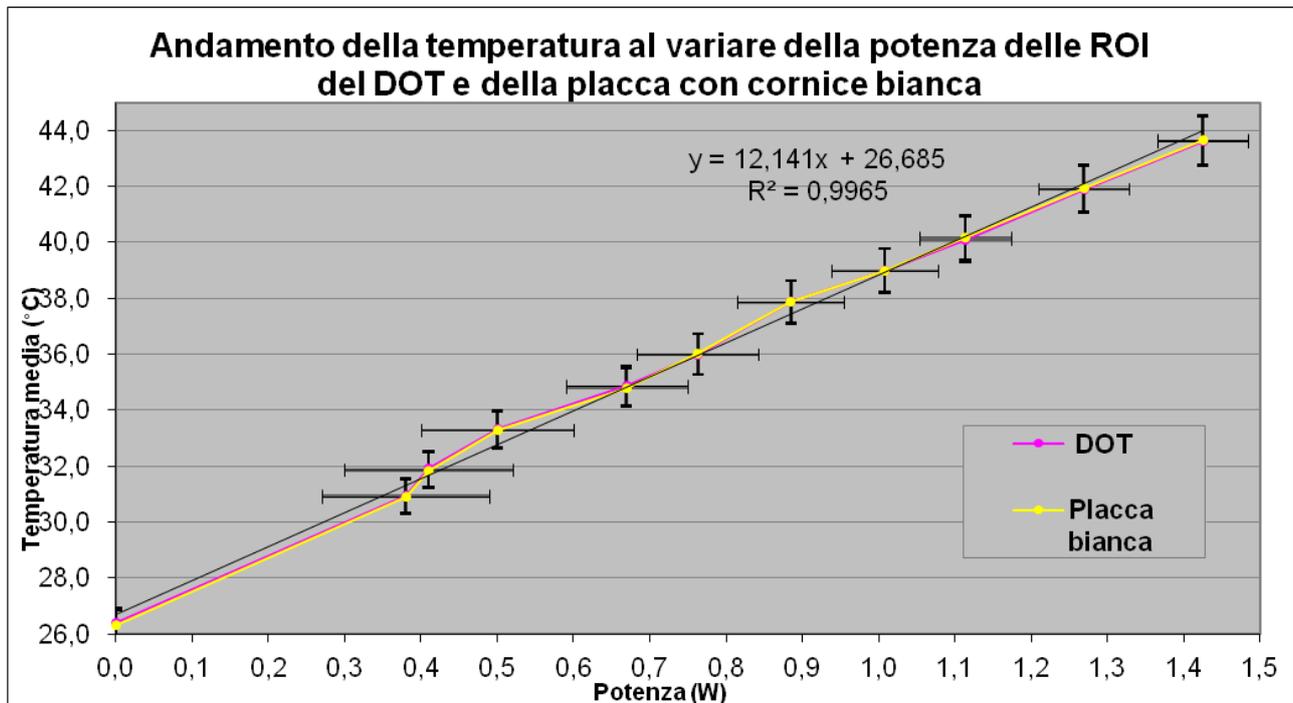


Figura 6. Grafico della risposta lineare della temperatura media della ROI della placca con cornice bianca all'aumentare della potenza.

2.4 Calcolo emissività della placca con cornice grigia

Con la temperatura ambiente misurata di 26,3 °C, i valori attribuiti alla tensione, alla corrente e alla potenza durante la prova con la placca dalla cornice grigia sono riportati in tabella 2.

Tensione (V)	Corrente (A)	Potenza (W)	Incertezza su V	Incertezza su i	Incertezza su P
0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00
2,90	0,07	0,20	0,05	0,01	0,16
3,50	0,08	0,28	0,05	0,01	0,14
4,50	0,11	0,50	0,05	0,01	0,10
5,50	0,14	0,77	0,05	0,01	0,08
6,00	0,15	0,90	0,05	0,01	0,08
6,30	0,16	1,01	0,05	0,01	0,07
6,55	0,17	1,11	0,05	0,01	0,07
6,90	0,18	1,24	0,05	0,01	0,06
7,50	0,19	1,43	0,05	0,01	0,06
7,85	0,20	1,57	0,05	0,01	0,06
8,30	0,210	1,74	0,05	0,01	0,05
8,80	0,225	1,98	0,05	0,01	0,05

Tabella 2. Valori di voltaggio, corrente e potenza scelti per il calcolo dell'emissività della placca con cornice grigia con le relative incertezze.

Anche in questo caso è stata osservata la risposta della placca imponendo diversi valori dell'emissività, al fine di identificare la curva che meglio rientrava nell'errore del 2% per dare una

risposta il più vicina possibile a quella del DOT (Figura 6); il valore di emissività che ha meglio risposto a tali requisiti è stato identificato in 0,980. Dal grafico è evidente che anche in questo caso si aveva un andamento "a gradini" della temperatura delle ROI in corrispondenza degli istanti in cui sono stati cambiati i valori di V , i e P .

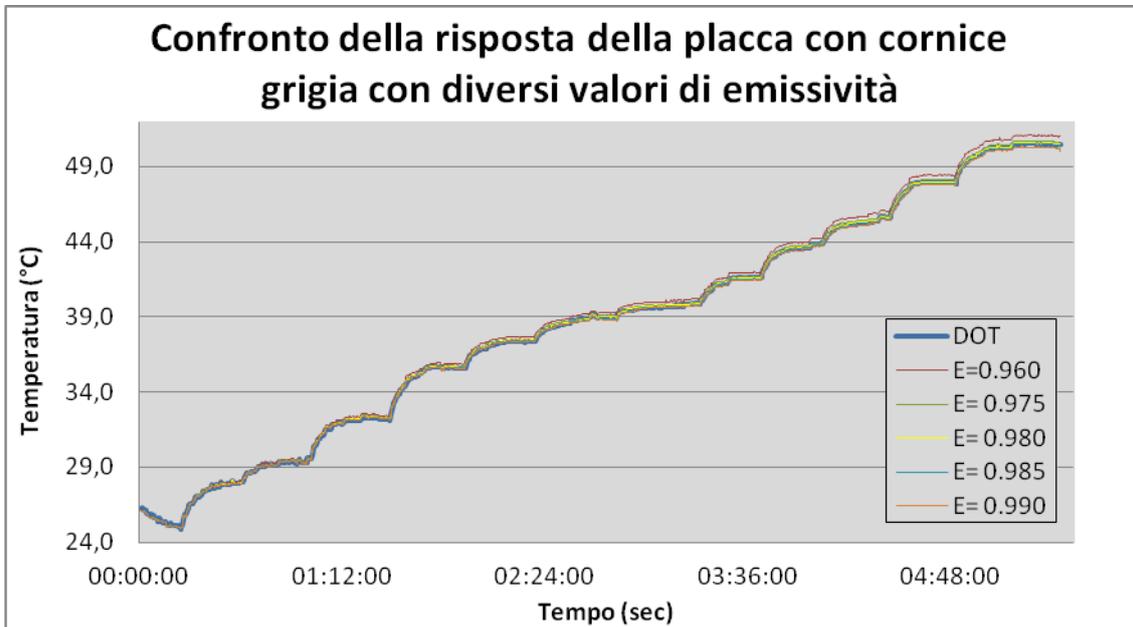


Figura 7. Andamento della temperatura al passare del tempo delle ROI del DOT e della placca, registrate tramite la termocamera.

Dopo aver determinato il valore di emissività da utilizzare nelle elaborazioni con la placca con cornice grigia, è stata rappresentata la dipendenza dei valori medi della temperatura nelle regioni di plateau in funzione della potenza che, anche in tal caso, è risultata essere di tipo lineare (Figura 7).

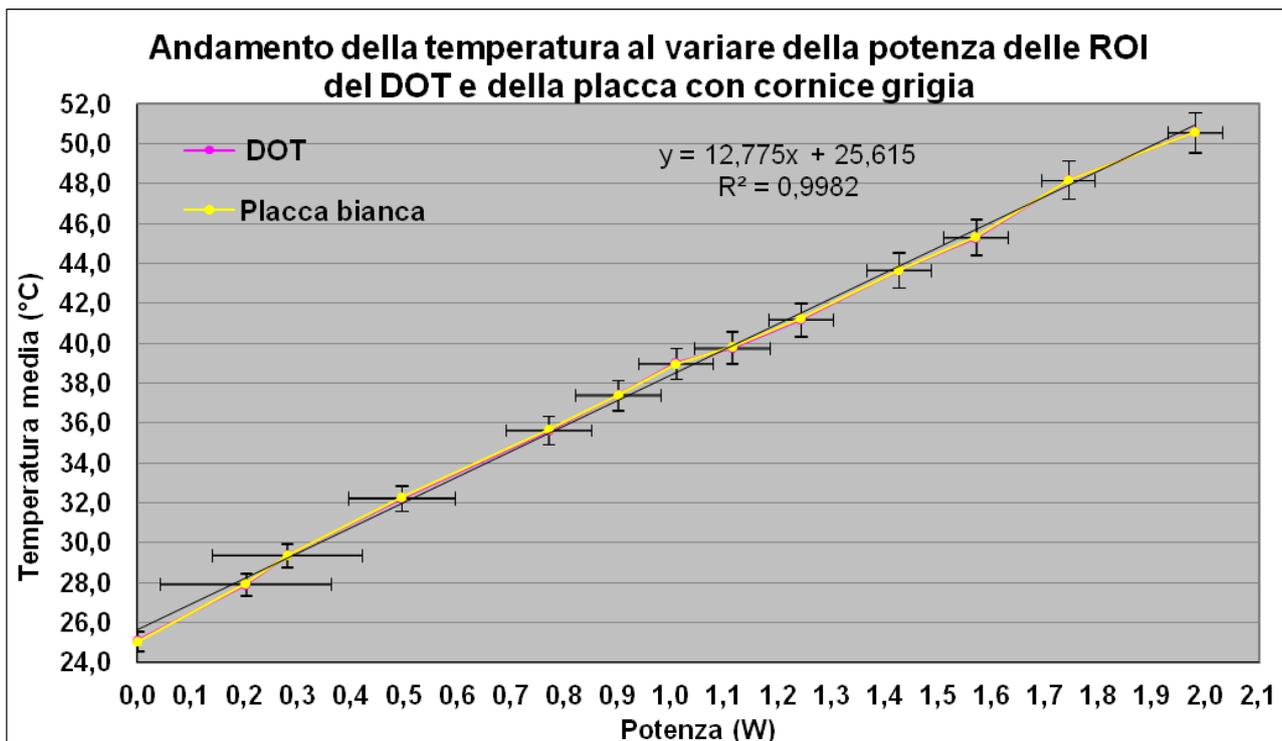


Figura 8. Grafico della risposta lineare della temperatura media della ROI della placca con cornice grigia all'aumentare della potenza.

Come si evince dal precedente grafico, l'emissività pari a 0,980 rientra perfettamente nell'errore del 2%, fornendo una dipendenza della temperatura dalla potenza molto vicina a quella del DOT.

2.5 Calcolo dell'emissività della placca con cornice nera

In questo caso la temperatura ambiente misurata era di 24,6 °C. Come per le due placche precedenti, è stata ricercata l'emissività che meglio approssimasse la risposta della temperatura a quella del DOT, effettuando più prove con diversi valori di ε (Figura 8), aumentando gradualmente la potenza (Tabella 3).

Tensione (V)	Corrente (A)	Potenza (W)	Incertezza su V	Incertezza su i	Incertezza su P
0,00	0,00	0,00	0,05	0,01	0,00
4,95	0,12	0,59	0,05	0,01	0,09
6,00	0,15	0,90	0,05	0,01	0,08
6,30	0,16	1,01	0,05	0,01	0,07
6,50	0,16	1,07	0,05	0,01	0,07
6,70	0,17	1,14	0,05	0,01	0,07
6,90	0,18	1,24	0,05	0,01	0,06
7,20	0,18	1,30	0,05	0,01	0,06
7,45	0,19	1,42	0,05	0,01	0,06
7,90	0,20	1,58	0,05	0,01	0,06
9,00	0,23	2,07	0,05	0,01	0,05
10,00	0,23	2,30	0,05	0,01	0,05

Tabella 3. Valori di voltaggio, corrente e potenza scelti per il calcolo dell'emissività della placca con cornice nera con le relative incertezze.

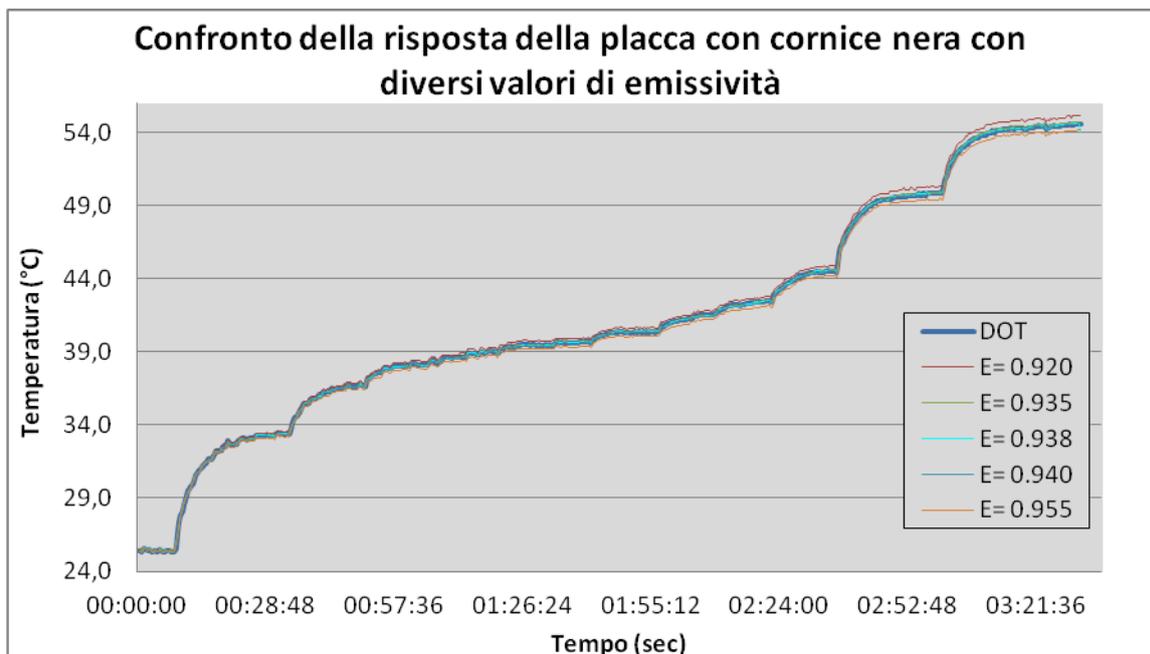


Figura 9. Andamento della temperatura al passare del tempo delle ROI del DOT e della placca, registrate tramite la termocamera.

Si nota che il valore più indicato per l'emissività è di 0,938, tale da rientrare nell'errore del 2% e da fornire una risposta lineare della temperatura al variare della potenza (Figura 9).

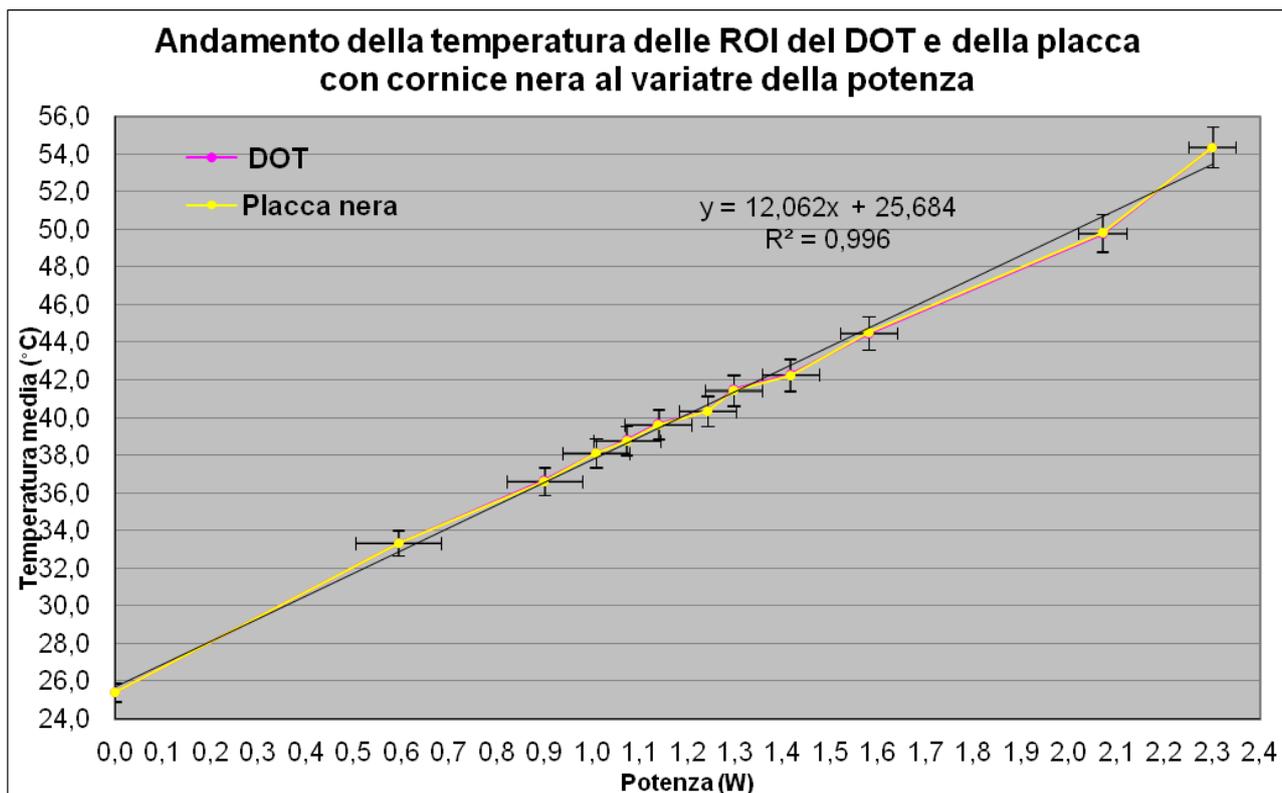


Figura 10. Grafico della risposta lineare della temperatura media della ROI della placca con cornice nera all'aumentare della potenza.

2.6 Calibrazione del sensore di temperatura

Un'ulteriore analisi è stata effettuata per verificare che il sensore rispondesse in modo analogo al DOT, effettuando una calibrazione. Tale analisi è stata svolta senza l'utilizzo delle placche, ma soltanto poggiando sia il sensore che il DOT direttamente sul fantoccio nella regione in cui i fili erano più vicini e selezionando una ROI su ciascuno di essi. I valori scelti del voltaggio, della corrente e della potenza sono riportati in tabella 4.

Tensione (V)	Corrente (A)	Potenza (W)	Incertezza su V	Incertezza su i	Incertezza su P
0,00	0,000	0,000	0,05	0,01	0,00
3,00	0,080	0,240	0,05	0,01	0,14
3,50	0,080	0,280	0,05	0,01	0,14
3,70	0,090	0,333	0,05	0,01	0,12
4,00	0,100	0,400	0,05	0,01	0,11
4,45	0,110	0,490	0,05	0,01	0,10
4,80	0,120	0,576	0,05	0,01	0,09
5,30	0,140	0,742	0,05	0,01	0,08
5,50	0,140	0,770	0,05	0,01	0,08
5,70	0,150	0,855	0,05	0,01	0,08
6,00	0,160	0,960	0,05	0,01	0,07
6,40	0,165	1,056	0,05	0,01	0,06
7,00	0,180	1,260	0,05	0,01	0,06

Tabella 4. Valori di potenziale, corrente e potenza scelti per la calibrazione del sensore con le relative incertezze.

Osservando il grafico in Figura 10, si nota come dopo aver calibrato il sensore, questo dia una risposta praticamente identica a quella del DOT.

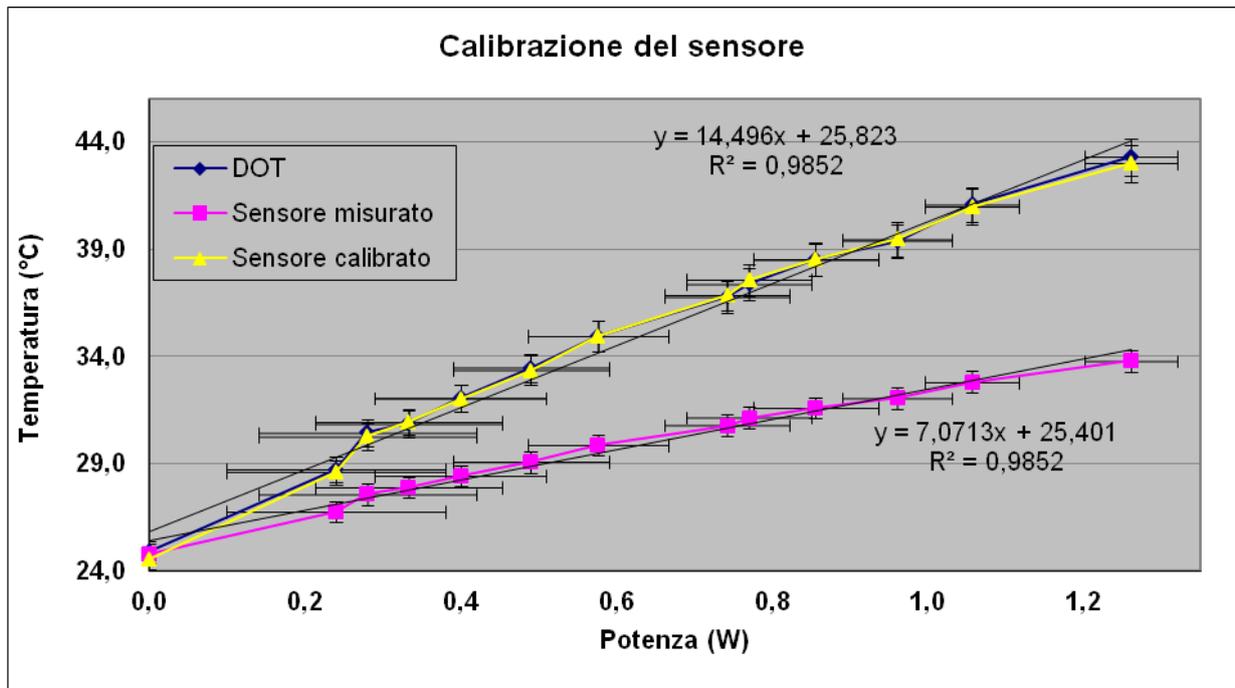


Figura 11. Andamento della temperatura rilevata dal sensore e dal DOT tramite la termocamera, prima e dopo la calibrazione del sensore (rispettivamente, le curve nominate "Sensore misurato" e "Sensore calibrato").

2.7 Conversione delle immagini a colori RGB in tonalità (*hue*)

La DATG fornisce immagini a colori, cioè immagini digitali in cui ciascun pixel registra l'intensità di rosso R, verde G e blu B misurato in quel punto. Per ogni colore si hanno 8 bit a disposizione, ciò significa che si ha per ogni pixel una tripletta di valori che possono andare dal 0 a 255, dove lo zero rappresenta l'assenza di luce e 255 la massima luminosità rivelabile per quel colore. La risposta della DATG in funzione della temperatura è quindi data dal variare del colore ed è rappresentato dalla tripletta di valori e non da un numero direttamente correlabile alla temperatura. Per questa ragione si calcola per ogni pixel la *hue* (tonalità) [37] che è funzione della tripletta RGB e in relazione alla temperatura.

Noti i valori massimo e minimo delle percentuali di R, G e B $M = \max(R, G, B)$ e $m = \min(r, g, b)$ e definito $C = M - m$, la *hue* (cioè la tonalità) è stata calcolata utilizzando la relazione

$$H = 60^\circ \cdot H', \text{ in cui } H' \text{ è indefinita se } C = 0, \text{ altrimenti } H' = \begin{cases} \frac{G-B}{C} \text{ mod } 6 & \text{se } M = R \\ \frac{B-R}{C} + 2 & \text{se } M = G \\ \frac{R-G}{C} + 4 & \text{se } M = B \end{cases}$$

A tal proposito è importante sottolineare che la *hue* misurata da una superficie a cristalli liquidi dipende dalle caratteristiche spettrali della sorgente di illuminazione, dalla superficie riflettente e dal sensore. Prevedere la relazione tra intensità e temperatura con una precisione paragonabile ad

una calibrazione reale è praticamente impossibile, a causa della necessità di conoscere con precisione le caratteristiche di ogni componente coinvolto nel processo di formazione dell'immagine (ad esempio, ogni diverso rivestimento di cristalli liquidi può produrre differenti proprietà di riflettività).

Di conseguenza, una volta ottenuta l'immagine della *hue* del fantoccio rettangolare (Figura 11),

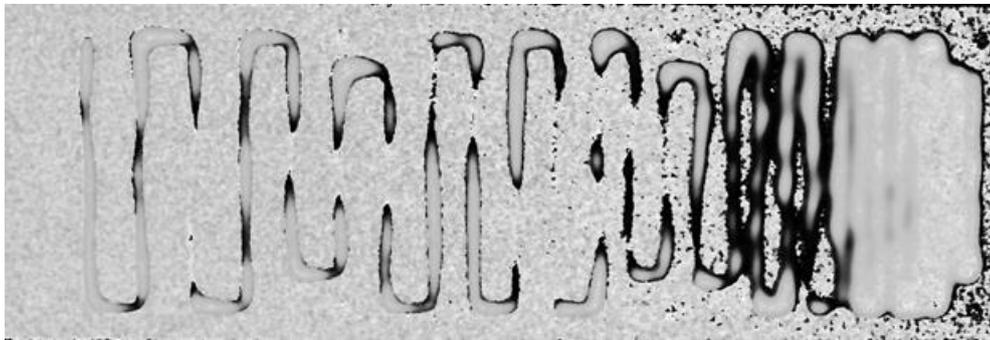


Figura 12. Immagine della hue del fantoccio rettangolare.

è stato necessario applicare la sottrazione del fondo prima di qualsiasi elaborazione con i valori medi di rosso, verde e blu su una ROI abbastanza grande da generare una significativa statistica di dati e minimizzare eventuali piccole disuniformità della superficie (con un margine tra il bordo e la ROI pari a 1/2 della larghezza e 1/6 dell'altezza). Dati r , g e b i valori dell'immagine di partenza, è stata fatta la sottrazione

$$\begin{cases} r' = r - R_M \cdot 1,2 \\ g' = g - G_M \cdot 1,2 \\ b' = b - B_M \cdot 1,2 \end{cases} \quad (2)$$

in cui R_M , G_M e B_M sono i valori medi, rispettivamente, di rosso, verde e blu. Il prodotto dei valori medi per la costante 1,2 (cioè per il 20% in più del segnale misurato) è stato stabilito sperimentalmente per eliminare la totalità del fondo; infine sono stati posti a zero r , g e b che risultassero negativi (Figura 12).

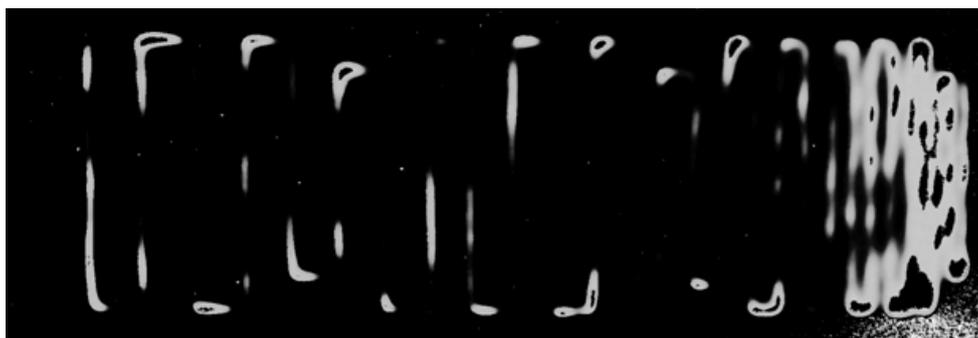


Figura 12. Immagine del fantoccio con sottrazione del fondo.

È stato poi applicato anche il bilanciamento del bianco (Figura 13) finalizzato alla normalizzazione dei valori R, G e B, facendo sì che il guadagno del rosso e quello del blu risultassero uguali a quello del verde, ottenendo come valori di rosso, verde e blu:

$$\begin{cases} r'' = r' \cdot K_R \\ g'' = g' \\ b'' = b' \cdot K_B \end{cases} \quad (3)$$

in cui $K_R = G_M / R_M$ e $K_B = G_M / B_M$.



Figura 13. Immagine del fantoccio con sottrazione del fondo e bilanciamento del bianco.

Successivamente sono stati graficati gli andamenti della *hue* e delle intensità di R, G e B per la sequenza di acquisizioni di tutte e tre le placche (Figure 14, 15 e 16).

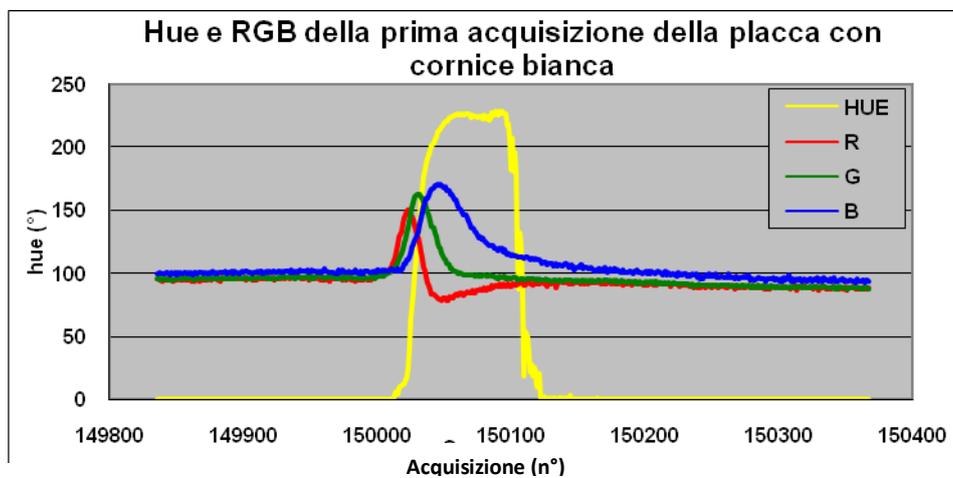


Figura 14. Andamento della hue media e delle percentuali medie di RGB delle ROI per ogni acquisizione di una sequenza della placca con cornice bianca. Al passar del tempo è stata aumentata la temperatura con l'ausilio del generatore di corrente.

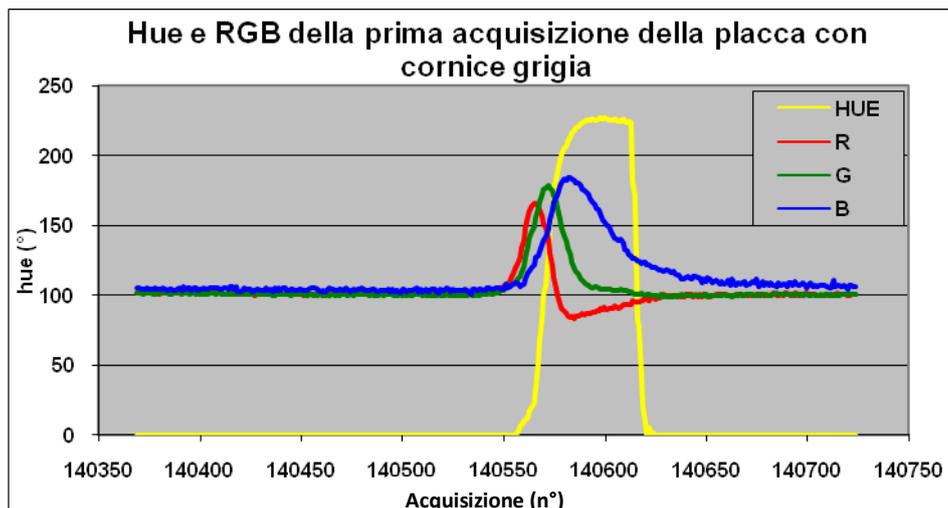


Figura 15. Andamento della hue media e delle percentuali medie di RGB della ROI per ogni acquisizione di una sequenza della placca con cornice grigia. Al passar del tempo è stata aumentata la temperatura con l'ausilio del generatore di corrente.

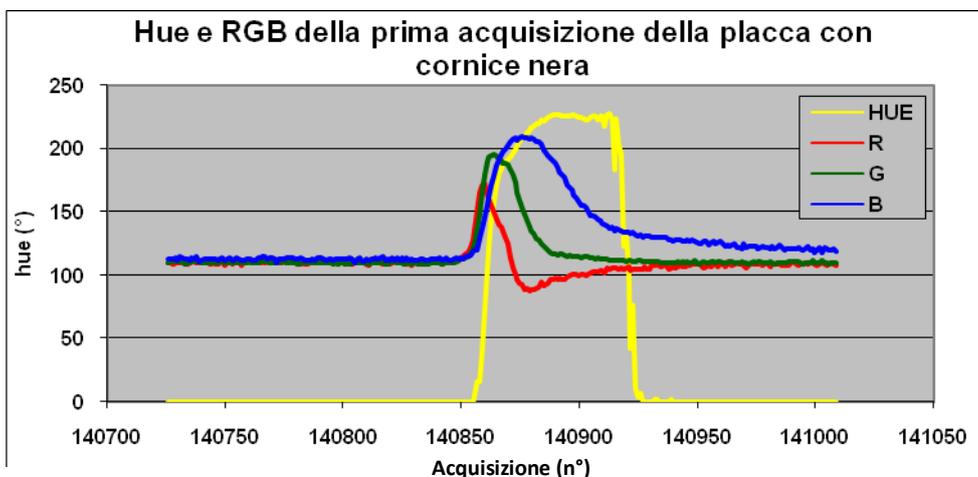


Figura 16. Andamento della hue media e delle percentuali medie di RGB della ROI al per ogni acquisizione di una sequenza della placca con cornice nera. Al passar del tempo è stata aumentata la temperatura con l'ausilio del generatore di corrente.

Si osserva dai grafici come in assenza di sollecitazioni termiche (prime immagini della sequenza) R,G,B e hue si mantengono costanti attorno al valore di fondo, in corrispondenza del riscaldamento la hue rappresenta l'aumento di temperatura (immagini centrali nella sequenza) e infine si raggiunge un valore di saturazione (immagini finali). Risulta evidente come l'andamento della hue e dei valori di R, G e B abbiano sempre lo stesso comportamento per tutte e tre le placche anche se ovviamente con sensibilità diverse.

Nota la metodica con cui è stata ricavata la hue partendo dai valori di rosso, verde e blu, si è lavorato col fantoccio quadrato (Figura 17)



Figura 17. Immagine del fantoccio quadrato.

che forniva un segnale più omogeneo in quattro regioni, in ognuna delle quali sono state selezionate quattro ROI (16 in tutto), sia nell'immagine fotografica (Figura 18) che in quella termografica (Figura 19).

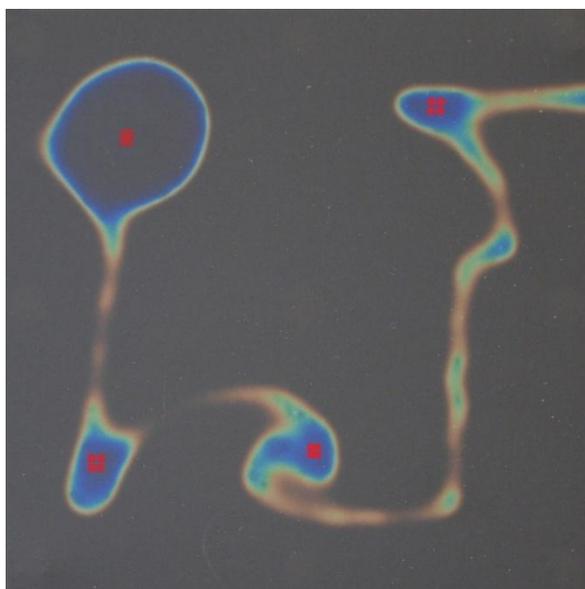


Figura 18. Immagine fotografica del fantoccio quadrato visualizzato con la placca con cornice bianca.

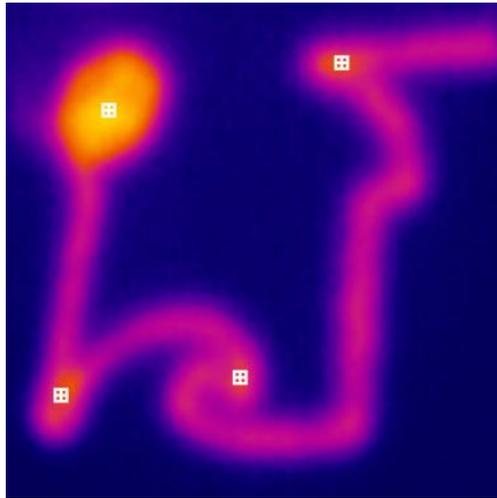


Figura 19. Immagine termografica del fantoccio quadrato utilizzando la placca con cornice bianca.

Inizialmente le ROI sono state selezionate nell'immagine fotografica laddove il segnale risultava omogeneo. Per poterle riportare anche nell'immagine termografica è stato necessario effettuare la conversione tra le dimensioni dei pixel delle due immagini poiché la termocamera ha una risoluzione molto bassa, pari a 160×120 pixel, a fronte di quella della macchina fotografica di 3648×2736 pixel. Una volta ottenuti i valori di *hue* e della temperatura di ogni ROI per ciascuna placca ne è stata fatta la media per poi riportarle in un grafico, la prima in funzione della seconda (Figura 20). Ciò che si osserva è che la *hue* cresce dapprima molto lentamente nel passaggio dal nero al giallo-arancione, poi rapidamente fino al blu scuro quando il segnale si stabilizza, prima di raggiungere la saturazione (condizione di *plateau* al termine della curva), con gli errori del 2%.

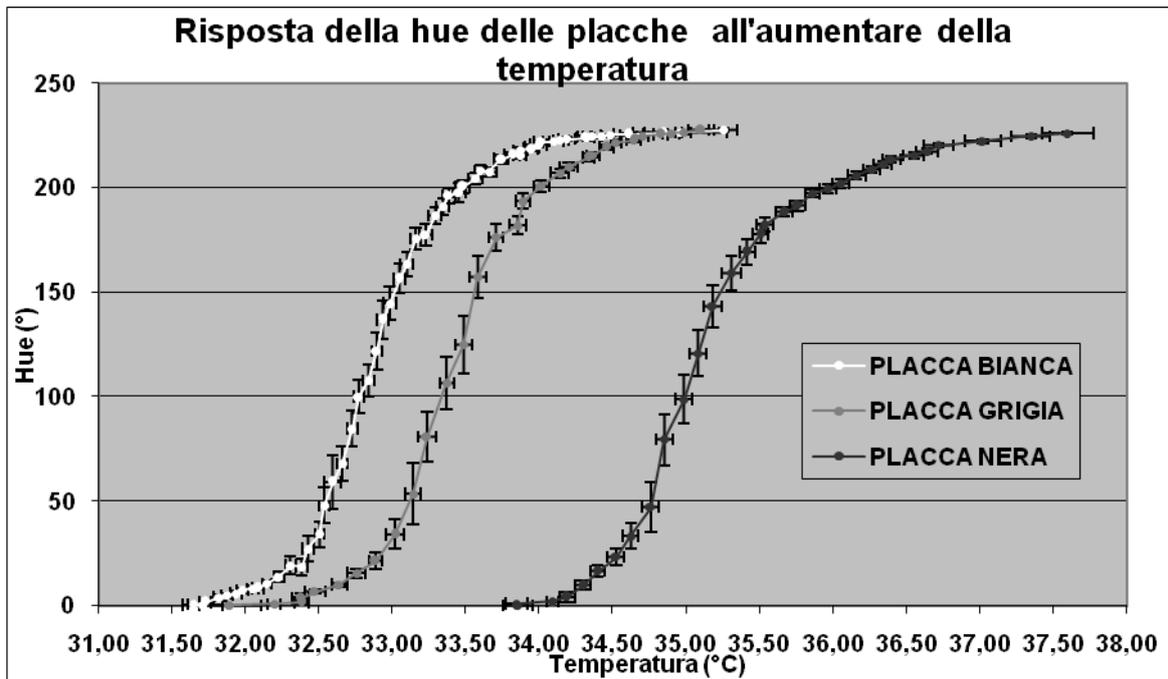


Figura 20. Andamento della hue media di tutte le placche in funzione della temperatura.

Risulta quindi che le placche rispondono rispettivamente nei seguenti range di temperatura:

- placca con cornice bianca: 31,5-34 °C,
- placca con cornice grigia: 32,5-34,5 °C,
- placca con cornice nera: 34-37,5 °C.

Quindi la placca con cornice nera è quella meno sensibile delle tre poiché il segnale su di essa inizia a comparire per temperature più elevate di circa 3°C rispetto alle altre due.

2.8 Risoluzione delle placche

Per questa analisi è stato utilizzato il fantoccio rettangolare su cui sono stati selezionati dei profili di più coppie di fili, da cui poi sono stati ricavati l'andamento della risposta della DATG, in termini di *hue*, e della FWHM (*Full Width at half Maximum*) in millimetri al variare della temperatura. Ancora una volta per variare la temperatura si è utilizzato il generatore di corrente e sono stati impostati diversi valori di potenza.

Per quanto riguarda l'andamento della *hue*, in figura 18 sono riportati in verde un profilo scelto (linea in alto) con la relativa *hue* (picco dato dall'insieme di punti in verde in basso) in cui si vede che quando la *hue* ha un valore elevato, si osserva un picco ben definito.

Le immagini di lato sono state selezionate dalla sequenza della placca con cornice bianca e sono relative al filo 2 del fantoccio in cui il segnale era ben visibile data la distanza di 8 mm da quelli adiacenti. Ciò che si osserva è un picco ben definito (Figura 21) quando il segnale non ha raggiunto la saturazione, altrimenti si ha un apparente doppio picco (Figura 22) i cui massimi sono legati alle parti del profilo in cui il segnale è ancora presente, mentre la parte centrale con valori nulli è fuori dall'intervallo di sensibilità e viene tradotta in termini di *hue* come pari a zero.

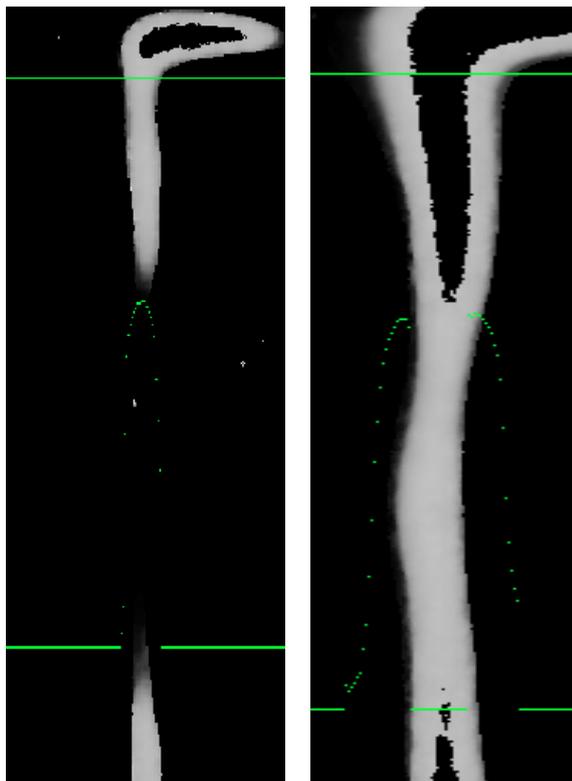


Figura 21. Profilo della hue di uno dei fili del fantoccio senza saturazione.

Figura 22. Profilo dello stesso filo dopo che il segnale ha raggiunto la saturazione.

2.8.1 Risoluzione della placca con cornice bianca

I valori utilizzati per voltaggio, corrente e potenza sono riportati in tabella 5.

Tensione (V)	Corrente (A)	Potenza (W)	Incertezza su V	Incertezza su i	Incertezza su P
4,20	0,11	0,46	0,05	0,01	0,10
5,30	0,14	0,74	0,05	0,01	0,08
5,55	0,15	0,83	0,05	0,01	0,08
6,10	0,16	0,98	0,05	0,01	0,07
6,60	0,18	1,19	0,05	0,01	0,06
7,50	0,20	1,50	0,05	0,01	0,06
8,00	0,21	1,68	0,05	0,01	0,05
8,60	0,23	1,98	0,05	0,01	0,05
9,20	0,24	2,21	0,05	0,01	0,05
9,80	0,26	2,55	0,05	0,01	0,04
11,00	0,29	3,19	0,05	0,01	0,04
11,70	0,31	3,63	0,05	0,01	0,04
12,00	0,32	3,84	0,05	0,01	0,04
12,80	0,34	4,35	0,05	0,01	0,03
13,40	0,35	4,69	0,05	0,01	0,03
14,20	0,38	5,40	0,05	0,01	0,03
15,10	0,40	6,04	0,05	0,01	0,03
15,60	0,41	6,40	0,05	0,01	0,03
16,30	0,43	7,01	0,05	0,01	0,03
21,00	0,56	11,76	0,05	0,01	0,02
22,80	0,61	13,91	0,05	0,01	0,02
25,50	0,68	17,34	0,05	0,01	0,02

Tabella 5. Valori di V, i e P utilizzati per ottenere la variazione della hue della placca con cornice bianca dalla prima all'ultima acquisizione con le relative incertezze.

Riportando in grafico (Figura 23) i valori della *hue* misurati dalla prima all'ultima acquisizione della sequenza ottenuta al variare della temperatura, si osserva un andamento crescente, fino a quando il segnale non raggiunge la condizione di saturazione. In questo caso i fili selezionati sono stati il 13 ed il 14.

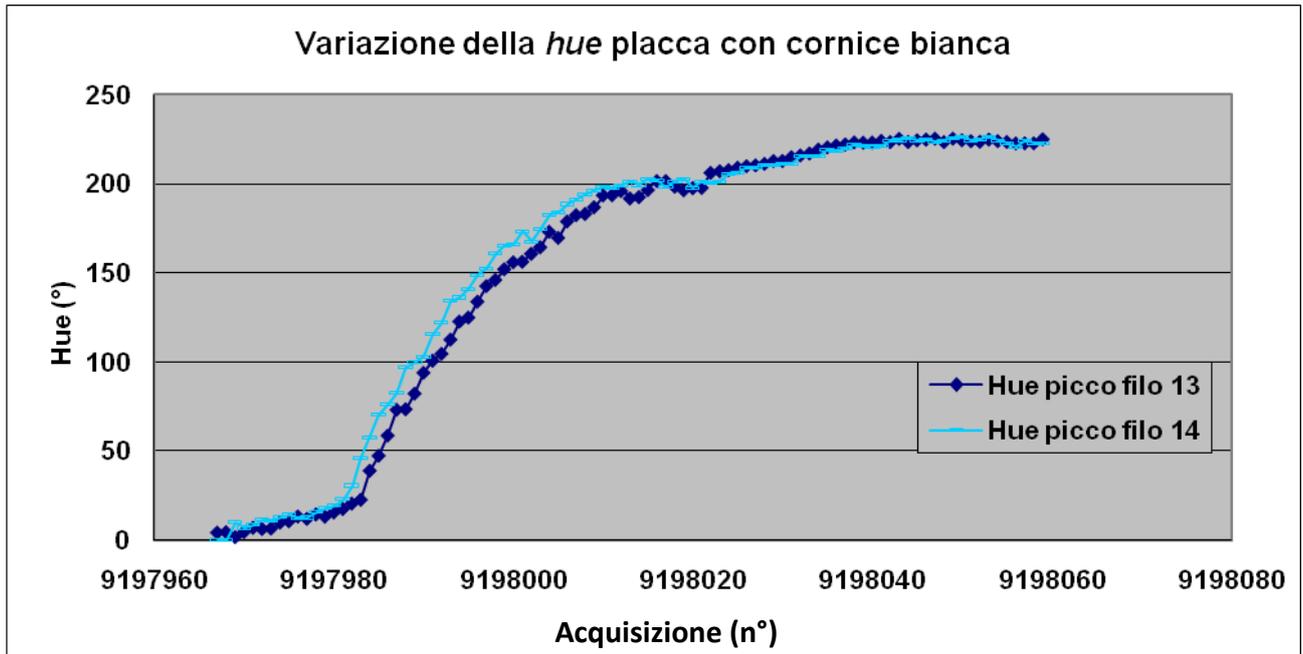


Figura 23. Andamento della *hue* del segnale dei fili 13 e 14 con la placca con cornice bianca. L'errore sulla *hue* è del 2%, ma non è stato riportato perché risulterebbe troppo piccolo da visualizzare.

Per quanto concerne infine la variazione della FWHM del segnale in funzione della temperatura, utilizzando un fattore di conversione mm/pixel di 0,083592, si è ottenuto il grafico in Figura 24, che mostra anche in questo caso un andamento sempre crescente .

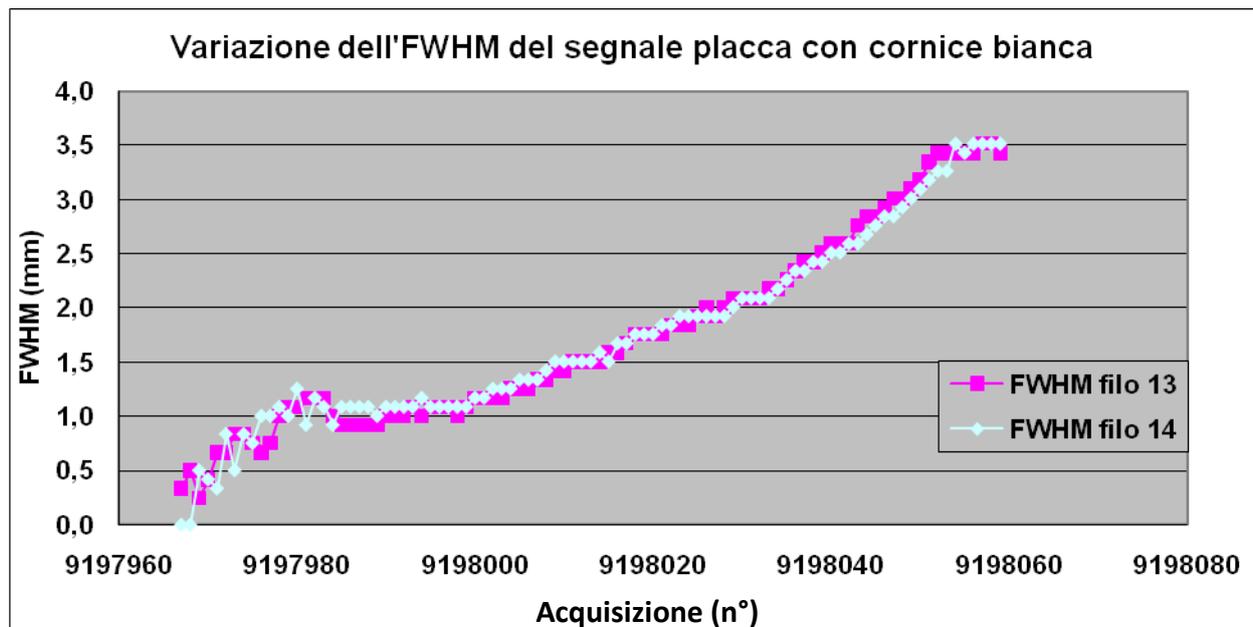


Figura 24. Andamento della FWHM relativo ai fili 13 e 14 per la placca con cornice bianca al variare della temperatura durante la sequenza di acquisizione. L'errore sulla FWHM è dell'ordine di 1 pixel, ma non è stato riportato perché risulterebbe troppo piccolo da visualizzare.

Poiché è nota la risposta della *hue* in funzione della temperatura misurata con la termocamera (Figura 17), la FWHM è stata messa in relazione con la *hue* (Figura 22). Gli errori relativi ad entrambe le misure sono dati dalla deviazioni standard.

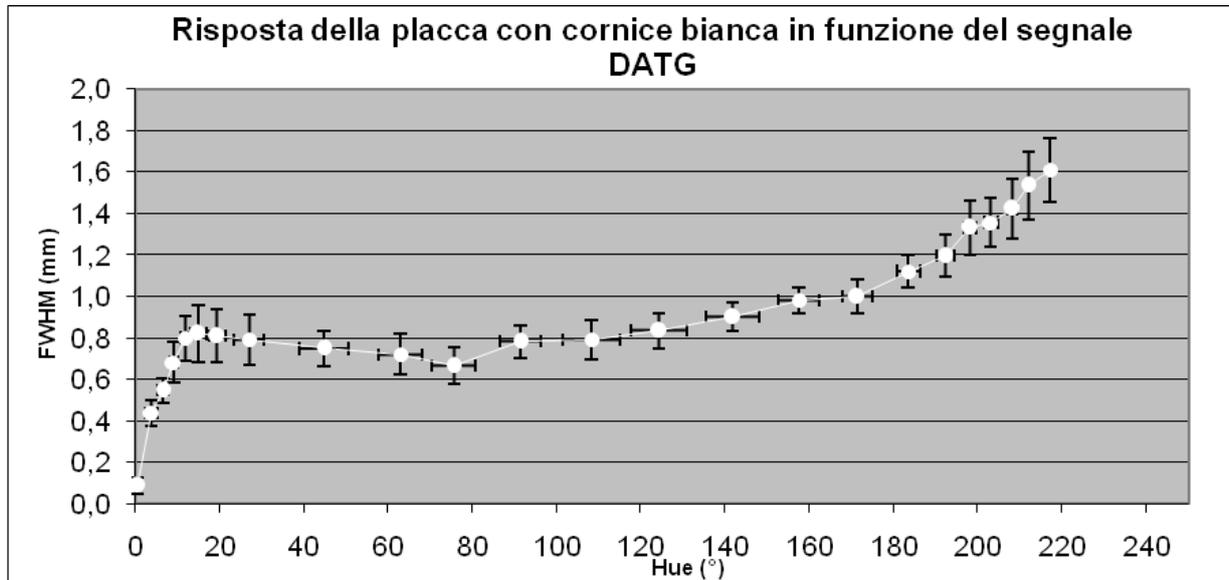


Figura 22. Andamento della FWHM complessiva di tutte le coppie di fili selezionate in funzione della *hue* della placca con cornice bianca.

Si nota come la FWHM cresce prima rapidamente in seguito al riscaldamento iniziale del filo, poi resti costante all'aumentare della *hue* perché la larghezza del segnale per ogni filo mantiene approssimativamente la stessa larghezza mentre si avvicina alla condizione di saturazione che, una volta raggiunta, fa sì che la FWHM aumenti rapidamente tanto che i fili non sono più distinguibili.

2.8.2 Risoluzione della placca con cornice grigia

I dati illustrati di seguito sono riferiti sempre ai fili 13 e 14, ma analizzati con la placca con cornice grigia e con potenziale, corrente e potenza riportati in tabella 6.

Corrente (A)	Tensione (V)	Potenza (W)	Incertezza su <i>i</i>	Incertezza su <i>V</i>	Incertezza su <i>P</i>
0,03	1,30	0,04	0,01	0,05	0,37
0,05	2,30	0,12	0,01	0,05	0,22
0,07	2,80	0,20	0,01	0,05	0,16
0,08	3,20	0,26	0,01	0,05	0,14
0,09	3,80	0,34	0,01	0,05	0,12
0,15	5,50	0,83	0,01	0,05	0,08
0,17	6,50	1,11	0,01	0,05	0,07
0,21	8,00	1,68	0,01	0,05	0,05
0,22	8,60	1,89	0,01	0,05	0,05
0,24	9,10	2,18	0,01	0,05	0,05
0,25	9,50	2,38	0,01	0,05	0,05
0,26	10,10	2,63	0,01	0,05	0,04
0,27	10,50	2,84	0,01	0,05	0,04
0,29	10,90	3,16	0,01	0,05	0,04
0,30	11,60	3,48	0,01	0,05	0,04
0,34	12,80	4,29	0,01	0,05	0,03
0,36	13,90	5,00	0,01	0,05	0,03
0,39	14,90	5,81	0,01	0,05	0,03
0,42	16,00	6,72	0,01	0,05	0,03
0,44	16,80	7,39	0,01	0,05	0,03
0,47	17,70	8,23	0,01	0,05	0,02
0,49	18,65	9,14	0,01	0,05	0,02
0,54	20,40	11,02	0,01	0,05	0,02
0,60	22,50	13,50	0,01	0,05	0,02

Tabella 6. Valori di *V*, *i* e *P* utilizzati per ottenere la variazione della *hue* della placca con cornice grigia dalla prima all'ultima acquisizione con le relative incertezze.

Anche in questo caso la *hue* ha un andamento sempre crescente (Figura 23).

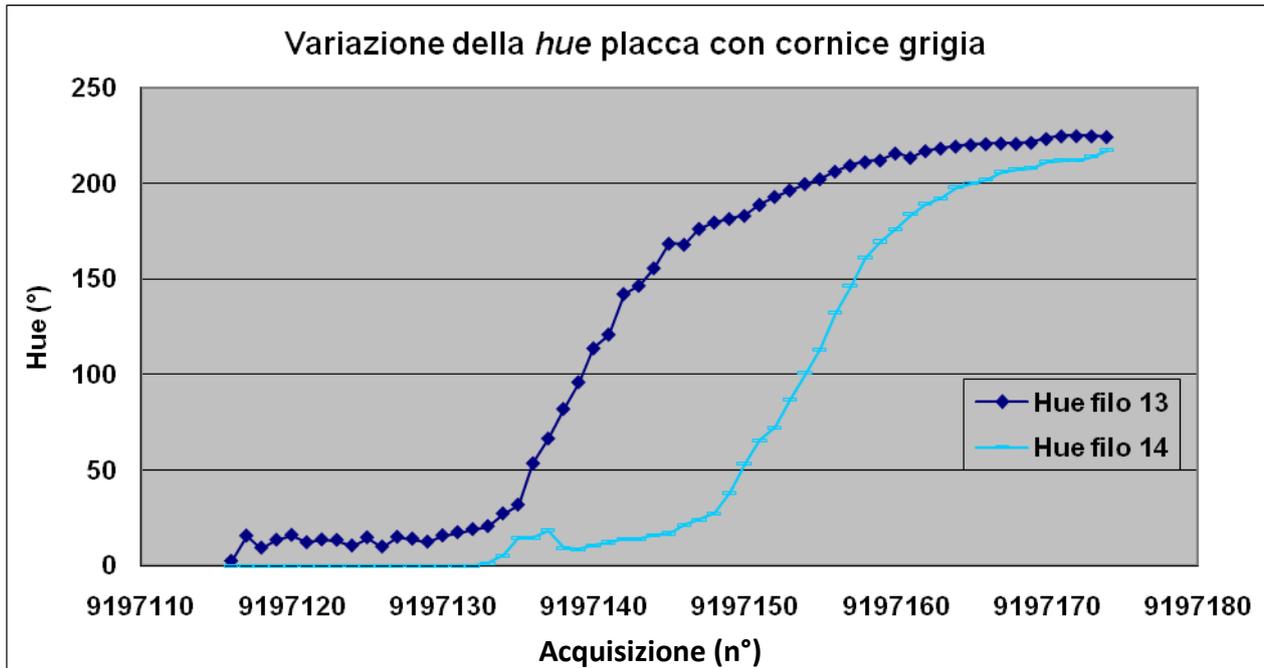


Figura 23. Andamento della hue del segnale dei fili 13 e 14 con la placca con cornice grigia. L'errore sulla hue è del 2%, ma non è stato riportato perché risulterebbe troppo piccolo da visualizzare.

Analogamente, anche la FWHM (ottenuta con un fattore di conversione mm/pixel di 0,083389) cresce linearmente al passare del tempo, cioè nel passaggio da una sequenza alla successiva, come mostrato in figura 24.

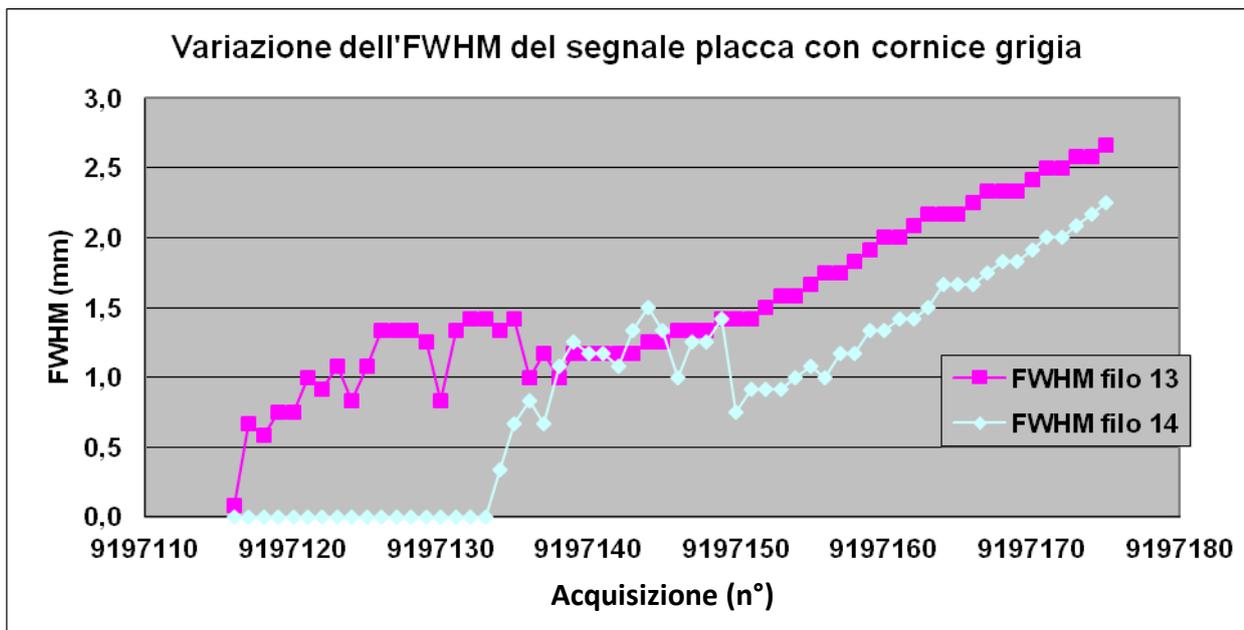


Figura 24. Andamento della FWHM del segnale dei fili 13 e 14 con la placca con cornice grigia. L'errore sulla FWHM è dell'ordine di 1pixel, ma non è stato riportato perché risulterebbe troppo piccolo da visualizzare.

Nel caso della placca con la cornice grigia, si ottiene un andamento simile a quello della placca analizzata precedentemente (Figura 25). Anche in questo caso gli errori sono rappresentati dalle deviazioni standard della FWHM e della *hue*.

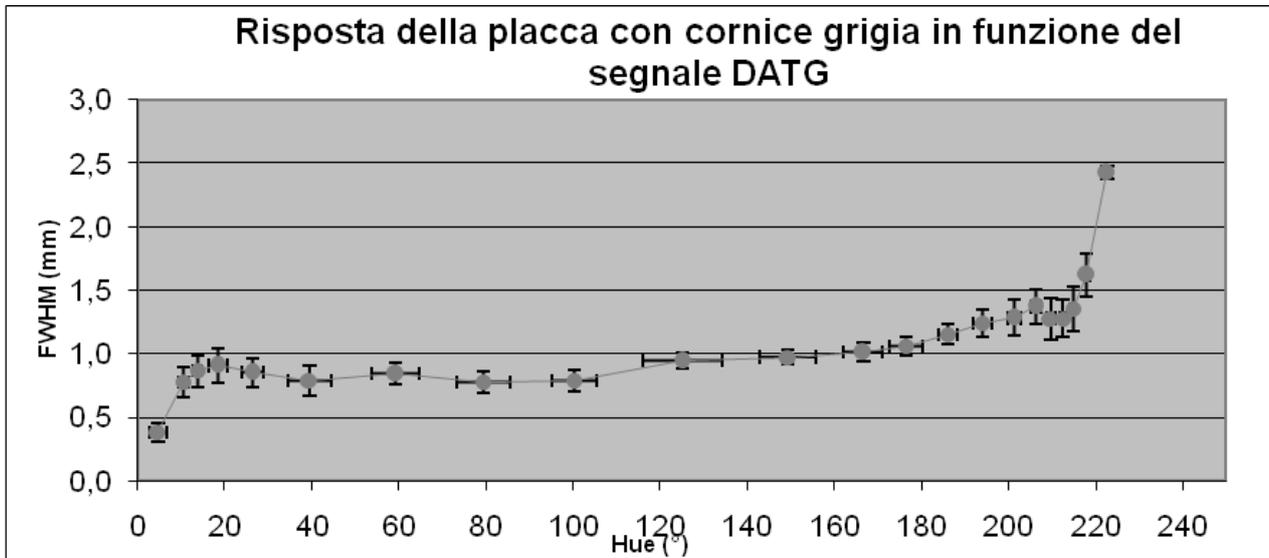


Figura 25. Andamento della FWHM complessiva di tutte le coppie di fili selezionate in funzione della *hue* della placca con cornice grigia.

Si osserva un andamento analogo alla placca precedente con l'aumento iniziale della FWHM, poi il *plateau* e infine di nuovo l'aumento della FWHM. Questo avviene perché l'aumento di temperatura iniziale del filo genera l'allargamento del segnale sulla placca e dunque della FWHM, successivamente rimane costante all'aumentare della *hue* finché la FWHM non aumenta al punto da confondere i segnali di due fili adiacenti, raggiungendo al termine la saturazione.

2.8.3 Risoluzione della placca con cornice nera

Infine, anche per la valutazione della risoluzione della placca con cornice nera sono stati presi in analisi i segnali relativi ai fili 13 e 14, utilizzando valori di potenziale, intensità di corrente e potenza dati dalla tabella 7.

Corrente (A)	Tensione (V)	Potenza (W)	Incertezza su <i>i</i>	Incertezza su <i>V</i>	Incertezza su <i>P</i>
0,14	5,3	0,74	0,01	0,05	0,08
0,17	6,6	1,12	0,01	0,05	0,07
0,19	7,5	1,43	0,01	0,05	0,06
0,21	8,3	1,74	0,01	0,05	0,05
0,23	9,0	2,07	0,01	0,05	0,05
0,26	10,1	2,63	0,01	0,05	0,04
0,27	10,6	2,86	0,01	0,05	0,04
0,29	11,3	3,28	0,01	0,05	0,04
0,31	11,8	3,66	0,01	0,05	0,04
0,32	12,4	3,97	0,01	0,05	0,04
0,35	13,3	4,66	0,01	0,05	0,03
0,37	14,1	5,22	0,01	0,05	0,03
0,43	16,1	6,92	0,01	0,05	0,03
0,44	16,6	7,30	0,01	0,05	0,03
0,45	17,1	7,70	0,01	0,05	0,03
0,47	17,5	8,23	0,01	0,05	0,02
0,48	18,1	8,69	0,01	0,05	0,02
0,50	18,8	9,40	0,01	0,05	0,02
0,53	19,8	10,49	0,01	0,05	0,02
0,59	22,1	13,04	0,01	0,05	0,02
0,60	22,3	13,38	0,01	0,05	0,02

Tabella 7. Valori di V, i e P utilizzati per ottenere la variazione della hue della placca con cornice nera dalla prima all'ultima acquisizione con le relative incertezze.

Anche in tal caso si osserva che l'andamento della hue risulta essere crescente (Figura 26).

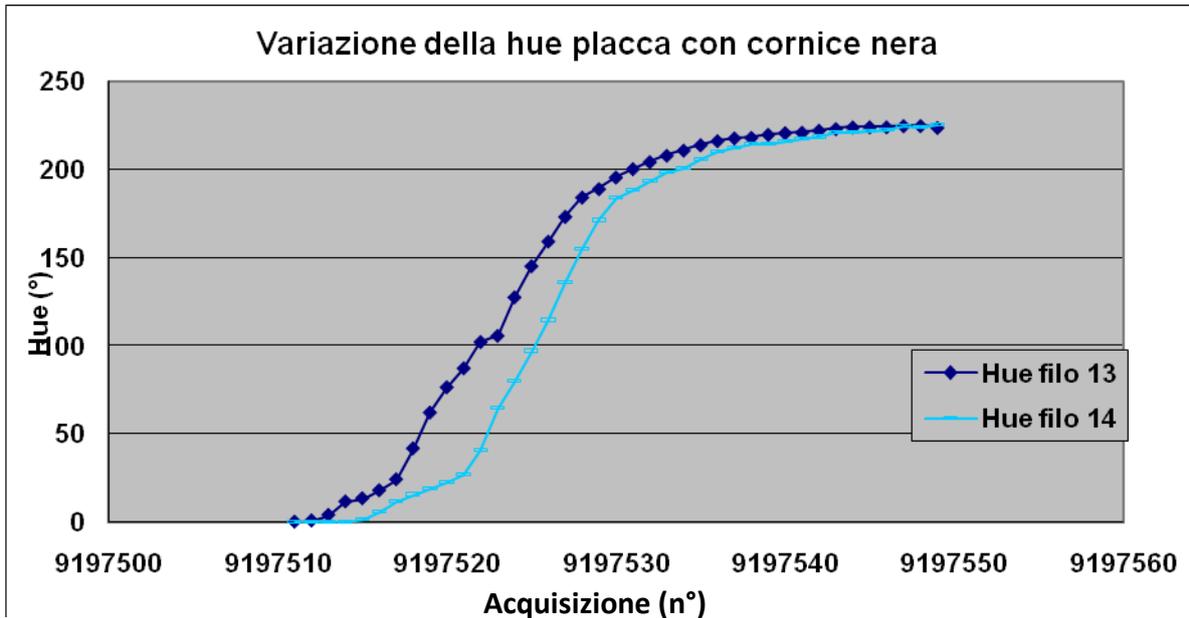


Figura 26. Andamento della hue del segnale dei fili 13 e 14 con la placca con cornice nera. L'errore sulla hue è del 2%, ma non è stato riportato perché risulterebbe troppo piccolo da visualizzare.

Così come per le altre placche, la FWHM del segnale mostra un andamento crescente, da una sequenza alla successiva (Figura 27).

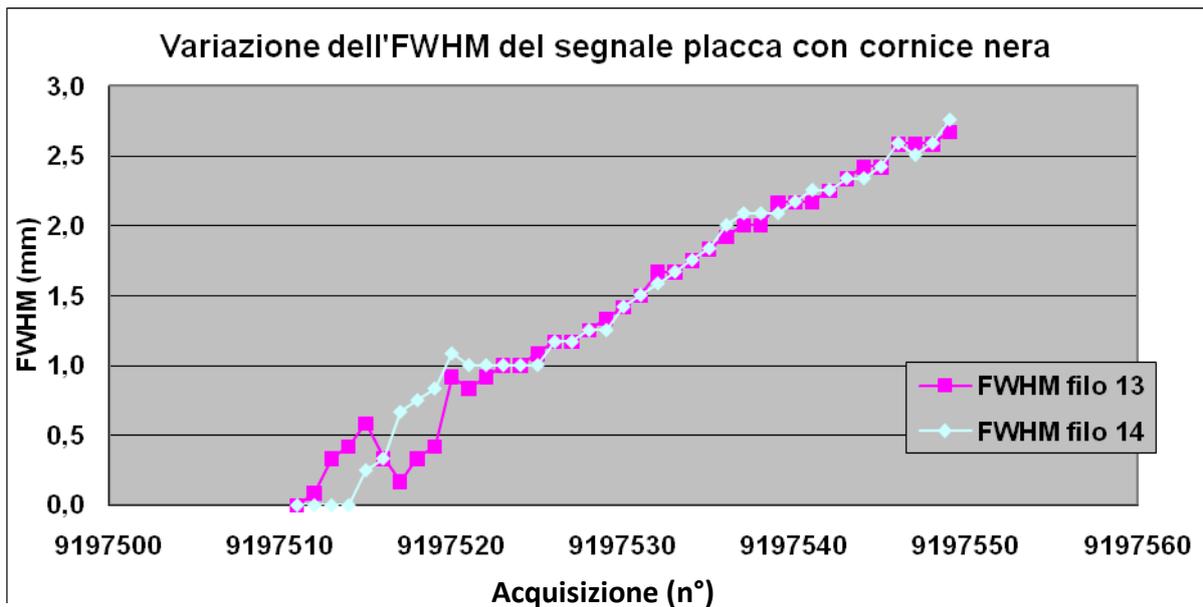


Figura 27. Andamento della FWHM del segnale dei fili 13 e 14 con la placca con cornice nera. L'errore sulla FWHM è dell'ordine di 1mm, ma non è stato riportato perché risulterebbe troppo piccolo da visualizzare.

Il fattore di conversione mm/pixel calcolato per quest'ultima placca è di 0,083486 e l'andamento della FWHM rimane analogo ai primi due (Figura 28).

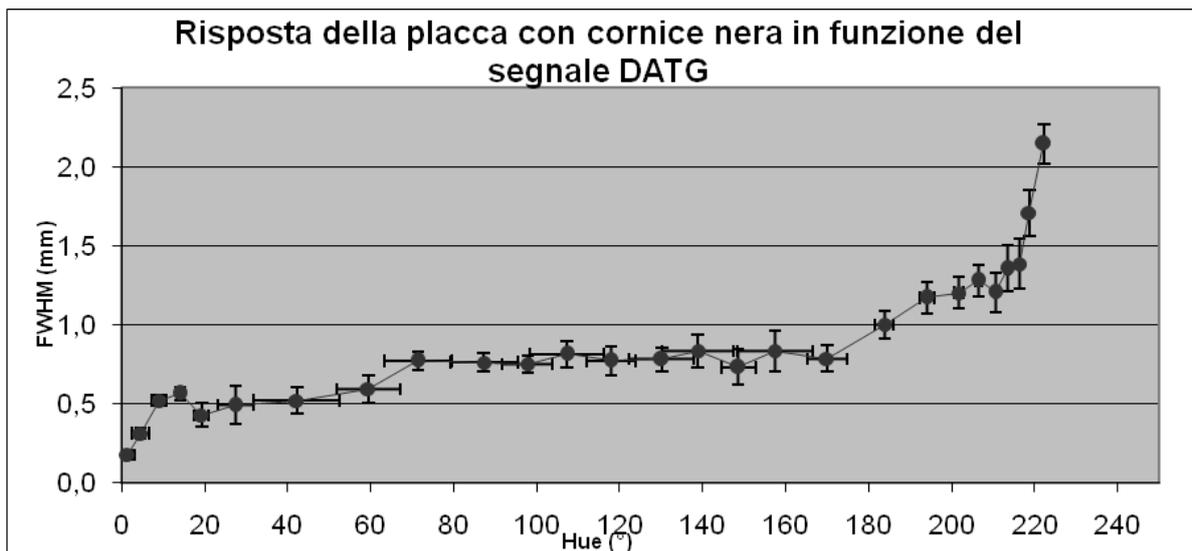


Figura 28. Andamento della FWHM complessiva di tutte le coppie di fili selezionate in funzione della *hue* della placca con cornice nera.

2.9 Risposta del sistema

Dopo aver visto come si comporta la FWHM all'aumentare della *hue*, sono state riportate in un unico grafico le curve relative ai valori della FWHM in funzione della temperatura (Figura 29).

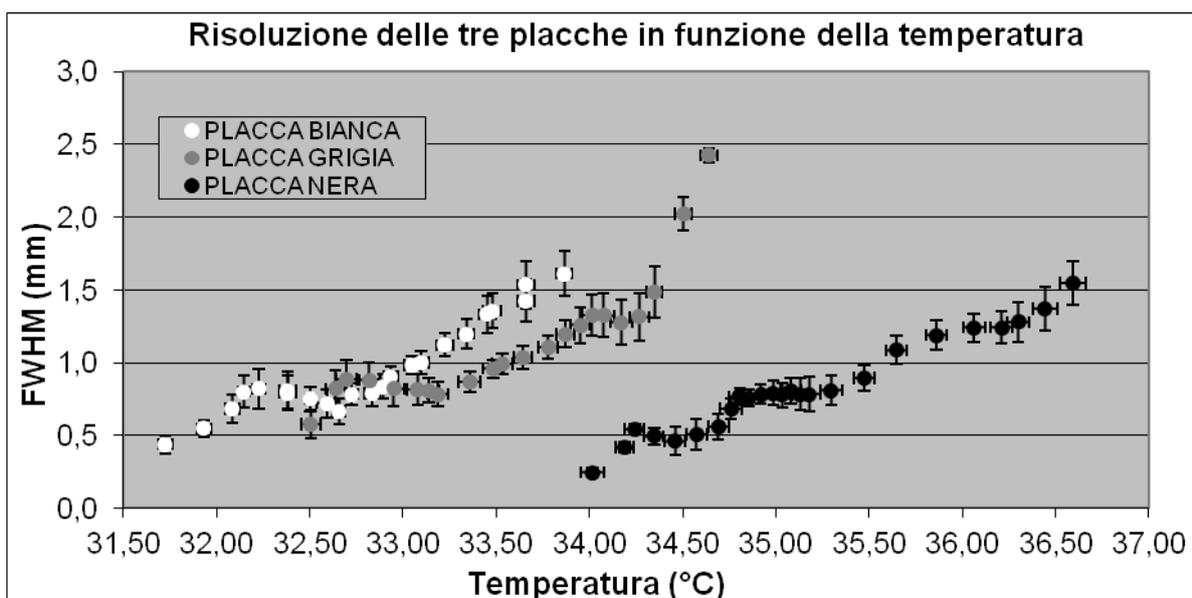


Figura 29. Confronto delle FWHM delle tre placche.

Dall'analisi del grafico si osserva che:

- placca con cornice bianca: è in grado di rilevare oggetti di dimensioni minime comprese tra 0,50 mm e 1,50 mm, per temperature che vanno da 31,5 °C a 34,0 °C;

- placca con cornice grigia: ha una risoluzione che va da 0,50 mm a 2,50 mm, a temperature che oscillano tra i 32,5 e i 34,5 °C;

- placca con cornice nera: mostra oggetti di dimensioni minime comprese tra 0,25 mm e 1,50 mm a temperature dell'ordine di 34,0-36,6 °C.

In altre parole, ciò che si osserva è che le prime due placche danno una risposta che è molto simile sia in termini di risoluzione che di range di temperatura, anche se la placca con cornice grigia è meno sensibile e risponde a temperature leggermente più alte. Invece, per quanto riguarda la placca nera, si è avuta un'ulteriore conferma del fatto che risponde in un range di temperature più alto di circa 2-3 °C, che è infatti quanto ci aspettavamo poiché questa è la placca meno sensibile, usata per temperature più alte.

Capitolo 3.

Studio tridimensionale della DATG

In questa terza parte del lavoro di ricerca, si vuole studiare un metodo per ricostruire, anche in prima approssimazione, la distribuzione tridimensionale della vascolarizzazione della mammella elaborando una sequenza di immagini DATG. A tal fine è necessario studiare la relazione fra profondità del segnale e contributo temporale all'immagine nella sequenza dinamica. Si partirà dunque dalla Legge del trasporto del calore di Fourier, si studierà la geometria del sistema e si elaboreranno le immagini sulla base delle caratteristiche del sistema analizzate nel capitolo precedente.

3.1 Legge del trasporto del calore di Fourier

Dato il flusso termico q''_x attraverso una ipotetica superficie isoterma A , è possibile scrivere la Legge di Fourier sulla conduzione del calore, data dalla relazione

$$q''_x = q_x/A = -k \frac{dT}{dx} \quad (4)$$

in cui x è la normale ad A e la costante di proporzionalità k è una proprietà del trasporto del calore che prende il nome di conducibilità termica e si misura in $[W/(mK)]$. Il segno meno è dovuto al fatto che il calore è trasferito nella direzione in cui la temperatura T diminuisce.

La precedente relazione fa riferimento alla diffusione del calore in un'unica direzione. Nel caso in cui si analizzi un sistema tridimensionale, la legge diventa

$$\vec{q}'' = -k \nabla T = -k \left(\vec{i} \frac{\partial T}{\partial x} + \vec{j} \frac{\partial T}{\partial y} + \vec{k} \frac{\partial T}{\partial z} \right) \quad (5)$$

dove ∇T è il gradiente della temperatura. Lungo una generica direzione $\vec{n} = (\vec{i}, \vec{j}, \vec{k})$, la (4) può essere riscritta nella forma:

$$\vec{q}''_n = q''_x \vec{i} + q''_y \vec{j} + q''_z \vec{k}, \quad (3)$$

in cui

$$q_x'' = -kA_x \frac{\partial T}{\partial x} \quad (6)$$

$$q_y'' = -kA_y \frac{\partial T}{\partial y} \quad (7)$$

$$q_z'' = -kA_z \frac{\partial T}{\partial z} \quad (8)$$

e A_x , A_y , A_z rappresentano le aree unitarie perpendicolari, rispettivamente, agli assi x, y e z.

3.2 Metodo del fattore di forma conduttivo

Poiché la soluzione dell'equazione di Fourier è alquanto complessa e presuppone la conoscenza di molte variabili, in applicazioni pratiche si ricorre spesso al metodo del fattore di forma conduttivo. Dato un sistema bidimensionale, nel quale il calore viene trasmesso da un elemento a temperatura costante T_1 ad un mezzo a temperatura costante T_2 , la potenza termica scambiata dipende solo dalla differenza di temperatura ($T_1 - T_2$), dalla conducibilità termica k del mezzo attraverso il quale avviene lo scambio termico e dalla forma geometrica del sistema. Vale dunque la relazione:

$$W_T = kS(T_1 - T_2) \quad (9)$$

dove S è il fattore di forma conduttivo e dipende solo dalla geometria del sistema. Il fattore di forma conduttivo è ben noto in letteratura per diverse geometrie [58].

3.3 Schematizzazione della geometria della vascolarizzazione della mammella

Quando acquisiamo una sequenza temporale d'immagini DATG, dopo aver raffreddato la mammella o aver avviato il riscaldamento del filo nel fantoccio, le immagini all'istante generico t rappresentano l'integrazione del segnale termico rilevato in superficie fino a quel momento. Quindi, se riusciamo invertire l'informazione temporale in spaziale, possiamo localizzare la profondità z da cui proviene il segnale punto per punto, nota la dinamica di acquisizione della sequenza. Ciò che stiamo cercando quindi è una relazione fra la profondità z da cui proviene il segnale e il momento della sua comparsa nella sequenza di immagini. Al fine di studiare questa relazione, si schematizza la complessa geometria della vascolarizzazione come un tubicino a temperatura T_1 immerso a profondità z in un mezzo infinito a temperatura T_2 come da Figura 30.

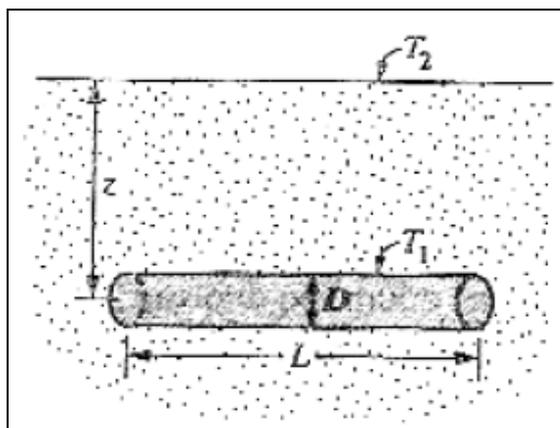


Figura 30. Rappresentazione schematica della geometria della vascolarizzazione [58].

In letteratura il fattore di forma conduttivo per questo tipo di geometria è ben noto e vale:

$$S = \frac{2\pi L}{\ln(4z/D)} \quad (10)$$

dove L rappresenta la lunghezza del cilindro e D il diametro, purché $L \gg D$ e $z > 3D/2$.

Pur sapendo che tale schematizzazione è assolutamente approssimativa, in quanto la geometria del sistema che vogliamo studiare è decisamente più complessa, e che in realtà anche L e D sono funzioni dello spazio (x,y,z) , dalle precedenti considerazioni si ipotizza che esista una relazione esponenziale fra profondità z del segnale e tempo di acquisizione t . Si vuole quindi usare questa relazione per proiettare il segnale acquisito in una sequenza temporale alla giusta profondità.

3.4 Ricostruzione tridimensionale

Nota la relazione tra la *hue* e la temperatura, sulla base delle ipotesi fatte, è possibile ricavare le immagini in 3D dei *pattern* di vascolarizzazione ricorrendo ad opportuni algoritmi per l'elaborazione di immagini digitali. Le immagini sono state ricavate in modalità dinamica, cioè da quando ancora la placca non era stata poggiata sul seno fino a quando l'immagine si era formata in modo ben definito, su una donna sottoposta a DATG che non presentava alcuna patologia.

Nota la forma bidimensionale dei vasi sanguigni dalle immagini DATG in superficie, si è cercato di ricavarne matematicamente la profondità z_f partendo dalla relazione:

$$z_f = A + e^{k\Delta t} \quad (11)$$

in cui A e k sono delle costanti e Δt è l'intervallo di tempo tra una sequenza e l'altra. Graficando la (11) si osserva, ovviamente, un andamento esponenziale crescente (Figura 31) in cui è evidente come ad intervalli temporali minori corrispondano intervalli spaziali di profondità maggiori (ad esempio si osservi l'andamento degli intervalli in Figura 31 per cui $\Delta t_f < \Delta t$ in corrispondenza di $\Delta z_f > \Delta z$). Questo comportamento è tipico della formazione delle immagini DATG.

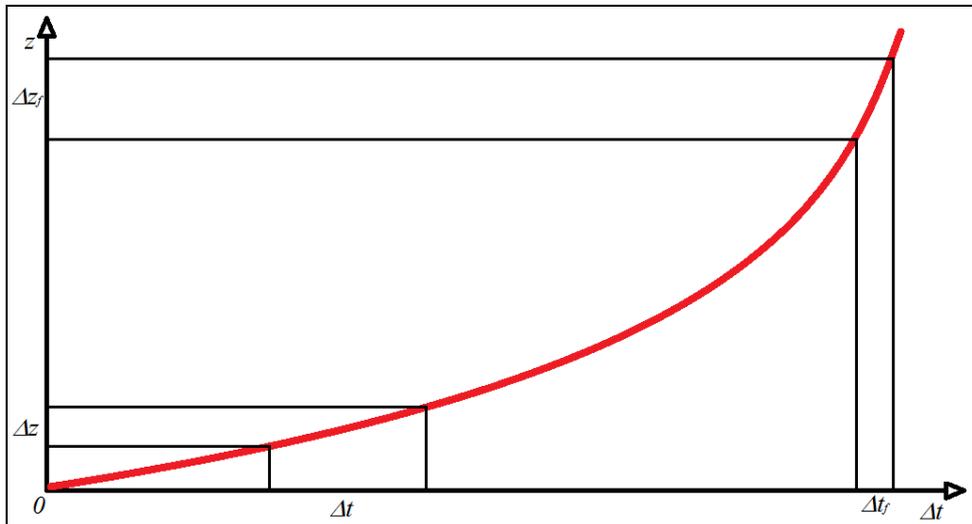


Figura 31. Esempio di relazione esponenziale fra profondità e intervallo di tempo.

Si ricordi che le immagini DATG ad un tempo qualsiasi t sono naturalmente acquisite come integrazione del segnale nel tempo fino a quel momento. Per questo motivo è necessario isolare il contributo temporale all'immagine effettuando una sottrazione tra l'immagine al tempo t e la sua precedente. In questo modo indicheremo con Δt il tempo tra l'istante t qualsiasi e l'istante di inizio di acquisizione e di conseguenza l'immagine al tempo Δt sarà l'immagine differenza fra l'immagine al tempo t e la sua precedente al tempo $t-1$.

Riassumendo, data una sequenza I di immagini DATG esse riproducono un segnale termico noto nelle due dimensioni x,y e sono note per tempi dall'istante iniziale $t=0$ all'istante finale t_f in cui l'acquisizione è terminata poiché non vi era più alcun contributo alla formazione dell'immagine, vale:

$$I=I(x,y,z=0,t) \text{ con } t=0,\dots,t_f \quad (12)$$

Allora, per quanto detto sopra, la sequenza da cui possiamo ricavare le informazioni spaziali in profondità diventa:

$$I' = I'(x, y, z = 0, \Delta t) = \begin{cases} \text{se } I(x, y, 0, t) - I(x, y, 0, t-1) \geq 0 & I(x, y, 0, t) - I(x, y, 0, t-1) \\ \text{altrimenti} & 0 \end{cases} \quad (13)$$

dove $\Delta t = 0, \dots, t_f - 1$.

Ora se utilizzassimo la relazione (11) per ricavare la profondità a cui proiettare il segnale, dato che Δt è equicampionato fra 0 e $t_f - 1$ e che la relazione è esponenziale, otterremmo delle immagini proiettate a z sempre diversi e via via più profondi. Per ovviare a tale problema, come comunemente si fa in elaborazione di immagini (per esempio per la rotazione), si ricorre alla relazione inversa e si costruiscono le immagini alle profondità z_f scelte ed equicampionate, andando a ricercare il contributo dell'immagine $I'(x, y, 0, \Delta t)$ ed interpolando fra due immagini.

Quindi, per poter determinare Δt è necessario riscrivere la (11) nella forma:

$$z_f - A = e^{k\Delta t} \Rightarrow \ln(z_f - A) = k\Delta t \Rightarrow \Delta t = \frac{\ln(z_f - A)}{k} \quad (14)$$

dove k e A sono ipotizzate costanti. Per ricavare k e A si impongono le seguenti condizioni al contorno che rappresentano, rispettivamente, il caso della superficie del seno e della profondità \bar{z} massima rilevabile al suo interno:

$$z_f = 0 \Rightarrow \Delta t = 0 \quad (15)$$

$$z_f = \bar{z} \Rightarrow \Delta t = \bar{\Delta t} \quad (16)$$

da cui seguono

$$0 = A + e^{k \cdot 0} = A + 1 \Rightarrow A = -1 \quad (17)$$

e

$$\bar{z} = -1 + e^{k\bar{\Delta t}} \Rightarrow e^{k\bar{\Delta t}} = \bar{z} + 1 \Rightarrow k\bar{\Delta t} = \ln(\bar{z} + 1) \Rightarrow k = \frac{\ln(\bar{z} + 1)}{\bar{\Delta t}}. \quad (18)$$

Ora possiamo ricavare le immagini Z_{slice} a varie profondità in base al contributo temporale dell'immagine $I'(x, y, 0, \Delta t)$ corrispondente al Δt calcolato tramite la (14). Inoltre è necessario scegliere un passo Δz tale da non utilizzare mai due volte le stesse immagini $I'(x, y, 0, \Delta t)$ per ricavare le informazioni in z . Ovviamente, dalla (14) si ottiene un valore di Δt che corrisponde ad un numero di immagine I_{float} che non è un intero, ma che cadrà tra due immagini $I_{\Delta t \text{ prec}}$ e $I_{\Delta t \text{ succ}}$, quindi dobbiamo ricorrere all'interpolazione con due pesi dA e dB . Dato $d = I_{\text{float}} - \text{INTERO}(I_{\text{float}})$, si definiscono dA e dB come segue:

$$\begin{cases} dA = 1 - d \\ dB = d \end{cases} \quad (19)$$

Infine, l'immagine Z_{slice} corrispondente alla generica profondità z_f sarà data dalla relazione

$$z_{slice}(z_f)(x, y) = I_{\Delta t_{prec}}(x, y) \cdot dA + I_{\Delta t_{succ}}(x, y) \cdot dB \quad (20)$$

dove $dA + dB = 1$.

3.5 Prove sperimentali di ricostruzione tridimensionale

3.5.1 Ricostruzione tridimensionale del segnale del filo del fantoccio

Per questo esperimento abbiamo utilizzato il fantoccio quadrato già impiegato per le elaborazioni del paragrafo 2.7. Non è stato utilizzato per questa elaborazione tutto il fantoccio, ma solo le immagini ritagliate relative ad una certa porzione di filo (si veda Figura 32) per ragioni di dimensioni delle immagini da elaborare.



Figura 32. Porzione di filo del fantoccio quadrato che si vuole ricostruire tridimensionalmente.

La prima sequenza è stata ricavata appoggiando il fantoccio a temperatura ambiente sulla placca bianca e fornendo corrente al filo tramite il generatore. La sequenza è stata acquisita per 100 secondi a una frequenza di 3 Hz da cui si ricavano 297 immagini. Si ipotizza che il massimo segnale provenga da una profondità di 2 cm. È possibile ricostruire 100 immagini con un Δz di 0,02 cm. Dalla (14) si ottengono le varie profondità e le immagini $I'(x,y,0,\Delta t)$ da cui ricavare il segnale. I dati relativi a questa acquisizione vengono riportati nella tabella 8 e in Figura 33 è mostrata una parte delle immagini acquisite. Le immagini Z_{slice} ottenute sono state inserite in un programma per il *rendering*, le immagini tridimensionali ottenute sono riportate nelle Figure 34 e 35.

Z (numero di slice)	Z_r	Δt (sec)	Immagine corrispondente a Δt I_{float}	d (intero di I_{float})	dA	dB	Immagine precedente $I_{\Delta t \text{ prec}}$	Immagine successiva $I_{\Delta t \text{ succ}}$
1	0.02	1.80	5.35	5	0.65	0.35	0	1
2	0.04	3.57	10.60	10	0.40	0.60	5	6
3	0.06	5.30	15.75	15	0.25	0.75	10	11
4	0.08	7.01	20.81	20	0.19	0.81	15	16
5	0.10	8.68	25.77	25	0.23	0.77	20	21
6	0.12	10.32	30.64	30	0.36	0.64	25	26
7	0.14	11.93	35.42	35	0.58	0.42	30	31
8	0.16	13.51	40.12	40	0.88	0.12	35	36
9	0.18	15.07	44.75	44	0.25	0.75	39	40
10	0.20	16.60	49.29	49	0.71	0.29	44	45
11	0.22	18.10	53.76	53	0.24	0.76	48	49
12	0.24	19.58	58.15	58	0.85	0.15	53	54
13	0.26	21.04	62.48	62	0.52	0.48	57	58
14	0.28	22.47	66.74	66	0.26	0.74	61	62
15	0.30	23.88	70.93	70	0.07	0.93	65	66
16	0.32	25.27	75.06	75	0.94	0.06	70	71
17	0.34	26.64	79.12	79	0.88	0.12	74	75
18	0.36	27.99	83.13	83	0.87	0.13	78	79
19	0.38	29.32	87.07	87	0.93	0.07	82	83
20	0.40	30.63	90.96	90	0.04	0.96	85	86
21	0.42	31.92	94.80	94	0.20	0.80	89	90
22	0.44	33.19	98.58	98	0.42	0.58	93	94
23	0.46	34.45	102.31	102	0.69	0.31	97	98
24	0.48	35.69	105.99	105	0.01	0.99	100	101
25	0.50	36.91	109.61	109	0.39	0.61	104	105
26	0.52	38.11	113.19	113	0.81	0.19	108	109
27	0.54	39.30	116.73	116	0.27	0.73	111	112
28	0.56	40.48	120.22	120	0.78	0.22	115	116
29	0.58	41.64	123.66	123	0.34	0.66	118	119
30	0.60	42.78	127.06	127	0.94	0.06	122	123
31	0.62	43.91	130.42	130	0.58	0.42	125	126
32	0.64	45.03	133.74	133	0.26	0.74	128	129
33	0.66	46.13	137.01	137	0.99	0.01	132	133
34	0.68	47.22	140.25	140	0.75	0.25	135	136
35	0.70	48.30	143.45	143	0.55	0.45	138	139
36	0.72	49.36	146.61	146	0.39	0.61	141	142
37	0.74	50.42	149.74	149	0.26	0.74	144	145
38	0.76	51.46	152.83	152	0.17	0.83	147	148
39	0.78	52.49	155.88	155	0.12	0.88	150	151
40	0.80	53.50	158.90	158	0.10	0.90	153	154

Tabella 8. Parametri relativi alla ricostruzione tridimensionale del filo riscaldato. (segue nella prossima pagina)

Z (numero di slice)	Z _r	Δt (sec)	Immagine corrispondente a Δt I _{float}	d (intero di I _{float})	dA	dB	Immagine precedente I _{Δt prec}	Immagine successiva I _{Δt succ}
41	0.82	54.51	161.89	161	0.11	0.89	156	157
42	0.84	55.50	164.84	164	0.16	0.84	159	160
43	0.86	56.49	167.77	167	0.23	0.77	162	163
44	0.88	57.46	170.66	170	0.34	0.66	165	166
45	0.90	58.42	173.52	173	0.48	0.52	168	169
46	0.92	59.38	176.35	176	0.65	0.35	171	172
47	0.94	60.32	179.15	179	0.85	0.15	174	175
48	0.96	61.25	181.92	181	0.08	0.92	176	177
49	0.98	62.18	184.67	184	0.33	0.67	179	180
50	1.00	63.09	187.39	187	0.61	0.39	182	183
51	1.02	64.00	190.08	190	0.92	0.08	185	186
52	1.04	64.90	192.74	192	0.26	0.74	187	188
53	1.06	65.78	195.38	195	0.62	0.38	190	191
54	1.08	66.66	197.99	197	0.01	0.99	192	193
55	1.10	67.53	200.58	200	0.42	0.58	195	196
56	1.12	68.40	203.14	203	0.86	0.14	198	199
57	1.14	69.25	205.68	205	0.32	0.68	200	201
58	1.16	70.10	208.19	208	0.81	0.19	203	204
59	1.18	70.94	210.68	210	0.32	0.68	205	206
60	1.20	71.77	213.15	213	0.85	0.15	208	209
61	1.22	72.59	215.60	215	0.40	0.60	210	211
62	1.24	73.41	218.02	218	0.98	0.02	213	214
63	1.26	74.22	220.43	220	0.57	0.43	215	216
64	1.28	75.02	222.81	222	0.19	0.81	217	218
65	1.30	75.82	225.17	225	0.83	0.17	220	221
66	1.32	76.60	227.51	227	0.49	0.51	222	223
67	1.34	77.38	229.83	229	0.17	0.83	224	225
68	1.36	78.16	232.13	232	0.87	0.13	227	228
69	1.38	78.93	234.41	234	0.59	0.41	229	230
70	1.40	79.69	236.68	236	0.32	0.68	231	232
71	1.42	80.44	238.92	238	0.08	0.92	233	234
72	1.44	81.19	241.14	241	0.86	0.14	236	237
73	1.46	81.94	243.35	243	0.65	0.35	238	239
74	1.48	82.67	245.54	245	0.46	0.54	240	241
75	1.50	83.40	247.71	247	0.29	0.71	242	243
76	1.52	84.13	249.87	249	0.13	0.87	244	245
77	1.54	84.85	252.00	252	1.00	0.00	247	248
78	1.56	85.56	254.12	254	0.88	0.12	249	250
79	1.58	86.27	256.23	256	0.77	0.23	251	252
80	1.60	86.97	258.31	258	0.69	0.31	253	254
81	1.62	87.67	260.39	260	0.61	0.39	255	256
82	1.64	88.36	262.44	262	0.56	0.44	257	258
83	1.66	89.05	264.48	264	0.52	0.48	259	260
84	1.68	89.73	266.51	266	0.49	0.51	261	262
85	1.70	90.41	268.52	268	0.48	0.52	263	264
86	1.72	91.08	270.51	270	0.49	0.51	265	266
87	1.74	91.75	272.49	272	0.51	0.49	267	268
88	1.76	92.41	274.46	274	0.54	0.46	269	270
89	1.78	93.07	276.41	276	0.59	0.41	271	272
90	1.80	93.72	278.35	278	0.65	0.35	273	274
91	1.82	94.37	280.27	280	0.73	0.27	275	276
92	1.84	95.01	282.18	282	0.82	0.18	277	278
93	1.86	95.65	284.08	284	0.92	0.08	279	280
94	1.88	96.28	285.96	285	0.04	0.96	280	281
95	1.90	96.91	287.83	287	0.17	0.83	282	283
96	1.92	97.54	289.69	289	0.31	0.69	284	285
97	1.94	98.16	291.54	291	0.46	0.54	286	287
98	1.96	98.78	293.37	293	0.63	0.37	288	289
99	1.98	99.39	295.19	295	0.81	0.19	290	291

Tabella 8. Parametri relativi alla ricostruzione tridimensionale del filo riscaldato. (continua dalla pagina precedente)

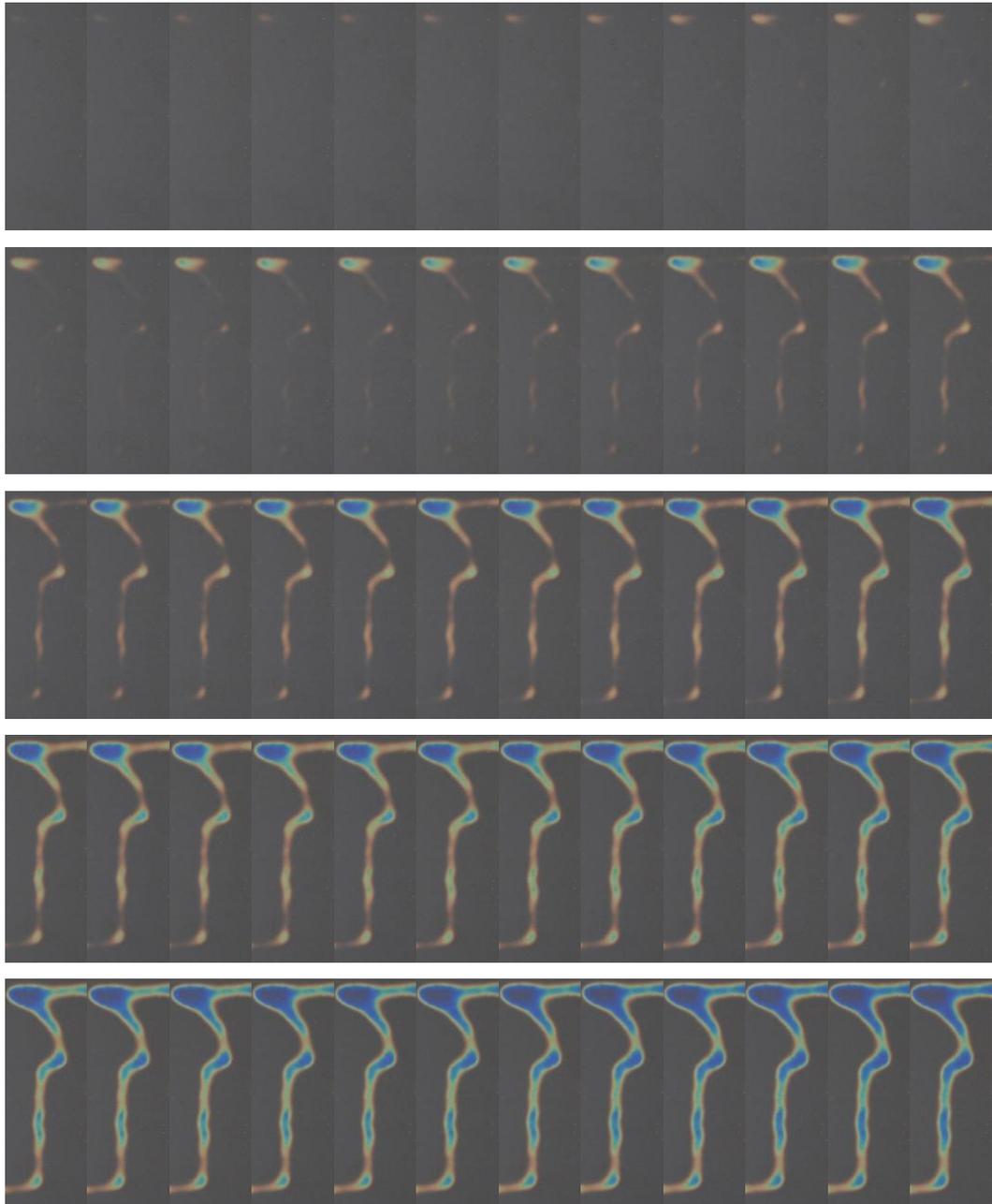


Figura 33. Sequenza dinamica delle immagini DATG acquisite per il filo riscaldato. L'intera sequenza era di 100 immagini, vengono qui mostrati i fotogrammi acquisiti ogni 5 immagini.

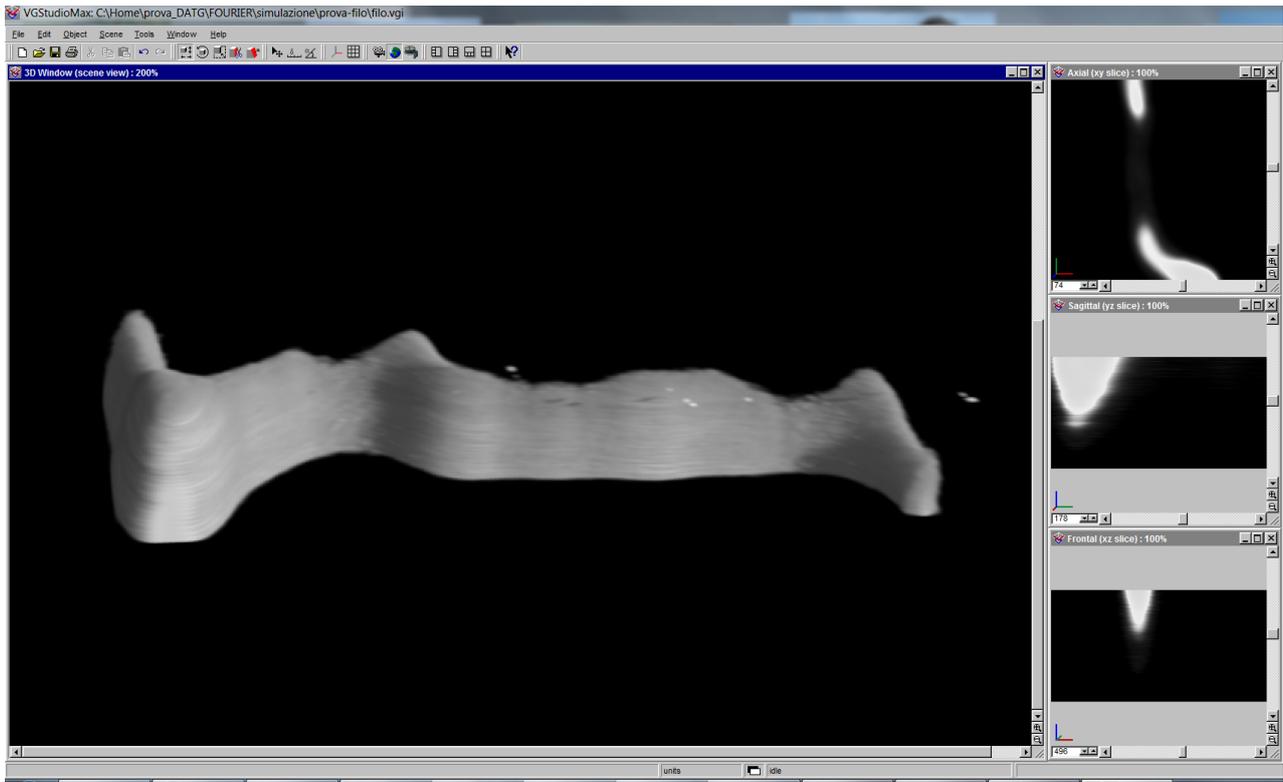


Figura 34. Ricostruzione tridimensionale della sequenza dinamica del segnale del filo riscaldato visualizzata lateralmente.

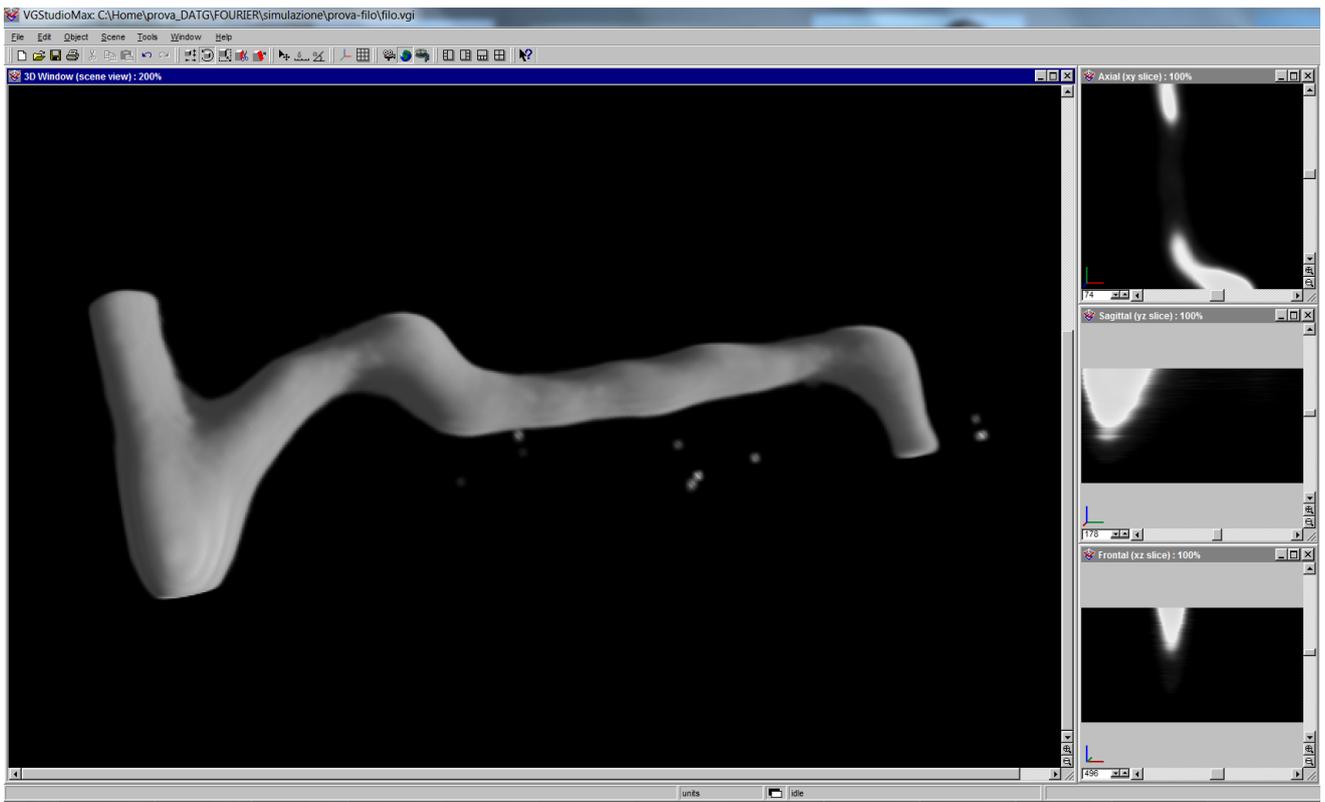


Figura 35. Ricostruzione tridimensionale del segnale del filo riscaldato della sequenza dinamica visualizzata dall'alto.

3.5.2 Ricostruzione tridimensionale della vascolarizzazione del seno ricavata *in vivo*

La seconda sequenza è stata ricavata *in vivo* su paziente giovane senza alcuna patologia e raffreddando il seno prima di appoggiarvi la placca grigia. La sequenza è stata acquisita per 9 secondi a una frequenza di 3 Hz da cui si ricavano 29 immagini. Si ipotizza che il massimo segnale provenga da una profondità di 2 cm. È possibile ricostruire 40 immagini con un Δz di 0.05 cm. Dalla (12) si ricavano le varie profondità e le immagini $I'(x,y,0,\Delta t)$ da cui ricavare il segnale. I dati relativi a questa acquisizione vengono riportati nella tabella 9 e in Figura 36 è riportata l'intera sequenza acquisita. Le immagini Z_{slice} ottenute sono state inserite in un programma per il *rendering*, un esempio di ricostruzione tridimensionale è riportato in Figura 37.

Z (numero di slice)	Z_r	Δt (sec)	Immagine corrispondente a Δt I_{float}	d (intero di I_{float})	dA	dB	Immagine precedente $I_{\Delta t \text{ prec}}$	Immagine successiva $I_{\Delta t \text{ succ}}$
1	0.05	0.40	1.29	1	0.71	0.29	0	1
2	0.10	0.78	2.52	2	0.48	0.52	1	2
3	0.15	1.15	3.69	3	0.31	0.69	2	3
4	0.20	1.49	4.81	4	0.19	0.81	3	4
5	0.25	1.83	5.89	5	0.11	0.89	4	5
6	0.30	2.15	6.93	6	0.07	0.93	5	6
7	0.35	2.46	7.92	7	0.08	0.92	6	7
8	0.40	2.76	8.88	8	0.12	0.88	7	8
9	0.45	3.04	9.81	9	0.19	0.81	8	9
10	0.50	3.32	10.70	10	0.30	0.70	9	10
11	0.55	3.59	11.57	11	0.43	0.57	10	11
12	0.60	3.85	12.41	12	0.59	0.41	11	12
13	0.65	4.10	13.22	13	0.78	0.22	12	13
14	0.70	4.35	14.01	14	0.99	0.01	13	14
15	0.75	4.58	14.77	14	0.23	0.77	13	14
16	0.80	4.82	15.52	15	0.48	0.52	14	15
17	0.85	5.04	16.24	16	0.76	0.24	15	16
18	0.90	5.26	16.94	16	0.06	0.94	15	16
19	0.95	5.47	17.63	17	0.37	0.63	16	17
20	1.00	5.68	18.30	18	0.70	0.30	17	18
21	1.05	5.88	18.95	18	0.05	0.95	17	18
22	1.10	6.08	19.58	19	0.42	0.58	18	19
23	1.15	6.27	20.21	20	0.79	0.21	19	20
24	1.20	6.46	20.81	20	0.19	0.81	19	20
25	1.25	6.64	21.41	21	0.59	0.41	20	21
26	1.30	6.82	21.99	21	0.01	0.99	20	21
27	1.35	7.00	22.55	22	0.45	0.55	21	22
28	1.40	7.17	23.11	23	0.89	0.11	22	23
29	1.45	7.34	23.65	23	0.35	0.65	22	23
30	1.50	7.51	24.19	24	0.81	0.19	23	24
31	1.55	7.67	24.71	24	0.29	0.71	23	24
32	1.60	7.83	25.22	25	0.78	0.22	24	25
33	1.65	7.98	25.73	25	0.27	0.73	24	25
34	1.70	8.14	26.22	26	0.78	0.22	25	26
35	1.75	8.29	26.70	26	0.30	0.70	25	26
36	1.80	8.44	27.18	27	0.82	0.18	26	27
37	1.85	8.58	27.65	27	0.35	0.65	26	27
38	1.90	8.72	28.11	28	0.89	0.11	27	28
39	1.95	8.86	28.56	28	0.44	0.56	27	28

Tabella 9. Parametri relativi alla ricostruzione tridimensionale della vascolarizzazione della mammella studiata da un esame angietermografico *in vivo*.

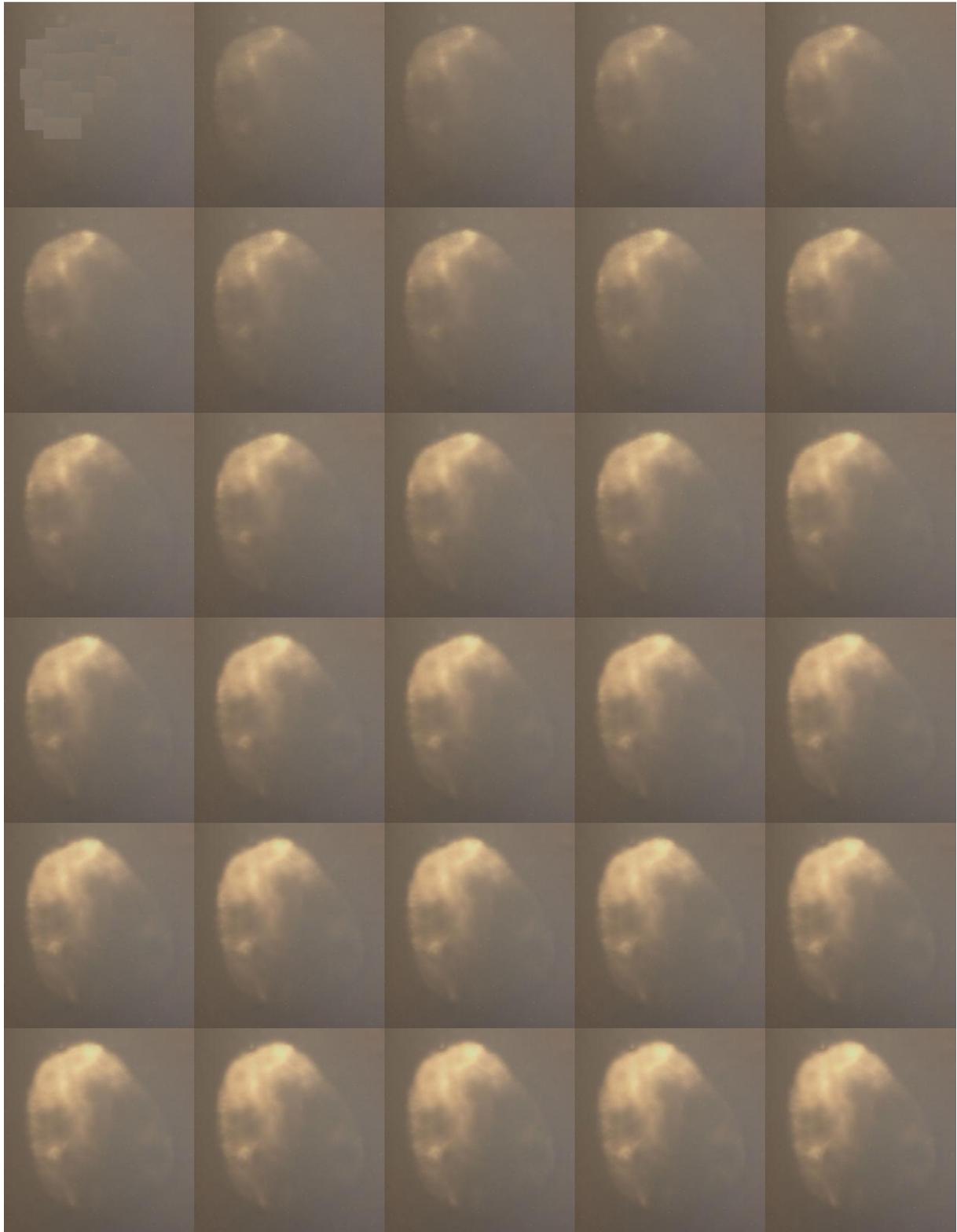


Figura 36. Sequenza dinamica delle immagini DATG acquisita con paziente giovane senza patologie.

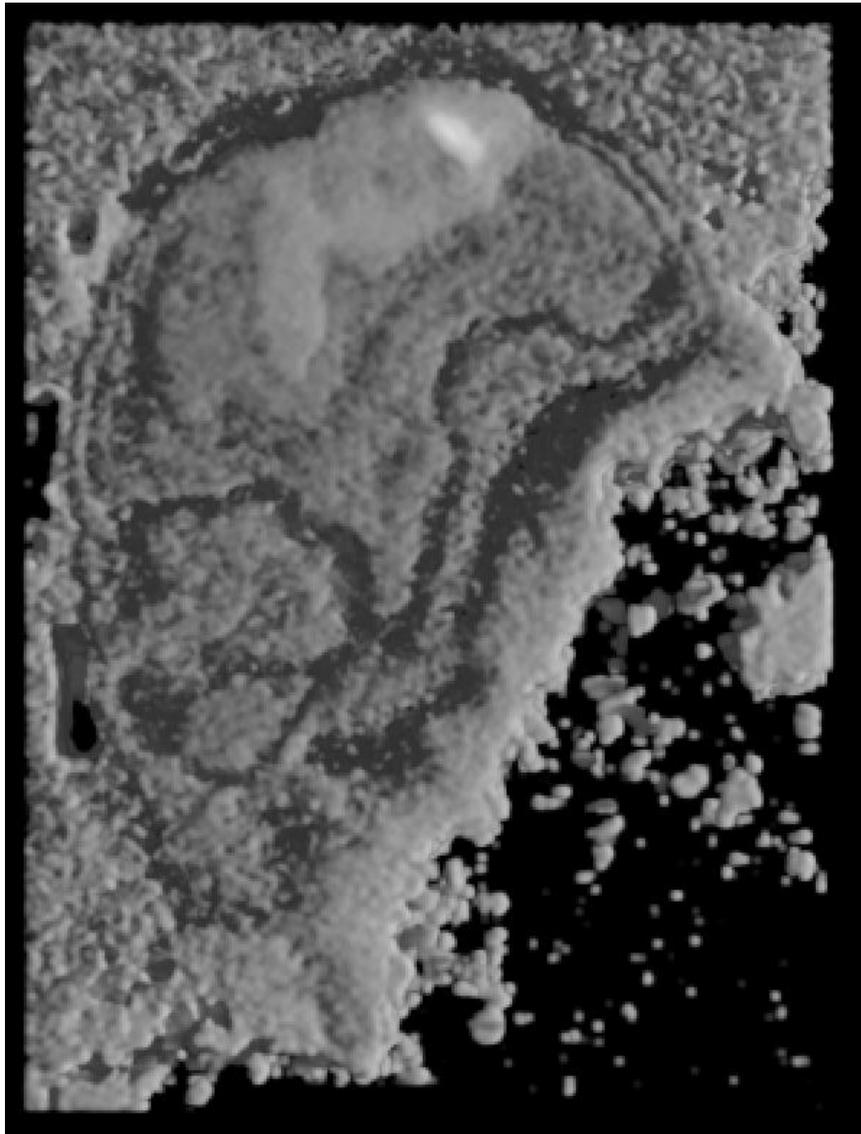


Figura 37. Ricostruzione tridimensionale del segnale ottenuto dalla sequenza dinamica delle immagini DATG acquisita *in vivo*, visualizzata dall'alto.

Osservando le ricostruzioni ottenute, sia per il filo che per la paziente *in vivo*, si può osservare come il segnale venga correttamente riprodotto in entrambi i casi a partire dalla superficie verso la profondità. Purtroppo però una volta che un segnale appare ad una certa profondità esso viene propagato all'infinito a tutte le profondità successive. Ciò avviene a causa della particolare formazione dell'immagine DATG. Infatti, quando un segnale termico sollecita la placca e viene rilevato in un certo istante, da quel momento in poi il suo valore *hue* continua a crescere e contemporaneamente la sua forma spaziale tende ad allargarsi nelle successive immagini. Quindi sarà necessario in futuro ovviare a tale problema cercando un metodo per distinguere fra segnali appena apparsi nell'immagine e segnali dovuti al normale allargamento della forma sulla placca DATG.

Conclusioni

L'angietermografia dinamica (DATG) è una tecnica non invasiva che non fa uso di radiazioni ionizzanti per la diagnostica al seno. La strumentazione si basa sull'acquisizione di immagini a colori fornite da placche a cristalli liquidi a contatto con la mammella. L'immagine che si forma è una rappresentazione grafica della vascolarizzazione mammaria e permette una diagnosi in base alla teoria dell'angiogenesi. La DATG è una metodica che si pone in relazione alle tecniche standard di diagnostica senologica al fine di completare e supportare il quadro clinico della paziente. Grazie al suo basso costo e alla facilità d'impiego può inoltre trovare buone applicazioni nello screening senologico.

Le misure sperimentali effettuate sulla placca con cornice bianca danno un'emissività di 0,995 e un intervallo di risposta per temperature comprese tra 31,5°C e 34,0°C, per la cornice grigia un'emissività di 0,980 e una risposta per temperature leggermente superiori (32,50-34,50°C), infine per la cornice nera un'emissività di 0,938 per temperature tra 34,0°C e 36,50°C. Questi risultati sperimentali sono in accordo con l'utilizzo in ambito clinico. Infatti, le placche con cornice nera e grigia sono impiegate, in genere, per l'analisi angietermografica di donne più giovani e con seni più densi e più caldi, laddove non è richiesta elevata sensibilità da parte del sistema; mentre la placca con cornice bianca viene utilizzata nei casi in cui sia necessario effettuare analisi a temperature più basse, dunque con una sensibilità maggiore.

La relazione tra il segnale della DATG, calcolato come tinta (*hue*), e la temperatura di riscaldamento di appositi fantocci, è stata studiata sperimentalmente e fornisce le curve di risposta del sistema negli intervalli sopra descritti in funzione della sollecitazione termica.

Successivamente si è studiata la risoluzione delle tre placche in funzione della temperatura: i risultati ottenuti hanno mostrato che la placca con cornice bianca è in grado di rilevare oggetti di dimensioni minime comprese tra 0,50 mm e 1,50 mm, quella con cornice grigia ha una risoluzione che va da 0,50 mm a 2,50 mm, mentre la placca con cornice nera mostra oggetti di dimensioni minime comprese tra 0,25 mm e 1,50 mm.

Infine, sono stati acquisiti alcuni set di dati sperimentali sia su paziente giovane, che non presentava alcuna patologia al seno, che su fantoccio dedicato. I dati sono stati acquisiti come sequenza temporale di immagini con un frame rate di 3Hz. Sulla base della legge della conduzione del calore di Fourier e della relazione tra *hue* e temperatura, si è ipotizzata una relazione esponenziale tra contributo temporale all'immagine e profondità di provenienza del segnale. I primi test sperimentali hanno mostrato che con buona approssimazione questa relazione è valida.

L'obiettivo futuro è la realizzazione di fantocci dedicati che ci permettano di verificare ulteriormente la dinamica di formazione dell'immagine e di utilizzare i dati così ricavati al fine di

ottenere la profondità da cui proviene il segnale con maggiore precisione. Infine si auspica che questo studio possa contribuire ad una maggiore conoscenza di tale metodica e ad un suo più vasto impiego per la diagnosi e lo screening del tumore al seno.

Ringraziamenti

Il primissimo ringraziamento va a mia madre senza la quale tutto questo non sarebbe mai stato possibile. La ringrazio per il sostegno che mi ha saputo dare sin dal primo giorno in cui ho iniziato questo percorso e per la pazienza che ha avuto nel sopportarmi, specie in quest'ultimo periodo. La ringrazio perché mi ha sempre dato aiuto e conforto, amore e fermezza, restando in ogni istante il mio riferimento più importante.

Il secondo non è solo un ringraziamento, ma anche un pensiero forte e tenero per mio padre che ho sempre avuto al mio fianco, che in qualche modo - non saprei neanche io ben spiegare come - ho sempre sentito accanto, nei momenti tristi, in cui non mi sentivo sola, e in quelli felici, in cui volgevo lo sguardo verso il cielo. "How I wish, how I wish You were here", cantava qualcuno.

Ed ancora, un altro dolce pensiero va alla mia piccola grande Donna la cui assenza si sente ogni giorno, che con la sua dolce severità mi ha guidata da bambina, che mi ha sempre accolta con il suo amore e i suoi sorrisi, ben saldi nella mia memoria, e che in questi mesi mi ha sempre teso la mano, senza mai lasciarmi cadere.

Ringrazio con tutto il cuore coloro che, anche se a chilometri di distanza, sono riusciti a darmi forza e coraggio per andare avanti, che hanno vissuto questo viaggio insieme a me e che sono sempre stati di grande sostegno morale in quei momenti che altrimenti sarebbero stati troppo pesanti da affrontare.

Indimenticabili sono gli amici che hanno rappresentato la mia famiglia fuori sede, con cui ho condiviso momenti pieni di risate e di affetto, complicità ed anche dolcezza, tra cui non scorderò mai saranno le avventure tra coinquiline, dentro e fuori casa, le serate con le amiche, chi un po' camionista, chi un po' contessina, e le lacrime condivise ma asciugate subito dopo con un sorriso, un abbraccio e vagonate di cioccolata.

Un ringraziamento speciale va alla dott.ssa Rossella Brancaccio che sin dall'inizio di questo lavoro mi ha dato aiuto in ogni modo, ripetendomi di stare tranquilla perché ce l'avrei fatta (e a quanto pare ha avuto ragione!). Allo stesso modo ringrazio la prof.ssa Morigi, sempre disponibile e gentilissima nell'affrontare le inevitabili problematiche che si sono presentate più volte, specie nell'ultimo periodo.

Infine, ultima ma non ultima, ringrazio la *BreastLife s.r.l.* per la disponibilità che ha dato nel fornire la strumentazione adeguata ai fini di questo lavoro di tesi.

Bibliografia

- [1]: Associazione italiana per la ricerca sul cancro, Tumore al seno, www.airc.it/tumori/tumore-al-seno.asp, 19 aprile 2013.
- [2]: Bergers, G. & Benjamin, L. E. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nature Reviews Cancer* 3, 401-410 (2003).
- [3]: Ribatti, D., Nico, B., Crivellato, E., Roccaro, A. M. & Vacca, A. The history of the angiogenic switch concept. *Leukemia* 21, 44-52 (2007).
- [4]: Chirurgia Generale ed Oncologica S. Filippo Neri - Roma;
- [5]: "MAMMOGRAFIA: CONFRONTO ANALOGICO-DIGITALE", D.ssa Filomena Cinelli. Ospedale "T. Masselli Mascia" San Severo - Foggia;
- [6]: "Mammografia analogica e digitale", Aggiornamento e Cultura Professionale; KNOWLEDGE' 09; TSRM D.ssa Lucia Ciavarella".
- [7]: ARTEMISIA LAB s.r.l., 2011
- [8]: Lewin, J. M. & Niklason, L. Advanced applications of digital mammography: tomosynthesis and contrast-enhanced-digital mammography. *Semin Roentgenol* 42, 243-252 (2007).
- [9]: Lewin, J. M., Isaacs, P. K., Vance, V. & Larke, F. J. Dual-energy contrast-enhanced digital subtraction mammography: feasibility. *Radiology* 229, 261-268 (2003).
- [10]: Jong, R. A., Yaffe, M. J., Skarpathiotakis, M., Shumak, R. S., Danjoux, N. M., Gunesevara, A. & Plewes, D. B. Contrast-enhanced digital mammography: initial clinical experience. *Radiology* 228, 842-850 (2003).
- [11]: Dromain, C., Balleyguier, C., Adler, G., Garbay, J. R. & Delalogue, S. Contrast-enhanced digital mammography. *Eur J Radiol* 69, 34-42 (2009).
- [12]: www.federica.unina.it/medicina-veterinaria/radiologia-veterinaria-e-medicina-nucleare/ultrasuoni-ecografia-principi-fisici-formazione-immagini/.
- [13]: da www.radiologyinfo.org/en/info.cfm?pg=breastus#part_one.
- [14]: Balleyguier, C., Opolon, P., Mathieu, M. C., Athanasiou, A., Garbay, J. R., Delalogue, S. & Dromain, C. New potential and applications of contrast enhanced ultrasound of the breast: Own investigations and review of the literature. *Eur. J. Radiol.* 69, 14-23 (2009).
- [15]: Schroeder, R. J., Bostanjoglo, M., Rademaker, J., Maeurer, J. & Felix, R. Role of power Doppler techniques and ultrasound contrast enhancement in the differential diagnosis of focal breast lesions. *Eur Radiol* 13, 68-79 (2003).
- [16]: Wei, K; Jayaweera, AR; Firoozan, S; Linka, A; Skyba, DM; Kaul, S; (February 1998). "Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of

- microbubbles administered as a constant venous infusion". *Circulation* 97 (5): 473–483. doi:10.1161/01.cir.97.5.473. PMID 9490243.
- [17]: Forsberg, F., Kuruvilla, B., Pascua, M. B., Chaudhari, M. H., Merton, D. A., Palazzo, J. P. & Goldberg, B. B. Comparing contrast-enhanced color flow imaging and pathological measures of breast lesion vascularity. *Ultrasound Med Biol* 34, 1365-1372 (2008).
- [18]: www.hsr.it/clinica/specialita-cliniche/radiologia-diagnostica/radiologia-diagnostica-san-raffaele/clinica-e-diagnostica/senologia/esami-senologici/risonanza-magnetica-rm-della-mammella/.
- [19]: Schabel MC, Morrell GR, Oh KY, Walczak CA, Barlow RB, Neumayer LA. Pharmacokinetic mapping for lesion classification in dynamic breast MRI. *J Magn Reson Imaging* 2010;31:1371–8.
- [20]: Sardanelli, F., Boetes, C., Borisch, B., Decker, T., Federico, M., Gilbert, F. J., Helbich, T., Heywang-Kobrunner, S. H., Kaiser, W. A., Kerin, M. J., Mansel, R. E., Marotti, L., Martincich, L., Mauriac, L., Meijers-Heijboer, H., Orecchia, R., Panizza, P., Ponti, A., Purushotham, A. D., Regitnig, P., Del Turco, M. R., Thibault, F. & Wilson, R. Magnetic resonance imaging of the breast: Recommendations from the EUSOMA working group. *European Journal of Cancer* 46, 1296-1316 (2010).
- [21]: Rebecca Rakow-Penner, Bruce Daniel, Gary H. Glover, Functional Breast MRI with BOLD Contrast, *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol. 32, nbr 1, pg. 120-9, Stanford University School of Medicine, Department of Radiology (2010);
- [22]: Daniel Richard Leff, Oliver J. Warren, Louise C. Enfield, Adam Gibson, Thanos Athanasiou, Darren K. Patten, Jem Hebden, Guang Zhong Yang, Ara Darzi, Diffuse optical imaging of the healthy and diseased breast: A systematic review, *Breast Cancer Research and Treatment*, March 2008, Volume 108, Issue 1, pp 9-22.
- [23]: M. D'Aiuto, G. Frasci, M. L. Barretta, A. Gallipoli, G.M. Ciuffo, F. Musco, S. Orefice, V. Frattini, I. Guidi, C. Siani, E. Esposito, A. Crispo, M. Montella, A. Chirico, G. D'Aiuto, A. Vecchione, "The Dynamic Optical Breast Imaging in the Preoperative Workflow of Women with Suspicious or Malignant Breast Lesions: Development of a New Comprehensive Score", *ISRN Oncology*, Volume 2012 (2012).
- [24]: S. A. Joslyn, "Racial differences in treatment and survival from early-stage breast carcinoma," *Cancer*, vol. 95, no. 8, pp. 1759–1766, 2002.
- [25]: "Information and Resources Doppler Ultrasound". Retrieved July 22, 2013.
- [26]: By Whitney L.J. Howell, Photoacoustics Shows Promise for Identifying Breast Cancer, *May 14, 2012*;

- [27]:W. Xia et al., Design and evaluation of a laboratory prototype system for 3D photoacoustic full breast tomography, *Biomedical Optics Express*, Vol. 4, Issue 11, pp. 2555-2569 (2013).
- [28]:M. Xu and L.H. Wang (2006). "Photoacoustic imaging in biomedicine". *Review of Scientific Instruments* 77 (4): 041101. doi:10.1063/1.2195024.
- [29]:Valli Guido; Coppini Giuseppe. *Bioimmagini 2^a ed.*. Bologna, Pàtron, 2005.
- [30]:Diakides NA, Bronzino JD. *Medical Infrared Imaging*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2008.
- [31]:Amalu W. Nondestructive testing of the human breast: the validity of dynamic stress testing in medical infrared breast imaging. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2004;2:1174-1177.
- [32]:Rouvillois C, Tricoire J, Mariel L, Portier F (November 1973). "[Thermography using contact plates in the diagnosis of breast cancers]". *Chirurgie; Mémoires De l'Académie De Chirurgie (in French)* 99 (11): 866–72. PMID 4792563.
- [33]:Montruccoli GC, Montruccoli D, Casali F., "A new type breast contact thermography plate: a preliminary and qualitative investigation of its potentiality on phantoms". In press.
- [34]:Montruccoli D.-Salmi, Montruccoli G.C., "Potential of dynamic angiothermography for diagnosis of precancerous and in-situ breast lesions.", *International Journal of Oncology*. Vol 11, Supplement, pag. 933 October 1997 .
- [35]:Montruccoli G.C., Montruccoli D.-Salmi and D.Barnabè "Early diagnosis of breast cancer by dynamic angiothermography". Cap n.45 pagg.296-300. In: *New insight in Gynecology and Obstetrics research and practice*. Edited by B.Ottesen and A Tabor. Parthenon Publishing.
- [36]: M. R. Anderson, J. W. Baughn. "Liquid-Crystal Thermography: Illumination Spectral Effects. Part 1—Experiments", Vol. 127, pag. 581-587, June 2005.
- [37]: Hanbury and Serra put a great deal of effort into explaining why what we call chroma here can be written as $\max(R, G, B) - \min(R, G, B)$, and showing that this value is a seminorm. They reserve the name chroma for the Euclidean norm in the chromaticity plane (our C2), and call this hexagonal distance saturation instead, as part of their IHLS model.
- [38]: Deborah Kennedy, BSc (Hons), MBA, ND, Tanya Lee, BSc, and Dugald Seely, ND, MSc, *A Comparative Review of Thermography as a Breast Screening Technique*, Vol. 08, 2009.
- [39]: Nicoletta Biglia, *Valutazione dell'impatto della risonanza magnetica preoperatoria nella strategia chirurgica dei carcinomi della mammella*.
- [40]: Paolo Viacava, Antonio Giuseppe Naccarato, Guido Bocci, Giovanni Fanelli, Paolo Aretini, Antonino Lonobile, Giuseppe Evangelista, Giancarlo Montruccoli and Generoso Bevilacqua, *Angiogenesis and VEGF expression in pre-invasive lesions of the human breast*, *Journal of Pathology*, Vol. 204, pag. 140–146, 2004.

- [41]: Centro di senologia presso l'Ospedale di Cremona, www.radiologiacremona.it/centro_di_senologia/centro.htm.
- [42]: Clarisse Dromain, Fabienne Thibault, Serge Muller, Françoise Rimareix, Suzette Delalogue, Anne Tardivon, Corinne Balleyguier, *Dual-energy contrast-enhanced digital mammography: initial clinical results*, European Society of Radiology; 2010.
- [43]: Siemens.com Global Website.
- [44]: Progetto "Campus Virtuale" dell'Università degli Studi di Napoli Federico II.
- [45]: Petelska AD, Janica JR, Kotynska J, Łebkowska U, Figaszewski ZA, *The Effect of Contrast Medium SonoVue® on the Electric Charge Density of Blood Cells*, J. Membr. Biol.; 2011.
- [46]: Ing. C. Pedrazzi, *Ultrasonologia, preistoria, storia e futuro prossimo*, Corso Nazionale Congiunto IP e TNFP, Azienda Ospedaliera di Bologna Policlinico S.Orsola - Malpighi; Bentinoro; 31 marzo 2007.
- [47]: Studio di Radiologia e Roentgenterapia Lido di Ostia s.r.l., www.ostiaradiologica.it.
- [48]: ©Siemens Corporation, <https://usa.healthcare.siemens.com/magnetic-resonance-imaging/options-and-upgrades/coils/breast-array-coil>.
- [49]: MLCC Life Check®Center, www.life-check.it.
- [50]: [38] Nyirjesy, I., Ayme, Y., et al: Clinical Evaluation, *Mammography and Thermography in the Diagnosis of Breast Carcinoma. Thermology*, Vol. 1, pag. 170-173, 1986.
- [51]: [31] Haberman, J., Francis, J., Love, T.: *Screening a Rural Population for Breast Cancer Using Thermography and Physical Examination Techniques*. Ann NY Acad Sci 335:492-500,1980.
- [52]: B. Brancato, Istituto per lo Studio e la Prevenzione Oncologica (ISPO), *Mammografia digitale e screening mammografico*.
- [53]: Roberto Cantoni, *Il mammoscopio fotoacustico (senza raggi X)*, May 20, 2012.
- [54]: Fonte: BreastLife S.r.l., www.breastlife.it.
- [55]: Montruccoli G.C., Montruccoli D.S., D'Errico A, Grigioni W.F., *Angiothermography in an integrated diagnosis for secondary prevention of breast cancer*. In: Lancet Conference - The Challenge of Breast Cancer, Brugge, 21-22 April 1994; London, The Lancet, 1994:49.
- [56]: Costelloe C.M., Rohren E.M., Madewell J.E., Hamaoka T, Theriault R.L., Yu T.K., et al. *Imaging bone metastases in breast cancer: techniques and recommendations for diagnosis*. Lancet Oncol; Vol. 10, pag. 606–614; 2009.
- [57]: Genentech USA (A Member of the Roche Group), <http://www.biooncology.com/research-education/vegf/ligand/overview/angiogenesis>.
- [58]: Y.A. Cengel, cap. 10, Tab. 10.7.