

POLITECNICO DI TORINO

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

**Studio teorico e sperimentale del comportamento
termo-ottico di tessuti biologici per il trattamento di
tumori mediante ablazione laser**



Relatori:

Prof. Alberto Vallan

Prof. Guido Perrone

Candidato:

Alessandra Beccaria

Anno Accademico 2018/2019

Alla mia Famiglia

Indice

1	Introduzione	1
2	Trattamenti tumorali mini-invasivi	4
2.1	Termoablazione	4
2.1.1	Radiofrequenza	6
2.1.2	Microonde	7
2.1.3	Laser	7
3	Comportamento ottico dei tessuti	8
3.1	Parametri ottici	9
3.1.1	Assorbimento	9
	Coefficiente di scattering μ_a	9
3.1.2	Scattering	11
	Coefficiente di scattering μ_s	11
	Fattore di anisotropia g	13
3.2	Misura sperimentale dei parametri ottici	13
	Misurazioni in retrodiffusione	14
	Misurazioni in trasmissione	15
4	Misura dei parametri ottici	17
4.1	Strumentazione e setup di misure	17
4.1.1	Generazione del segnale	17
4.1.2	Misura di intensità della luce	18
4.1.3	Acquisizione e elaborazione dei dati	22
	Calcolo dei parametri ottici	23
4.1.4	Campioni analizzati	26
4.2	Caratterizzazione ottica dei tessuti	29
4.2.1	Misure effettuate con luce bianca	29
	Fantoccio a base di Intralipid [®]	29
	Fantoccio a base di inchiostro di China	32
4.2.2	Misure nel campo dell'infrarosso	34
	Fantoccio a base di Intralipid [®]	34
	Fantoccio a base di inchiostro di China e Intralipid [®]	37

Fegato <i>ex-vivo</i>	41
5 Modello ottico - termico	47
5.1 Propagazione luminosa : MCML - CONV	48
5.1.1 MCML : Monte Carlo Multi Layered	48
5.1.2 CONV : Convolution	50
5.2 Evoluzione termica : COMSOL Multiphysics [®]	52
Confronto con una sorgente puntiforme	59
6 Monitoraggio della temperatura	63
6.1 Sensori contactless	63
6.2 Sensori a contatto diretto	64
6.2.1 Termocoppie	65
6.2.2 Sensori a fibra ottica	65
7 Reticoli di Bragg	67
7.1 Fibre ottiche	67
7.1.1 Parametri	68
7.2 Reticoli di Bragg	70
7.2.1 Fabbricazione	72
7.2.2 Tipologie di reticoli	72
7.2.3 Interrogatori	74
Micron Optics si155	74
8 Utilizzo sperimentale dei reticoli di Bragg	78
8.1 Caratterizzazione dei reticoli	78
8.1.1 Sensori protetti in capillari di vetro	80
Risultati della calibrazione	85
8.1.2 Sensori commerciali	89
Risultati della calibrazione	92
8.2 Utilizzo dei sensori senza capillari di vetro	94
8.2.1 Setup di misura	94
9 Conclusioni	102
10 Codici	104
10.1 Elaborazione dati interazione luce-materia Matlab	104
10.2 Controllo movimentazione fibra - Block Diagram LabVIEW	107

Capitolo 1

Introduzione

Secondo la World Health Organization nel XXI secolo, in diversi continenti come America, Europa e Oceania, le neoplasie potranno diventare la principale causa di morte, superando le malattie cardiovascolari. Non solo, ma secondo queste previsioni, tale condizione patologica è destinata a interessare in modo diretto anche il resto dei continenti andandosi a classificare tra le prime cinque cause di morte precoce nel corso di questo secolo (Fig.1.1).[1]

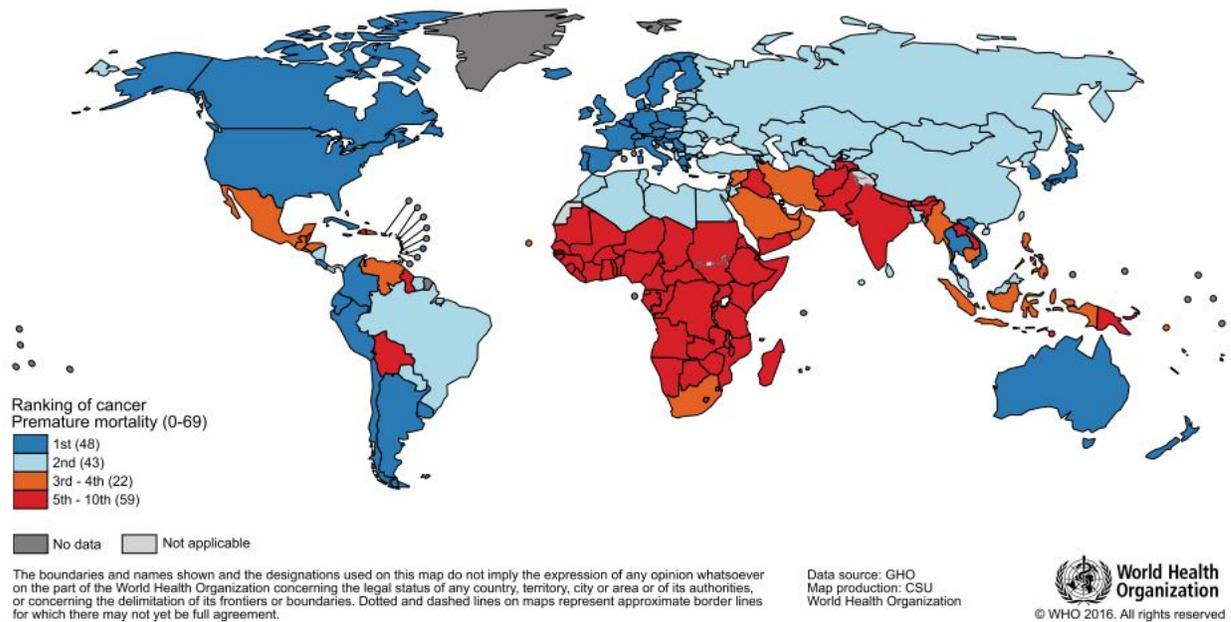


Figura 1.1: Previsione mondiale dell'incidenza delle neoplasie previste per il XXI secolo. Questa mappa riporta la classificazione del cancro tra le malattie che portano una morte precoce della popolazione. Fonte: World Health Organization

[1]

Tale condizione patologica può presentarsi in diverse forme e può colpire i vari organi corporei, ma la facilità diagnostica e terapeutica non è ripartita tra di essi allo stesso modo.

Infatti, per diverse forme tumorali è oggi possibile un trattamento che si riscopre efficace per la grande maggioranza dei casi; esempio leader tra tutti è il cancro alla mammella che nonostante sia numericamente il più diffuso, presenta una curabilità di circa 80%. Altre forme, invece, risultano essere tutt'oggi critiche, sia dal punto vista diagnostico, che terapeutico. Un esempio è il fegato, che rappresenta una forma neoplastica non eccessivamente diffusa ma caratterizzata da un tasso di sopravvivenza ridotto al 25% (Fig. 1.2). Tumori di questo tipo richiedono quindi un ulteriore sforzo per migliorare le terapie, sia farmacologiche, sia chirurgiche. In particolare, tra queste ultime, negli ultimi anni è cresciuto l'interesse per i trattamenti termici minimamente invasivi, che possono cioè essere effettuati in modo percutaneo. Tra di esse, una tra le tecniche più innovative è l'ablazione laser. In questo tipo di trattamento, un fascio laser di medio-alta potenza viene guidato da una fibra ottica nella massa tumorale e localmente produce un aumento di temperatura sufficiente a raggiungere valori citotossici e provocare così la necrosi immediata delle cellule.

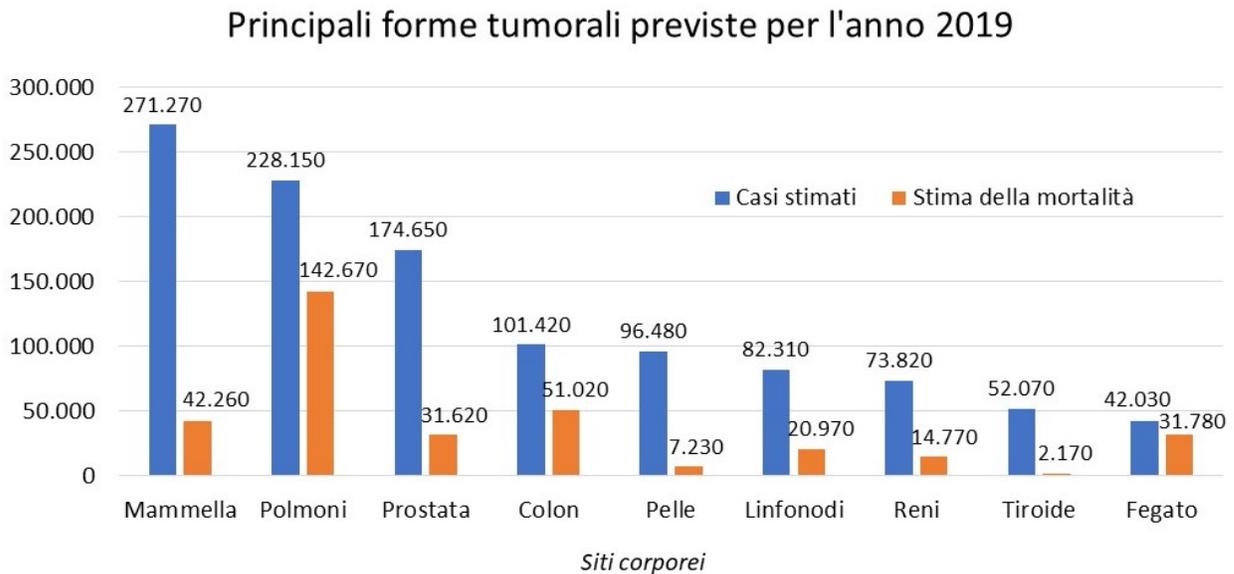


Figura 1.2: Raccolta statistica delle principali forme tumorali previste per l'anno 2019 (USA). [2]

In questa tesi si sono indagati – a livello sperimentale e di modellizzazione – la modalità di interazione tra il fascio ottico e il tessuto biologico, ovvero come il laser si propaga nella regione oggetto del trattamento, e il conseguente effetto termico che regola la mortalità cellulare e definisce quindi l'efficacia del trattamento.

Per il primo aspetto si sono analizzati i contributi dovuti all'assorbimento e alla diffusione (*scattering*) del fascio laser da parte del tessuto biologico, costruendo un banco di misura per determinare i relativi coefficienti da inserire nei modelli di propagazione. Infatti la conoscenza di tale parametri risulta essenziale per lo studio della distribuzione della luce all'interno del mezzo analizzato, infatti questi regolano rispettivamente la diffusività della luce e la sua conversione in calore. Il sistema costruito è stato validato utilizzando dapprima dei fantocci realizzati appositamente per mimare otticamente un tessuto biologico, e infine è

stato utilizzato su un campione di fegato bovino ex-vivo. Successivamente i valori trovati da queste misure sono stati utilizzati per creare un modello ottico – termico che rappresenta un primo passo verso la realizzazione di uno strumento per la pianificazione di un intervento di ablazione laser, ottimizzando la procedura in base alla tipologia e alla forma di tumore.

Parte dell'attività di tesi è stata dedicata anche alla caratterizzazione di sensori in fibra ottica, in particolare quelli basati sui reticoli di Bragg, utilizzati per il monitoraggio della temperatura durante l'intervento di ablazione. Nello specifico alcune tipologie di sensori, inseriti in capillari di vetro per evitare deformazioni meccaniche, sono stati caratterizzati in camera climatica utilizzando un sensore di temperatura di riferimento. In questo modo si è ricavata la specifica relazione matematica che lega la temperatura al picco di riflessione misurabile, constatando la loro applicabilità nel monitoraggio termico dell'ablazione laser. Dopo la calibrazione ne è stata valutata anche la sensibilità a effetti parassiti, quali deformazioni meccaniche, qualora vengano utilizzati senza capillari di protezione.

Capitolo 2

Trattamenti tumorali mini-invasivi

Negli ultimi decenni, la ricerca di trattamenti contro il cancro, non si è solo concentrata sull'efficacia della terapia, ma anche sugli effetti collaterali che ne conseguono. Tuttora il trattamento considerato più efficace è l'asportazione fisica della massa tumorale, susseguita o preceduta da un trattamento farmacologico o radiologico. Tenendo però conto delle spese fisiche che un trattamento chirurgico richiede, l'attenzione si sta concentrando molto su trattamenti mini-invasivi, che permettono di effettuare il trattamento senza una chirurgia completa, ma agendo sul tumore per via endoscopica o percutanea. Queste tecnologie godono di numerosi vantaggi: [3][4]

- Minimizzano il trauma fisico che la chirurgia tradizionale richiede per accedere e rimuovere il tumore
- Riducono i costi sanitari data la riduzione del periodo di degenza dei pazienti e dei relativi processi riabilitativi
- Estendono la possibilità del trattamento terapeutico anche ai pazienti fisicamente più indeboliti che non riuscirebbero a sopportare un'operazione a cielo aperto
- Permettono di preservare maggiormente il tessuto sano circostante
- Spesso non richiedono l'utilizzo di anestesie generali

Tra i trattamenti minimamente invasivi più conosciuti si trovano le ablazioni termiche, il cui funzionamento viene spiegato e discusso nelle sezioni successive.

2.1 Termoablazione

Le ablazioni termiche sono trattamenti terapeutici il cui funzionamento si focalizza sulla distruzione localizzata del tessuto anomalo per mezzo di un'estrema ipertermia (in generale definita come ablazione) o ipotermia (crioablazione). Per il trattamento delle neoplasie, il principio base è lo stesso di quello adottato per le rimozioni chirurgiche del tumore, con la differenza che in questo caso il tessuto non viene rimosso ma necrotizzato in situ, e verrà poi

riassorbito dall'organismo nei mesi successivi al trattamento (Fig. 2.1). L'aspetto più importante, però, è la possibilità di effettuare il trattamento in modo mini-invasivo, solitamente per via percutanea.[3] In generale la probabilità di morte cellulare causata da un trattamento termico è regolamentata dalla temperatura raggiunta e dal tempo in cui il tessuto gli è sottoposto. Valutando l'ipertermia : [5]

- temperature comprese tra i 40 - 50°C possono provare un danno irreversibile alla cellule, ma tale temperatura deve essere mantenuta per tempi abbastanza lunghi, dell'ordine di alcune decine di minuti.
- temperature oltre i 60°C permettono di assistere a una rapida distruzione delle proteine che si rivela tossica per la cellula e ne causa la morte per necrosi. Non solo, ma viene anche distrutta l'integrità della membrana cellulare e la replicazione del DNA viene rallentata se non del tutto bloccata.
- temperatura maggiori ai 100°C e tempi di esposizioni più lunghi arrivano a essiccare e carbonizzare il tessuto.

In generale questa tipologia di trattamento è applicabile ai vari distretti corporei, e il fegato è uno tra i siti anatomici più diffusi. Questo perchè fino all'80% dei pazienti non può essere sottoposta ad un classico trattamento chirurgico dal momento che, data la funzione di filtro sanguigno che svolge quest'organo, un'operazione a cielo aperto richiederebbe un' abilità coagulativa forte abbastanza da resistere all'operazione. Non solo ma per tumori situati in profondità, la chirurgia tradizionale richiederebbe uno spazio di accesso eccessivo, che potrebbe non lasciare una porzione di fegato sufficiente alla sopravvivenza del paziente dopo l'intervento. Inoltre trattamenti alternativi, come radioterapia o chemioterapia, risultano essere difficoltosi per le cellule epatiche e non con effetti benefici a lungo termine.[3]

Sono disponibili diverse tecnologie strumentali per svolgere questo tipo di trattamento termico, di seguito se ne espongono alcune, trattandone gli aspetti principali.

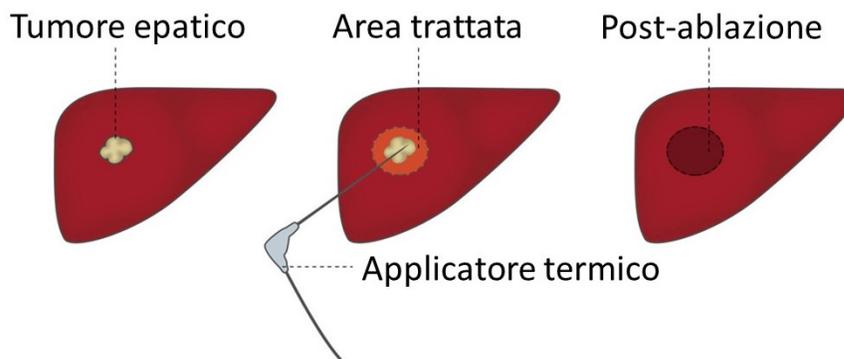


Figura 2.1: Schema dei passaggi che si susseguono durante un trattamento termoablativo. In particolare si riporta la schematizzazione di un trattamento epatico.

2.1.1 Radiofrequenza

Il trattamento termico con la radiofrequenza è quello eseguito da più tempo e più comunemente utilizzato. Il principio di funzionamento è basato sull'utilizzo di una corrente alternata (frequenze inferiori al MHz) [4] iniettata direttamente nella massa tumorale che viene quindi scaldata per effetto Joule. Il percorso elettrico della corrente viene chiuso da un secondo elettrodo di raccolta, di dimensioni maggiori e posizionato sulla cute del paziente. L'elettrodo di rilascio della corrente presenta invece dimensioni ridotte, che permettono un rilascio di corrente localizzato e rendono la tecnica meno invasiva. Oggigiorno ne esistono due tipologie:

1. *Singolo elettrodo* : un unico elettrodo appuntito viene inserito nel tumore. Dimensionalmente è caratterizzato da alcuni millimetri di raggio e da lunghezze dell'ordine del centimetro. Con questa tipologia di elettrodo è possibile trattare tumori con dimensioni fino a 3 cm di diametro, però, per tipologie di neoplasie più grandi è necessario ricorrere a potenze erogate maggiori, che rischiano di carbonizzare localmente il tessuto senza ricoprirne tutta l'area.
2. *Multielettrodi* : in un'unica sonda, vengono incorporati più elettrodi che, una volta raggiunto il tumore, vengono aperti verso l'esterno ricreando la forma di un ombrello. In questo modo è possibile trattare tumori di dimensione maggiore, fino a 5 cm di diametro, a spese di un raddoppiamento del diametro della sonda. (Fig. 2.2)

In generale, con questa tecnologia, vengono utilizzati range di potenza di emissione fino a 200 W, che in media possono arrivare a generare correnti dell'ordine dell'ampere. Il posizionamento dell'elettrodo, avviene generalmente per mezzo di una sonda ad ultrasuoni.

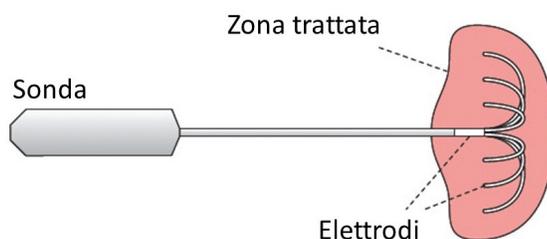


Figura 2.2: Schema sonda multielettrodo per termoablazione a radiofrequenza

2.1.2 Microonde

La tecnologia termoablattiva a microonde è il secondo trattamento impiegato ed è di più recente applicazione. Per indurre l'innalzamento della temperatura viene utilizzato un campo elettromagnetico alternato (fino a 2.5 GHz) che, generato da un'antenna opportuna, viene iniettato nel tumore attraverso una sonda aghiforme, simile a quella utilizzata con le radiofrequenze. In particolare, l'accrescimento termico avviene attraverso l'interazione tra il campo EM e le molecole polari presenti nel tessuto (es. acqua), che vengono messe in oscillazione. A differenza della corrente elettrica alternata, le microonde si propagano nei tessuti corporei indipendentemente dal quantitativo di acqua presente al loro interno. Questo è il primo vantaggio deducibile, infatti, qualora con il riscaldamento parte dell'acqua evapori, la proprietà di conduzione non cambiano, e per questo il campo EM è meno sensibile ai processi di essiccazione dei tessuti. Non solo, ma l'indipendenza della conducibilità elettromagnetica dal quantitativo di acqua contenuto nel tessuto, ne estende le applicazioni a più tessuti differenti. Un ulteriore vantaggio rispetto agli apparecchi a radiofrequenza è che non è richiesto l'utilizzo di un secondo elettrodo per chiudere il percorso di propagazione delle onde, ma è sufficiente utilizzare la sola sonda, inseribile per via percutanea.

2.1.3 Laser

Il laser è una sorgente luminosa a emissione coerente che permette di focalizzare in modo estremamente preciso la radiazione elettromagnetica. Viene utilizzato in differenti applicazioni biomedicali e, a seconda della lunghezza d'onda impiegata, può raggiungere livelli di profondità differenti. Nel processo termoablattivo sfrutta l'assorbimento della luce da parte dei cromofori che costituiscono i vari tessuti per innalzare localmente la temperatura. Il livello di assorbimento, e quindi dell'innalzamento di temperatura, varia a seconda del tessuto e dalle sue condizioni ed è parametrizzato dal coefficiente di assorbimento μ_a . La diffusione del raggio luminoso è quindi limitata da questo parametro, infatti un tessuto caratterizzato da un elevato assorbimento prevede un riscaldamento eccessivo e limitato solamente alla zona limitrofa della sonda, e in queste condizioni non sarebbe possibile trattare efficacemente tutta la zona tumorale. Dal punto di vista fisico, però, la zona percorsa dal fascio luminoso risulta essere maggiormente estesa grazie all'abilità scatterante delle molecole del tessuto che deviano la direzione di propagazione della luce su più direzioni, facilitandone una diffusione attorno alla sonda. Ciò nonostante, questa tecnica viene utilizzata per il trattamento di masse tumorali non superiori a 1-2 cm^2 . [5]

La luce laser, viene veicolata nel tumore per mezzo di fibre ottiche, caratterizzate da dimensioni molto ridotte e dall'immunità ai disturbi di natura elettromagnetica, inoltre è possibile utilizzarle in concomitanza a strumenti come la Risonanza magnetica per il posizionamento, dal momento che il materiale dielettrico di cui sono fatte non crea artefatti nell'immagine. Per i trattamenti termoablattivi generalmente vengono utilizzate lunghezze d'onda nell'infrarosso, intorno ai 1000 nm, perchè riescono a raggiungere profondità maggiori nei tessuti biologici e quindi trattare omogeneamente aree più estese.[4] Questa tecnica è quella che è stata studiata e approfondita in questo progetto di tesi.

Capitolo 3

Comportamento ottico dei tessuti

Come già anticipato, in questo progetto di tesi si è studiato e approfondito il trattamento di tumori mediante tecniche mini-invasive, focalizzando l'attenzione sull'ablazione laser. Il primo passo per poter analizzare tale trattamento, è valutare il principio che sta alla base dell'efficacia di questa terapia, ovvero studiare la modalità con cui la sorgente luminosa interagisce con il tessuto. Infatti la distribuzione e l'assorbimento della luce all'interno del tessuto sono i parametri che regolano la generazione del calore e quindi, in base a questi, il trattamento può risultare più o meno efficace. L'obiettivo dell'ablazione laser è infatti quello di creare una distribuzione luminosa all'interno del target sufficientemente ampia da generare una sorgente termica diffusa e riscaldare in modo omogeneo l'intera massa tumorale, e non solo carbonizzare o surriscaldare la zona limitrofa alla sonda di delivery. Per questi motivi risulta essenziale studiare la modalità con cui la luce interagisce con il tessuto e conoscere i parametri ottici che ne regolano la distribuzione e la conversione in calore. Solamente mediante questo studio è possibile progettare correttamente i dispositivi medici e regolarne i parametri in modo adeguato al fine di ottenere il trattamento desiderato. L'importanza di questo studio, inoltre, va oltre la sola applicabilità al campo terapeutico dell'ablazione, ma è alla base di tutte le applicazioni che utilizzano un fascio luminoso per scopi terapeutici o diagnostici, estremamente varie e in continua espansione. Infatti in campo diagnostico, la luce può essere usata per il monitoraggio del livello di ossigenazione del sangue, dal semplice saturimetro alla spettroscopia nel vicino infrarosso (*NIRS*), oppure come tecnica per la rilevazione di formazioni neoplastiche associate o ad un cambiamento strutturale degli strati dei tessuti analizzati (*Optical Coherence Tomography - OCT*, largamente utilizzata anche in campo oftalmico per il controllo di patologie retiniche, malattie della cornea e glaucoma) [6] o ad un cambiamento dei parametri ottici che si modificano a seconda dello stato di salute del tessuto [7]. Nel campo terapeutico, invece, le tecniche laser utilizzate non si limitano a sfruttare l'assorbimento della luce da parte dei tessuti colpiti per danneggiare direttamente l'anomalia come nella termoablazione, ma possono anche sfruttare l'interazione tra la luce e le componenti biologiche del tessuto per attivare o inibire determinati processi biologici, come la *Low level laser therapy - LLLT* [8], per generare calore al fine di attivare molecole fotosensibili che portano ad danneggiamento del target. Valutando quindi la varietà delle possibili applicazioni biomedicali del fascio laser, e la loro continua evoluzione, è facile comprendere

quanto lo studio dei parametri ottici che caratterizzano i tessuti biologici sia essenziale per la progettazione di tutti i dispositivi medici e per garantire la loro efficacia terapeutica e/o diagnostica.

3.1 Parametri ottici

Per caratterizzare otticamente un tessuto, occorre sapere che quando un fascio luminoso penetra e si propaga in un mezzo, nel nostro caso coincidente con un tessuto biologico, è interessato da due fenomeni : lo scattering e l'assorbimento. In figura 3.1 sono schematizzati e riassunti questi due fenomeni, ma più nel dettaglio possiamo distinguere:

- *Assorbimento*: il raggio attraversa l'intero mezzo senza cambiare la sua direzione di propagazione, e durante il tragitto perde solamente parte della sua intensità iniziale (caso (a) Fig. 3.1)
- *Scattering* : a causa di questo fenomeno fisico il raggio può cambiare anche più di una volta la direzione di propagazione. A conseguenza di questo possiamo distinguere due ulteriori casistiche :
 - rispetto a quanto accade con il solo assorbimento, l'intensità della componente trasmessa decresce ulteriormente. Questo perchè, nonostante lo spessore del tessuto rimanga invariato, il fascio a causa delle deflessioni percorre un tragitto maggiore. (caso (b) Fig. 3.1)
 - la componente trasmessa nella parte opposta a quella di incidenza può non essere rilevata dal momento che il raggio viene deflesso fuori dal mezzo (caso (c) Fig. 3.1)

In generale, quindi, quando si parla di attenuazione della luce attraverso un mezzo biologico ci si riferisce alla somma dei contributi portati sia dall'assorbimento che dallo scattering, che aumenta ulteriormente l'attenuazione rilevabile dalla misurazione della luce trasmessa.

3.1.1 Assorbimento

L'assorbimento è un fenomeno fisico che si ha quando le molecole del mezzo consumano l'energia trasportata dall'onda luminosa e la convertono in energia vibrazionale e, in seguito, l'interazione tra le molecole oscillanti trasforma l'energia in energia termica.

Coefficiente di scattering μ_a

Il parametro che indicizza questo fenomeno è definito come coefficiente di assorbimento μ_a che ha l'unità di misura di $[m^{-1}]$ ed è definito dalla seguente equazione:

$$\mu_a = N_a \sigma_a \tag{3.1}$$

Dove:

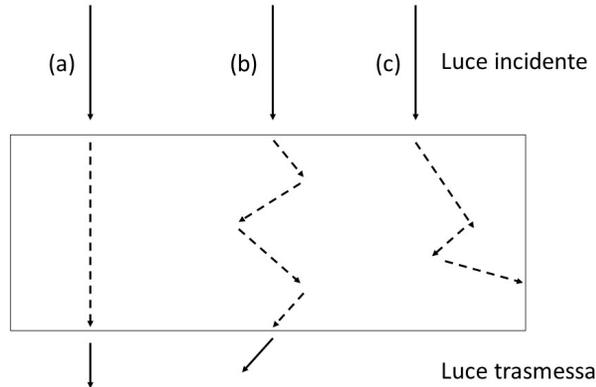


Figura 3.1: Scattering e assorbimento della luce che attraversa un mezzo biologico. (a) Il raggio incidente non viene deflesso dallo scattering ma viene solamente attenuato a causa dell'assorbimento durante il suo percorso rettilineo. (b) a causa dello scattering il raggio può cambiare anche più di una volta la direzione in cui si propaga (c) Il raggio non è rilevato dalla parte opposta a quella di incidenza dal momento che viene deflesso fuori dal mezzo

- N_a è la densità, assunta costante, delle particelle assorbenti sull'unità di volume [cm^{-3}]
- σ_a (*Sezione d'urto o Cross-section*) che indica la zona d'ombra a valle della particella dopo l'assorbimento [m^2] (Figura 3.2).

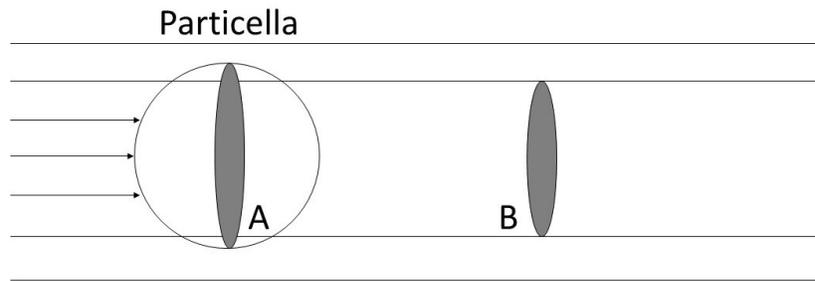


Figura 3.2: Quando sulla particella assorbente incide un fascio di luce si individuano due aree definite come (A) Cross-section geometrica, che corrisponde all'area della sezione contro cui incide il fascio e (B) Cross-section effettiva, ovvero σ_a . Le due sono legate da una relazione di proporzionalità diretta attraverso una costante definita come *Efficienza di assorbimento*

In generale, dal punto di vista macroscopico, i mezzi caratterizzati dal solo assorbimento utilizzano il coefficiente μ_a nella legge di Lambert-Beer:

$$I = I_0 e^{-\mu_a x} \quad (3.2)$$

Dove I_0 simboleggia l'intensità del flusso incidente [W/cm^2] e I quella del flusso uscente dal campione [W/cm^2] e x la lunghezza del percorso rettilineo attraversato dalla luce. A questa equazioni si trovano spesso associati i parametri adimensionali di trasmittanza T (Eq. 3.3) e l'assorbanza A (Eq. 3.4)

$$T = \frac{I}{I_0} \quad (3.3)$$

$$A = -\log(T) = \log \frac{I_0}{I} \quad (3.4)$$

Nei tessuti biologici le principali particelle che causano il fenomeno dell'assorbimento sono l'emoglobina, i lipidi e l'acqua nell'infrarosso e le proteine e gli amminoacidi nell'ultravioletto, mentre i cromofori meno rilevanti possono essere ad esempio la melanina e il betacarotene.[9]

3.1.2 Scattering

Lo scattering è un fenomeno fisico che causa il cambio di direzione della propagazione dei fotoni e dipende dalla dimensione, dalla morfologia e dalla struttura delle particelle del tessuto. A livello microscopico, questo fenomeno è causato dai moti oscillatori degli elettroni innescati dall'interazione tra le particelle e l'onda elettro-magnetica. Infatti queste cariche in movimento emettono un nuovo raggio luminoso in direzioni pressochè casuali. A seconda dell'energia, e quindi anche della sua frequenza, tra l'onda incidente e quella riemessa nella nuova direzione si possono distinguere due tipologie di questo fenomeno: *Scattering elastico*, dove non c'è un cambiamento energetico (*Rayleigh e Mie*) e *Scattering anelastico* dove invece il contributo energetico varia (*Raman*).

La differenza tra le due tipologie di scattering elastico prima nominate sono facilmente notabili dalla figura 3.3 e il fattore discriminante viene denominato α :

$$\alpha = \frac{2\pi R_p}{\lambda} \quad (3.5)$$

Dove R_p è il raggio della particella scatterante e λ la lunghezza d'onda della luce incidente.

- *Rayleigh scattering* : il fenomeno che si presenta quando $\alpha \ll 1$, ovvero le particelle sono molto più piccole della lunghezza d'onda della luce con cui interagiscono.
- *Mie scattering* : il fenomeno che si presenta quando $\alpha \approx 1$, ovvero le particelle sono molto più grandi o perlomeno di dimensioni comparabili alla lunghezza d'onda della luce con cui interagiscono.

Coefficiente di scattering μ_s

Similmente a quanto già spiegato per l'assorbimento, il fenomeno di scattering è rappresentato da un coefficiente μ_s che ha l'unità di misura di [m^{-1}] ed è definito dalla seguente equazione:

$$\mu_s = N_s \sigma_s \quad (3.6)$$

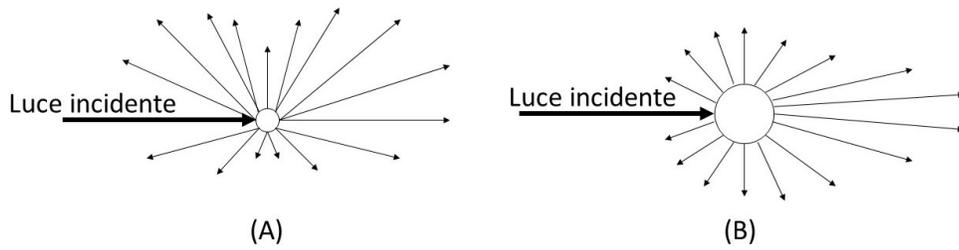


Figura 3.3: (A) Rayleigh scattering (B) Mie scattering

Dove, analogamente a quanto esposto per l'assorbimento, N_s è la densità, assunta costante, delle particelle assorbenti sull'unità di volume [cm^{-3}] e σ_a è la *Sezione d'urto o Cross-section* (Fig. 3.4).

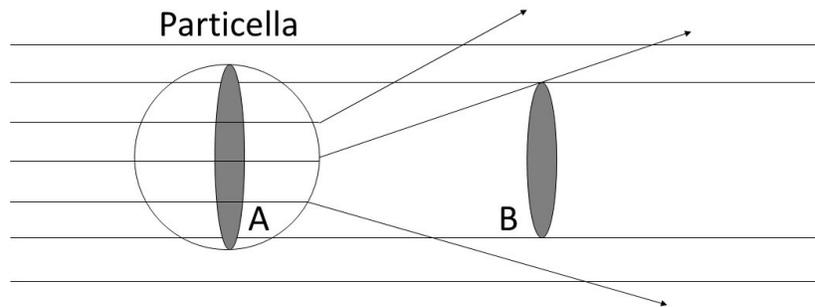


Figura 3.4: Sulla particella scatterante, incide un fascio di luce e si individuano due aree definite come (A) Cross-section geometrica, che corrisponde all'area nella sezione contro cui incide il fascio e (B) Cross-section effettiva, ovvero σ_s . Le due sono legate da una relazione di proporzionalità diretta attraverso una costante definita come *Efficienza di scattering*

Fattore di anisotropia g

Come spiegato precedentemente, l'effetto dello scattering è quello di deviare la traiettoria dei fotoni rispetto alla direzione rettilinea della propagazione incidente di un determinato angolo Θ . Il fattore di anisotropia, comunemente indicato come g , è una quantità adimensionale che rappresenta la componente di propagazione che viene mantenuta lungo la direzione di incidenza dopo un singolo evento di scattering. In particolare, è definito come il valor medio del coseno dell'angolo che si forma tra la nuova direzione di propagazione e quella di incidenza (Eq.3.7)

$$g = \langle \cos(\theta) \rangle \quad (3.7)$$

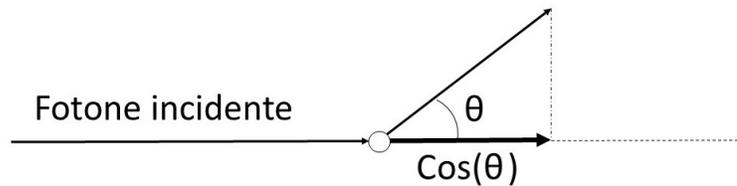


Figura 3.5: Visione grafica dell'angolo θ di deflessione e della componente rettilinea di propagazione che viene mantenuta dopo lo scattering ($\text{Cos}(\theta)$)

In accordo con la sua definizione (Eq. 3.7) si distinguono tre casi estremi:

- $g=-1$: caso in cui la direzione di propagazione viene completamente invertita
- $g=0$: caso in cui non prevale nessuna direzione in particolare, quindi lo scattering si dice *isotropo*
- $g=+1$: caso in cui il fotone continua a percorrere il suo percorso rettilineo senza essere deflesso

In accordo con quanto spiegato finora, si può facilmente intendere che la deflessione della traiettoria percorsa dai fotoni (Fig.3.1), quindi, impedisce l'utilizzo dell'equazione di *Lambert-Beer* (Eq. 3.2), dal momento che il tragitto percorso dalla luce non è più uguale alla sezione del campione attraversato.

3.2 Misura sperimentale dei parametri ottici

Le vaste possibilità di applicazione della luce come trattamento diagnostico e terapeutico, come accennato all'inizio di questo capitolo, hanno incrementato notevolmente la ricerca sulla misura dei parametri ottici dei vari tessuti biologici. Infatti in letteratura si possono trovare diverse raccolte di dati di vari tessuti biologici, analizzati sotto diverse condizioni e con lunghezza d'onda differenti. La pecca di questi dati risiede però nell'elevata variabilità dei trattamenti a cui i campioni analizzati vengono sottoposti, che incide considerevolmente

sulla valori dei parametri ottenuti e impedisce di trovare valori precisi,validi e utilizzabili in generale. Infatti anche le analisi in condizioni più controllate come, la caratterizzazione di tessuti *ex-vivo*, o lo studio di fantocci creati appositamente per simularli, non riescono a garantire una definitiva valutazione dei parametri, dal momento che anche piccole diverità nelle tempistiche e nelle modalità di conservazione dei campioni, o nelle procedure seguite per la realizzazione dei fantocci, possono far variare considerevolmente i valori dei parametri ottenuti. Il campo di ricerca, inoltre, oltre ad essere estremamente complesso, è ancora in netta espansione, dal momento è necessario tenere conto delle sostanziali differenze che ancora distinguono i parametri dei tessuti *ex-vivo* da quelli reali ottenibili *in-vivo*. Alcune ricerche hanno già tentato la misurazione dei parametri ottici *in-vivo*, in modo da poterli utilizzare come indicatori per lo stato di salute del tessuto, [7] ma ancora non è stata definita un'unica metodologia di indagine che possa essere preferita in assoluto rispetto alle altre o che garantisca l'assoluta validità dei valori trovati.[9]

In generale, le varie modalità di misura studiate in questi anni si basano sulla realizzazione di setup strumentali che prevedono l'utilizzo di una sorgente ottica e di un rivelatore luminoso. Dalla letteratura, è possibile distinguere due tipologie di misure effettuabili sui campioni; in entrambe una sorgente ottica viene collimata sul tessuto da analizzare e il dettore luminoso viene utilizzato ripettivamente per misurare o la componente scatterata fuori del campione (Componente di *retrodiffusione*) o quella che riesce ad attraversarlo (Componente *trasmessa*).

Misurazioni in retrodiffusione

Questa tipologia di misura prevede di colpire il tessuto da analizzare con un fascio di luce opportunamente generato e di misurarne la componente di retrodiffusione, detta anche *Back-scattered light*. Infatti parte della luce incidente sul campione non viene assorbita e a causa delle deflessioni causate dallo scattering riemerge dall'interfaccia invertendo la direzione di propagazione. In generale, quindi, la sonda afferente è posta vicina ai rilevatori luminosi, dalla stessa parte del campione (Fig. 3.6)

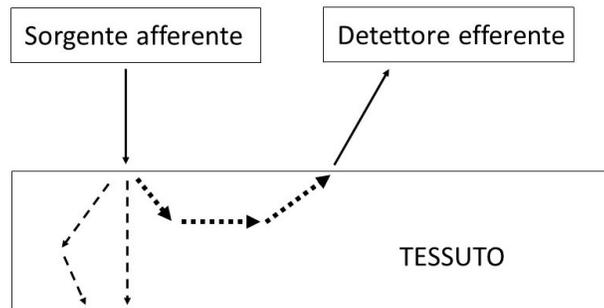


Figura 3.6: Schema generale dei setup di misura della componente di retrodiffusione

Un primo esempio di strumentazione utilizzata in questa tipologia di setup prevede di utilizzare un laser ad una lunghezza d'onda arbitraria come sorgente di luce e alcune fibre ottiche come detector luminosi. Ognuna di queste viene collegata ad un fotodiodo che converte la potenza ottica raccolta dalla fibra in corrente elettrica, che attraverso un amplificatore viene

a sua volta convertita in tensione e opportunamente digitalizzata e elaborata. [10] Utilizzando sempre il laser come fonte luminosa, una possibile variante alla tipologia precedentemente esposta di setup prevede l'utilizzo di una CCD camera (*Charge-Coupled Device*) per monitorare la componente retrodiffusa. Questo strumento permette di accumulare una carica elettrica proporzionale all'intensità della radiazione elettromagnetica che lo colpisce e di ottenere un segnale elettrico grazie al quale si può ricostruire una matrice di pixel che compongono la superficie colpita dal fascio luminoso. Questo dispositivo permette di aumentare il numero di punti di raccolta luminosa, rispetto al setup realizzato con le fibre ottiche.[11] Un'ulteriore possibile variante, prevede di modulare la sorgente luminosa in frequenza. Un esempio trovato in letteratura propone l'utilizzo di un diodo LED come sorgente di luce e alcuni fotodiodi come rilevatori di luce, il cui segnale viene trasformato in tensione e digitalizzato come spiegato in precedenza. In questo modo è possibile ricercare nel segnale misurato la sola componente alternata che si era impostata nella sorgente.[12]

Misurazioni in trasmissione

Questa tipologia di misura prevede di colpire il tessuto da analizzare con un fascio di luce opportunamente generato e di misurarne la componente di trasmissione, ovvero quella che attraversa interamente il tessuto e viene attenuata. In generale, quindi, la sonda afferente è posta controlateralmente ai detector luminosi rispetto al campione (Fig. 3.7).

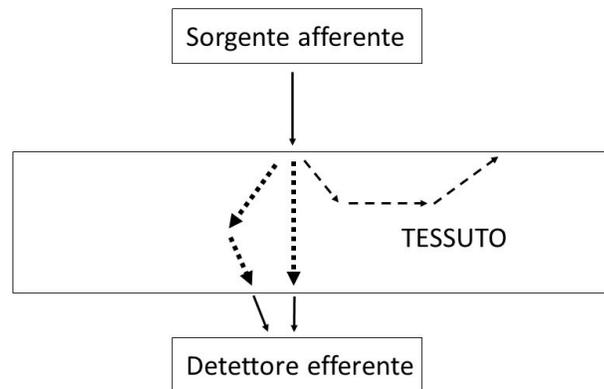


Figura 3.7: Schema generale dei setup di misura della componente di trasmissione

In generale, con questa tipologia di setup, è importante sapere lo spessore del campione analizzato, in quanto incide sull'attenuazione del segnale. Una prima possibilità può quindi essere quella di confinare il tessuto tra due dischi di vetro che lo comprimono leggermente in modo da associare il suo spessore alla distanza di questi vetri.[7] Un'altra possibilità interessante di misura prevede di analizzare il campione a diverse profondità e di ricostruire una curva intensità-spessore. Per poterla realizzare si deve analizzare il medesimo mezzo per spessori differenti, e per ognuno fare un'acquisizione.[13] Un'altra possibilità può essere quella di utilizzare una fibra ottica come detector luminoso e come elemento perforante, in modo da analizzare il tessuto a diversi spessori senza modificare niente, se non la posizione

della fibra. [14] In generale, anche per le misure di trasmissione, le sorgenti più comunemente utilizzate sono i laser o i diodi LED, e i rilevatori luminosi gli stessi di quelli già esposti per la misurazione della retrodiffusione.

Capitolo 4

Misura dei parametri ottici

Per poter valutare sperimentalmente l'interazione tra luce e tessuto, in questo progetto di tesi si è realizzato un setup che ha permesso di misurare l'intensità della luce che attraversa il campione in funzione del suo spessore. Il principio che regola il funzionamento di tale banco di misura consiste nel collimare un fascio di luce verso il campione in analisi e misurare quanta di questa lo attraversa per mezzo di una fibra ottica; quest'ultima penetra il campione a precisi step spaziali permettendo di costruire una curva intensità-spessore. In accordo con quanto riportato in letteratura, l'interpolazione di queste misure mostra l'andamento di una doppia esponenziale decrescente, da cui è stato possibile ricavare i valori di: μ_s e μ_a ovvero il coefficienti di scattering e quello di assorbimento [14].

4.1 Strumentazione e setup di misure

Il setup realizzato in questo progetto di tesi (Fig.4.4) si divide in: generazione del segnale luminoso, misura di intensità della luce attraverso il campione, acquisizione e elaborazione dei dati.

4.1.1 Generazione del segnale

Per la generazione del segnale si utilizzano:

- *Driver per il pilotaggio del LED* : Amplificatore di transconduttanza ($R=1.2 \Omega$)
- *Diodo LED* : Lumileds L1I0-0850090000000 per il campo infrarosso
- *Alimentatore da banco* : GPC-3030DQ
- *Generatore di segnali* : Agilent 33220A

Il diodo LED viene comandato attraverso il generatore di segnali per creare un'onda luminosa modulata in frequenza. In questo modo, nell'elaborazione dei dati, si ricercano le componenti con l'esatta frequenza impostata nel generatore, in modo da analizzare l'effetto

del campione sulla sola luce generata nel setup. Il diodo viene poi posto all'interno di un contenitore che ha l'obiettivo di schermare la luce proveniente dall'ambiente esterno e permette di posizionare il campione in analisi ad una distanza dalla sorgente luminosa tale da poter approssimare il fascio luminoso collimato. Quest'ultimo fuoriesce per incidere sul campione attraverso un foro rettangolare [3.5cm x 2.5cm] con un'area tendente a 10 cm^2 e coperto da un vetrino che permette il passaggio della luce ed evita che il campione si possa flettere all'interno dell'apertura. L'aspetto del foro è estremamente importante, dal momento che l'area del fascio di luce incidente, se inferiore ad una decina di centimetri quadrati, influenza l'intensità di luce detettata. Per dimensioni crescenti, invece, le misure non vengono più condizionate da questo fattore e si possono quindi calcolare parametri specifici del tessuto e non dipendenti dal setup. [15]

Purtroppo non è stato possibile ingrandire ulteriormente la dimensione del foro per aumentare questo margine di sicurezza dal momento che, in questo progetto, queste grandezze sono il miglior compromesso tra riuscire a dare valenza statistica e fare più misurazioni sullo stesso campione perforando nuove aree senza però creare zone in cui la finestra non sia interamente coperta dal tessuto.

4.1.2 Misura di intensità della luce

Per misurare l'intensità della luce che attraversa il campione in analisi si utilizzano:

- *Fibra ottica multimodale* FT-600-EMT connessa ad un fotodiodo
- *Attuatore di movimentazione* : TCube DC-Thorlabs Z825B
- *Amplificatore transimpedenza* : DHPA-100

La fibra ottica viene utilizzata per raccogliere la luce che riesce ad oltrepassare il campione analizzato e per farlo viene posizionata in linea con la sorgente luminosa interponendovi l'oggetto da analizzare. Per poter inoltre vedere come varia l'intensità della luce in funzione dello spessore del tessuto la fibra viene anche utilizzata come elemento perforante, in modo da esplorare l'intero spessore del campione a precisi step spaziali (Fig. 4.1). Questo aspetto è reso possibile dal momento che l'interfaccia tra fibra e tessuto avviene attraverso un'area così piccola da esercitare una pressione tale da riuscire a perforare campioni solidi-gelatinosi, come anche il fegato, senza danneggiare la fibra. L'estremo della fibra ottica non a contatto con il tessuto viene resinato ad un fotodiodo che permette di generare un segnale in corrente in funzione della luce che viene raccolta dalla fibra. Tutto questo viene incapsulato in uno stilo metallico per proteggere il segnale misurato dalla luminosità dell'ambiente (Fig. 4.2).

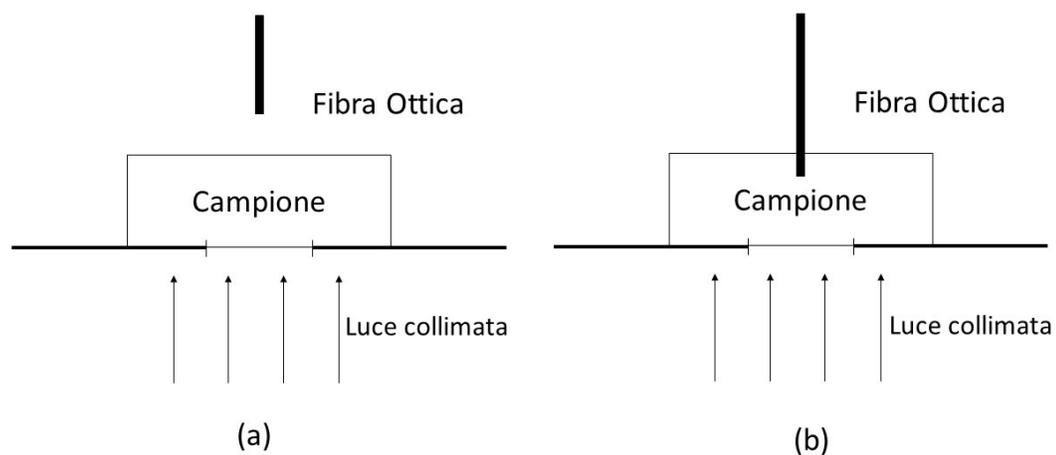


Figura 4.1: Misurazione intensità luminosa attraverso il campione: (a) Fibra fuori dal campione, setup prima delle misurazioni (b) Fibra in movimento dentro il campione durante le misurazioni



Figura 4.2: Fibra ottica e fotodiode incapsulato

Per poter muovere la fibra a precisi step spaziali, questa viene fissata ad una piastra metallica la cui posizione, in questo caso coincidente con la profondità analizzata del campione, viene controllata con un attuatore di movimentazione che viene comandato tramite un programma realizzato su LabVIEW. (Figura 10.1) Attraverso il *Front Panel* è stata realizzata un'interfaccia utente nella quale è possibile scegliere come muovere l'attuatore e quindi la fibra. Come si vede in figura 4.3 è possibile muovere il sistema:

- Di un determinato passo in una delle due direzioni: *Move Relative*
- Ad una posizione assoluta: *Set Abs Pos - Move Absolute*
- A precisi step spaziali a partire da una posizione assoluta iniziale ad una posizione finale arbitraria: *Start Acquisition*

Quest'ultima modalità è stata utilizzata per tutte le acquisizioni dei dati. Una volta posizionato il campione sul vetrino si imposta come posizione iniziale il suo spessore e come posizione finale lo zero (calibrato precedentemente in modo che la fibra entri in stretto contatto con il vetrino e abbia quindi attraversato l'intero campione). Gli step spaziali impostati nelle varie prove sono dell'ordine di qualche decimo di millimetro e negli ultimi due millimetri di spessore il passo impostato nell'interfaccia viene diminuito di un fattore pari a cinque, in modo da esplorare più punti e interpolare meglio la prima delle due esponenziali che compongono la curva dell'intensità sull'intero spessore del campione. Ad ogni passo la scheda di acquisizione digitalizza il segnale di tensione in uscita dall'amplificatore di transimpedenza. Quest'ultimo permette di trasformare in tensione la corrente in uscita dal fotodiode e di amplificarla di un fattore regolabile. Il fattore di amplificazione viene mantenuto costante per l'intera acquisizione della prova, ma viene modificato a seconda della tipologia e dello spessore del tessuto, cercando di amplificare il segnale senza saturare oltre la dinamica della DAQ.

4.1. Strumentazione e setup di misure

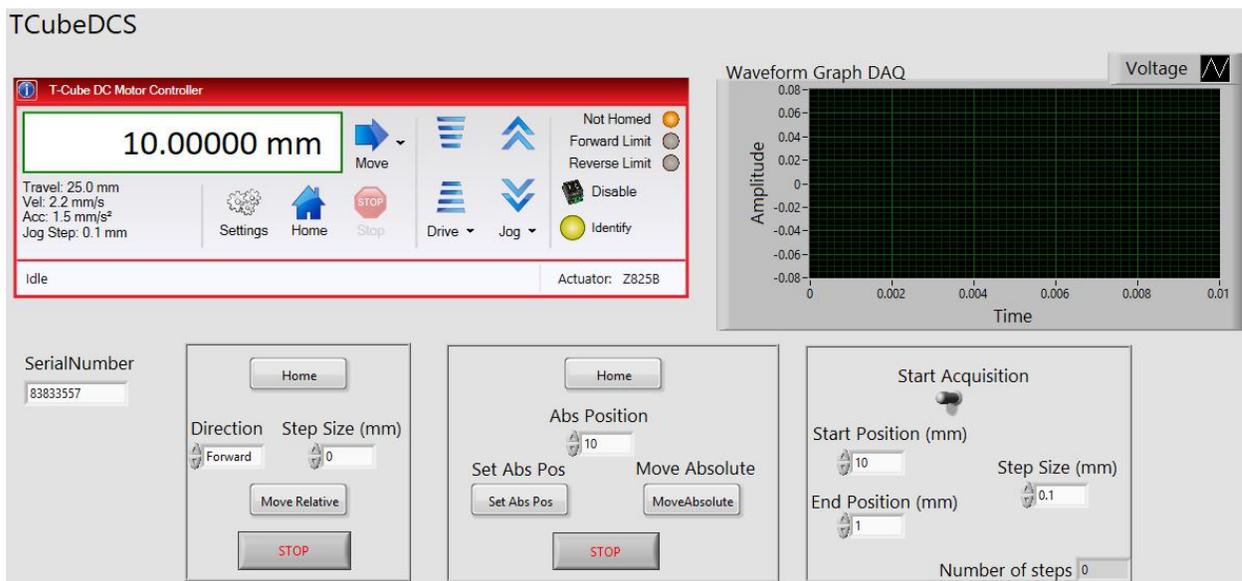


Figura 4.3: Interfaccia grafica per il controllo della movimentazione della fibra ottica

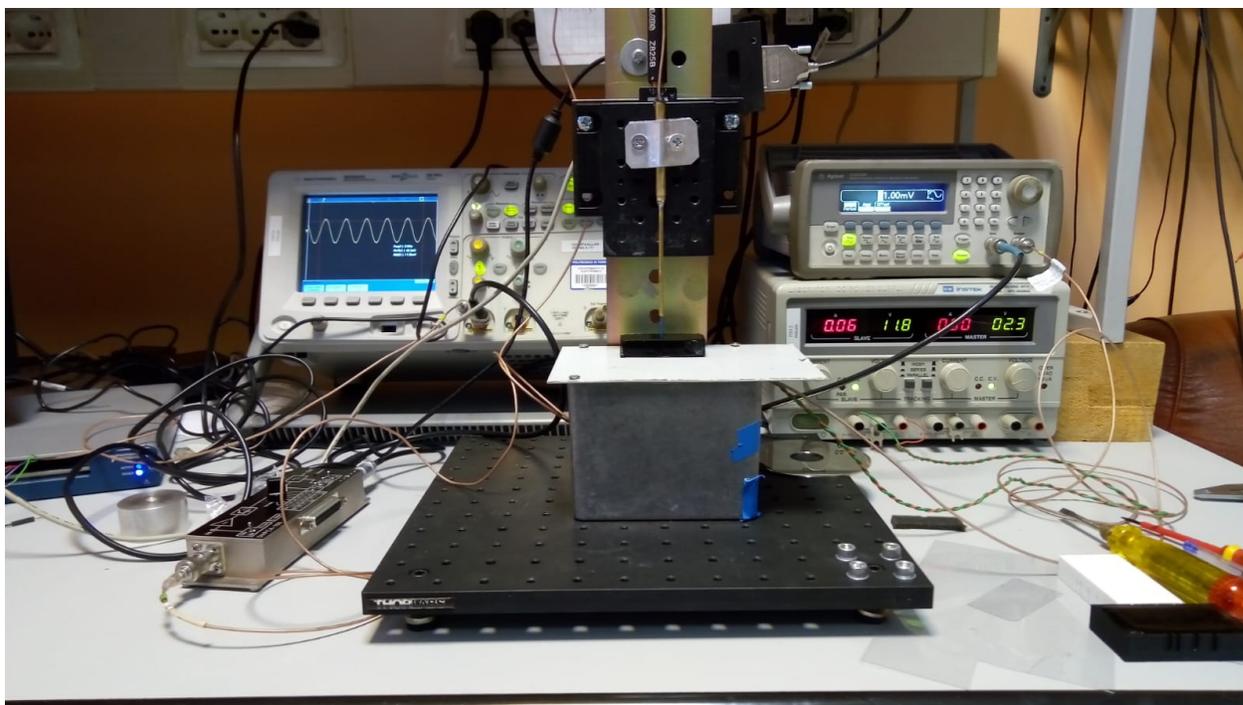


Figura 4.4: Setup di misura realizzato

4.1.3 Acquisizione e elaborazione dei dati

L'ultimo passaggio consiste nell'acquisire e elaborare i dati per mezzo di:

- *Scheda di acquisizione* : National Instruments DAQ 6343
- *LabVIEW* per il controllo dell'attuatore e il salvataggio delle misure
- *Matlab* per l'elaborazione dei dati

Come accennato precedentemente, la tensione in uscita dall'amplificatore di transimpedenza viene digitalizzata dalla scheda di acquisizione. Sempre nel medesimo progetto LabVIEW, si sono concatenate le strutture che comandano il posizionamento della fibra a quelle utilizzate per acquisire i dati e salvarli. Per ogni step spaziale, quindi, il programma permette alla DAQ di digitalizzare un numero arbitrario di punti della tensione ad una precisa frequenza di campionamento e i dati vengono salvati in un file *.txt*. Il ciclo while in cui il sistema di posizionamento e di acquisizione sono contenuti, permette quindi di aggiornare la posizione della fibra e per ognuno ripetersi la registrazione del segnale finchè non si raggiunge la posizione finale impostata. Alla fine dell'intera acquisizione, viene salvato un ulteriore file nella medesima estensione, contenente le posizioni assolute percorse dalla fibra durante la prova e per ultimo il sistema di movimentazione viene scollegato.

I file creati vengono poi caricati ed elaborati in Matlab in un secondo momento. In particolare, in questo passaggio l'obiettivo generale è quello di ricostruire una curva che monitora l'andamento dell'intensità della luce in funzione dello spessore del campione.

Per prima cosa si importano i file *.txt* generati con LabVIEW e si estraggono gli step spaziali analizzati e i dati relativi alla tensione acquisita, ovvero i valori di tensione e i corrispettivi istanti temporali in cui sono stati registrati. Di tutte le forme d'onda viene controllata l'ampiezza, in modo da verificare che questa appartenga alla dinamica della scheda di acquisizione, e in caso contrario dal momento che l'ampiezza di tale segnale non sarebbe indicativa dell'intensità della luce, appare un messaggio d'errore e l'acquisizione deve essere ripetuta diminuendo il guadagno dell'amplificatore. Di ogni forma d'onda viene poi calcolata la *Fast Fourier Transform - FFT* e si isola il suo valore nella posizione pari alla frequenza della sinusoide maggiorata di uno. In questo modo, avendo prima raddoppiato e normalizzato la trasformata di Fourier per il numero totale di campioni, si trova l'ampiezza della tensione misurata per tutte le acquisizioni fatte alle diverse profondità. L'analisi è limitata al solo valore di quel campione dal momento che nell'intervallo temporale di acquisizione si ripete un numero intero di periodi del segnale sinusoidale della sorgente. I valori delle ampiezze del segnale misurato, dopo essere stati normalizzati rispetto al loro valore massimo, vengono quindi graficati in funzione della posizione della fibra, ovvero lo spessore del campione che si interpone tra il fascio incidente e la fibra ottica. In accordo con quanto trovato in letteratura [14], i punti della curva ricalcano fedelmente l'andamento di una doppia esponenziale (Eq.4.1) caratterizzata da un decadimento più ripido per spessori intorno al millimetro e da un'attenuazione molto più lenta per spessori maggiori. Questa forte attenuazione per piccoli spessori del tessuto può essere giustificata considerando l'effetto scatterante del tessuto. Infatti a causa dell'interazione tra la luce e le particelle che costituiscono il mezzo, la traiettoria

dei fotoni viene deviata ed essendo il percorso particolarmente breve questi non riescono più a ritornare nel cono di apertura della fibra e per questo l'intensità decresce sostanzialmente. In questa regione, quindi, l'unico apporto luminoso è dovuto ai *ballistic photon*, ovvero ai fotoni che percorrono il mezzo con una traiettoria rettilinea. Aumentando invece lo spessore del tessuto, anche quelli che prima sono stati deviati possono essere catturati dalla fibra dal momento che le continue deflessioni di traiettoria causate dal mezzo scatterante posso, seppure con un percorso più lungo, riportarli nel raggio di apertura della fibra ottica.

Calcolo dei parametri ottici

Dalla curva intensità-spessore precedentemente descritta si posso estrarre i parametri ottici che caratterizzano il tessuto e ne descrivono l'interazione con la luce. Il principio di base è quello di analizzare i coefficienti di decadimento dell'intensità che caratterizzano la funzione utilizzata per l'interpolazione delle misure (Eq. 4.1). Questo equivale a separare le due pendenze, precedentemente illustrate, della curva in modo da ricavare i parametri μ_s e μ_a ovvero il coefficienti di scattering e quello di assorbimento. Per il fitting delle misurazioni si possono seguire due strade diverse:

- Estrapolare l'equazione della funzione composta dalla somma delle due esponenziali decrescenti utilizzando il comando `fit` di Matlab
- Interpolare i punti caratterizzati dalla pendenza rettilinea della curva logaritmica delle misurazioni ricercando un polinomio di primo grado con il comando `polyfit`

La prima modalità risulta essere certamente la più comoda e la più veloce, dal momento che Matlab fornisce in automatico l'intera funzione ricercata e quindi l'estrapolazione dei coefficienti è immediata. La seconda, invece, risulta essere più macchinosa dal momento che è richiesto all'utente di selezionare manualmente gli intervalli rettilinei in cui si valuta la pendenza della curva logaritmica. Se la prova non ha presentato alcune criticità, queste due opzioni portano al medesimo risultato, qualora invece nella curva si presentino tratti anomali è preferibile scegliere la seconda. Infatti questa seconda tipologia di analisi è stata proposta in vista della possibilità di trattare tessuti non omogenei, di cui un esempio può essere il fegato, dove la presenza di zone più o meno fibrose può incidere sulle misurazioni. Questo perchè nell'esplorare l'intero spessore del campione, una zona maggiormente fibrosa può ostacolare maggiormente la perforazione della fibra ottica e quindi distorcere localmente l'andamento della curva. In questi casi, l'algoritmo Matlab, cercando la funzione che meglio interpola tutti dati, rischia di variare gli esponenti delle esponenziali in modo da poter includere anche i punti di queste zone, portando nel peggiore dei casi ad avere l'esponenziale più ripida con un esponente positivo, il che risulta privo di significato. In queste circostanze è quindi preferibile selezionare manualmente le zone da interpolare escludendo quelle che possono fuorviare dalla corretta interpretazione dei dati. In tal caso le equazioni ricercate sono quelle di due rette, i cui coefficienti angolari sono pari all'inverso dei parametri σ_1 e σ_2 ricercati e spiegati nel resto del paragrafo. Un esempio grafico di quanto riportato si trova nella figura 4.5.

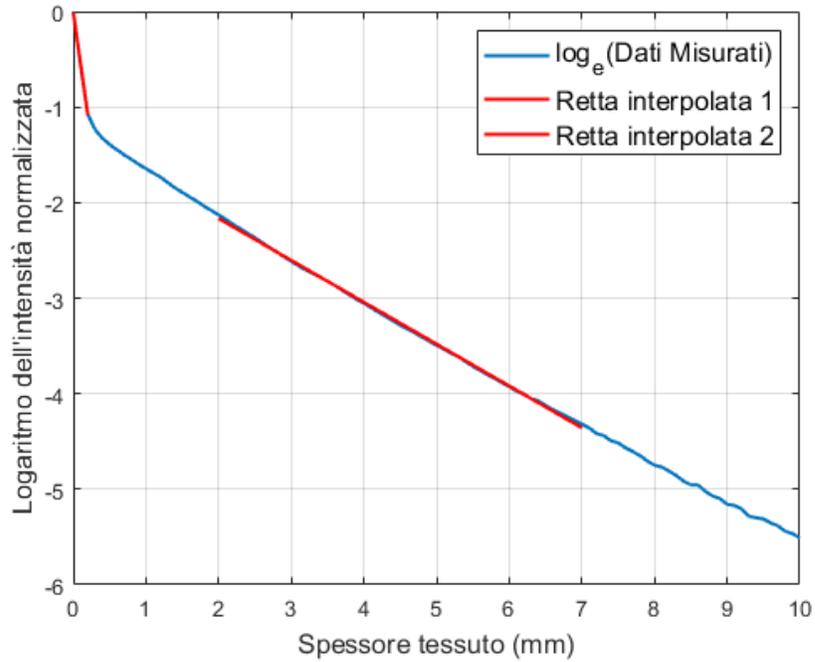


Figura 4.5: Esempio grafico che mostra l'individuazione delle due rette per il calcolo dei coefficienti σ_1 σ_2

Assumendo di lavorare con la funzione `fit` di Matlab, interpolando le misure si ottiene l'equazione che collega l'ampiezza del segnale A allo spessore del tessuto z :

$$A(z) = A_1 e^{B_1 z} + A_2 e^{B_2 z} \quad (4.1)$$

Da cui si ricavano:

$$\sigma_1 = -\frac{1}{B_1}; \sigma_2 = -\frac{1}{B_2} \quad (4.2)$$

Da questi due coefficienti σ_1 e σ_2 , seguendo le equazioni suggerite nell'articolo utilizzato come riferimento per la realizzazione del setup di misure [14], si possono calcolare i parametri ottici precedentemente citati attraverso le seguenti formule. Per la definizione dei parametri della fibra ottica utilizzati in queste equazioni fare riferimento alla sezione [7.1.1].

$$\mu_s = \frac{1}{(1 - e^{\frac{g-1}{\theta g}})\sigma_1} \quad (4.3)$$

Dove g rappresenta il fattore di anisotropia del tessuto e θ è l'angolo di accettazione della fibra, nel nostro caso pari a 17° e ricavato con la seguente formula:

$$\theta = a \sin\left(\frac{NA}{n}\right) \quad (4.4)$$

Dove NA è l'apertura numerica della fibra ottica utilizzata e nel nostro setup pari a 0.39; invece n è l'indice di rifrazione che caratterizza il mezzo in cui viaggia la luce e nei nostri esperimenti è stato approssimato a 1.33 dal momento che i fantocci analizzati erano composti prevalentemente da acqua. Per le misurazioni fatte con il fegato bovino, invece, viene modificato a 1.39 in accordo con la letteratura.[16]

Dall'equazione 4.3 si ricava poi il coefficiente di scattering ridotto:

$$\mu'_s = \mu_s(1 - g) \quad (4.5)$$

Infine il parametro μ_a si trova risolvendo la seguente equazione di secondo grado:

$$3\sigma_2^2\mu_a^2 + 3\mu'_s\sigma_2^2\mu_a - 1 = 0 \quad (4.6)$$

4.1.4 Campioni analizzati

Prima di analizzare il tessuto di interesse, il fegato, si sono fatte diverse prove su fantocci realizzati ad hoc per valutare innanzitutto la stabilità del setup realizzato e per poi vedere il contributo dello scattering e dell'assorbimento della luce simulando un tessuto biologico. In particolare, per analizzare separatamente questi due contributi, si sono realizzate ad analizzate due tipologie di campioni in Agar [17][18][19]:

- **A base China** : che permette di analizzare l'assorbimento della luce
- **A base di Intralipid® 20%** : che permette di valutare lo scattering. Questa è un'emulsione composta da:
 - Lipidi di soia : 200 g/1000 ml
 - Fosfolipidi da tuorlo d'uovo : 12 g / 1000 ml
 - Eccipienti : glicerolo anidro, acqua, idrossido di sodio

Questa sospensione viene generalmente impiegata a livello clinico come nutrimento endovenoso, ma è anche molto utilizzata per la realizzazione di fantocci che simulano lo scattering. Questo è reso possibile, in accordo con la teoria di Mie, grazie alla distribuzione e alla dimensione delle micelle sferiche che sono caratterizzate da diametri tra qualche decina fino a diverse centinaia di nanometri [20].

E' possibile modulare le proprietà ottiche del mezzo regolando opportunamente gli ingredienti precedentemente citati. Di seguito vengono riportate le modalità seguite per la realizzazione dei fantocci presi in analisi.

Fantoccio a base di inchiostro

Questa tipologia di fantoccio è la più semplice da realizzare. Infatti prevede di disciogliere l'Agar in un opportuno volume d'acqua distillata (circa pari al volume del phantom che si vuole realizzare) e portare lentamente ad ebollizione mantenendo la soluzione in agitazione. Dopo circa 1 minuto viene rimossa dal riscaldatore e viene aggiunta la China e infine il tutto viene colato in uno stampo e lasciato raffreddare. L'Agar è un polimero colloidale che ha l'obiettivo di addensare la soluzione acquosa rendendo quindi il fantoccio sformabile dallo stampo e di una consistenza solido-gelatinosa, senza influenzare i parametri ottici che si vanno a misurare. Generalmente i vari fantocci realizzati hanno percentuali di Agar fino al 5% di peso su tutto il volume della soluzione. Il quantitativo di inchiostro di China, invece, va scelto in base all'entità dell'assorbimento che si vuole avere. Un'immagine d'esempio di uno dei fantocci realizzati in questo modo è riportata in figura 4.6.

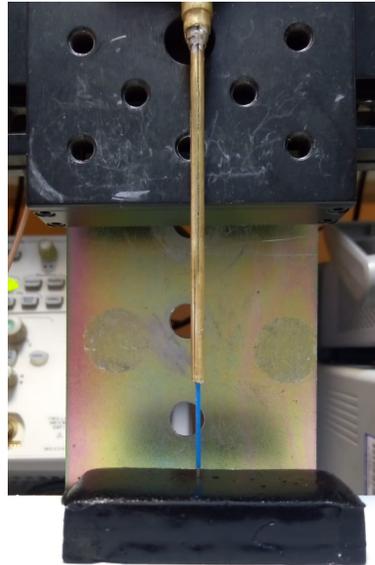


Figura 4.6: Fantoccio a base di inchiostro di china nel setup di misura. Nell'immagine si può anche notare la fibra ottica che penetra il campione durante l'acquisizione

Fantoccio a base di Intralipid[®]

Questa seconda tipologia presenta un processo di preparazione più lungo e leggermente più complicato. Per la sua realizzazione si è utilizzata la seguente strumentazione :

- Agitatore magnetico a riscaldamento controllato : *ARE Velp Scientifica[®]*
- Termocoppia di tipo *J* con acquisizione real-time attraverso *NI USB-TC01*
- Due becker termoresistenti
- Ingredienti per la realizzazione del fantoccio : acqua, agar e Intralipid[®]20%

In generale per la preparazione si seguono i seguenti passaggi (Fig. 4.8):

1. Analogamente a quanto descritto per la realizzazione del fantoccio a base di China, nel quantitativo di acqua distillata, questa volta pari alla metà del volume totale che si vuole ricreare, viene disciolto l'agar. Per farlo si utilizza un agitatore magnetico che scalda il composto fino a 100°C mescolandolo ad una velocità costante.
2. Raggiunta la fusione dell'agar, il becker viene posto in un secondo contenitore riempito di acqua. La temperatura di quest'ultima, e quindi anche la soluzione in agitazione, viene mantenuta a 40° e controllata attraverso l'utilizzo di una termocoppia. Nel Becker viene aggiunto l'Intralipid[®] e l'intero composto viene coperto e mantenuto in agitazione per 10 minuti.

3. La soluzione viene infine colata in un apposito stampo e lasciata raffreddare in modo che si solidifichi.

Risulta essenziale il controllo della temperatura e delle tempiste durante la preparazione di questo fantoccio, infatti se il mescolamento della soluzione intralipidica avviene per tempi troppo lunghi e a temperature troppo elevate le micelle lipidiche iniziano ad agglomerarsi e a separarsi dalla matrice acquosa in cui sono disperse e questo processo risulta essere irreversibile. Questo causa danni sostanziali alla misurazione dei coefficienti ottici, infatti la luce si trova così ad interagire con particelle di dimensioni sostanzialmente differenti, cambiando quindi il comportamento dello scattering [17]. Si consiglia quindi di rispettare i range di temperature e i lassi temporali precedentemente riportati. Inoltre è importante non permettere alla temperatura di scendere sotto i 35°C durante il mix della soluzione intralipidica, perchè in tal caso inizierebbe la solidificazione della soluzione gelatinosa impedendo quindi la corretta miscelazione delle due fasi. In figura 4.7 è riportato il fantoccio ottenuto con questa procedura.

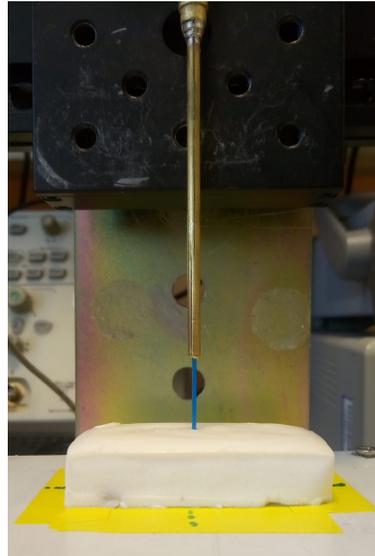


Figura 4.7: Fantoccio a base di inchiostro di Intralipid[®] nel setup di misura. Nell'immagine si può anche notare la fibra ottica che penetra il campione durante l'acquisizione

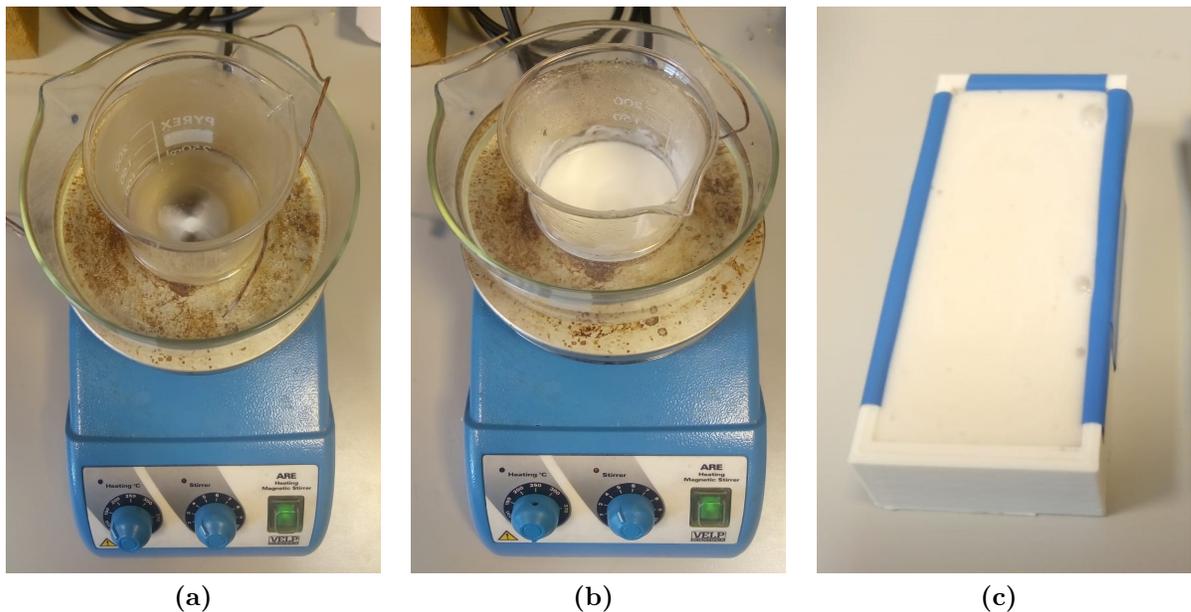


Figura 4.8: Passaggi per la preparazione del fantoccio a base di Intralipid[®]. Nel setup troviamo i due becker, l'agitatore magnetico a riscaldamento controllato e la termocoppia per il controllo di temperatura. Gli step di preparazione riportati sono: (a) Fusione di agar in acqua a 100°C (b) Aggiunta di Intralipid[®] quando la soluzione è raffreddata a 40°C (c) Colatura in uno stampo

4.2 Caratterizzazione ottica dei tessuti

Le misure effettuate utilizzando il setup realizzato in questo progetto di tesi, hanno interessato entrambe le tipologie dei fantocci descritti in precedenza. L'analisi è stata fatta utilizzando preliminarmente luce bianca che, anche se non ha una valenza pratica per la misurazione dei coefficienti ottici, ha permesso di valutare l'efficacia del sistema, la stabilità del banco di misura realizzato e il generico comportamento dei fantocci. Valutati questi aspetti, si è poi passati all'utilizzo di un diodo LED con lunghezza d'onda λ pari a 850 nm per misurare le proprietà ottiche del tessuto quando questo interagisce con il laser per la termoablazione, in cui solitamente si utilizzano lunghezza d'onda nel vicino infrarosso (intorno ai 1000 nm).[4]

4.2.1 Misure effettuate con luce bianca

Fantoccio a base di Intralipid[®]

Seguendo la procedura precedentemente descritta [4.1.4] è stato fabbricato un fantoccio all'8% di Intralipid[®] utilizzando i seguenti materiali con le quantità qui riportate:

- *Intralipid[®] 20%* : 30 ml \approx 30 g
- *Acqua distillata* : 30 g

- *Agar* : 1.5 g in modo da avere un fantoccio al 2.5% di gelificante.

Il campione è stato sottoposto a 20 prove consecutive in modo da valutare la ripetibilità delle prove in modo esaustivo. La strumentazione è stata settata con i seguenti parametri, mantenuti costati per tutte le prove.

- Spessore analizzato del campione, pari al suo spessore totale : 13 mm
- Step spaziale di acquisizione pari a 0.1 mm e mantenuto costante per tutta la prova
- Guadagno dell'amplificatore di transimpedenza : $10^5 \Omega$
- Forma d'onda creata con il generatore di segnali in ingresso al driver di pilotaggio del LED : Sinusoide
 - Frequenza : 313 Hz
 - Ampiezza : 60 mV ; minimo pari a 1 mV e massimo uguale a 61 mV
- Acquisizione DAQ:
 - Frequenza di campionamento : 10 kHz
 - Numero di campioni per ogni acquisizione : 10 000

Curva intensità-spessore

In figura 4.9 si riportano le curve intensità-spessore ricavate da queste prove, e in figura 4.10 il fitting con la funzione composta da due esponenziali decrescenti.

Osservazioni

Come si può facilmente notare dalla figura 4.9, le prove mostrano una bassissima variabilità e questo porta ad affermare che il setup di misure realizzato è stabile e permette misurazioni altamente ripetibili. Inoltre l'andamento della curva rispecchia le osservazioni fatte precedentemente [4.1.3]. Infatti grazie al potere prevalentemente scatterante dell'*Intralipid*[®], la curva mostra chiaramente i due tratti rettilinei distinti che caratterizzano i tessuti a causa dell'assorbimento e dello scattering (fig 4.9 (b)). In particolare rispetto al fantoccio costituito dalla sola China (Fig. 4.11), appare in modo evidente il tratto di forte attenuazione che si ha nei primi millimetri di spessore dal momento dove l'unico contributo è portato dai *ballistic photons* a causa dello scattering. Inoltre, l'interpolazione delle misurazioni effettuate risulta essere rumorosa solamente quando la fibra è situata all'inizio del campione e si analizzano grandi spessori del fantoccio. Questo risulta essere plausibile dal momento che il segnale che riesce ad oltrepassare il campione risulta essere sempre più piccolo ed inizia a prevalere la variabilità introdotta dal rumore.

Analizzando invece la figura 4.10, si può notare quanto i punti raccolti durante queste acquisizioni seguano in modo alquanto soddisfacente l'andamento della funzione composta dalle due esponenziali decrescenti riportate nell'equazione 4.1.

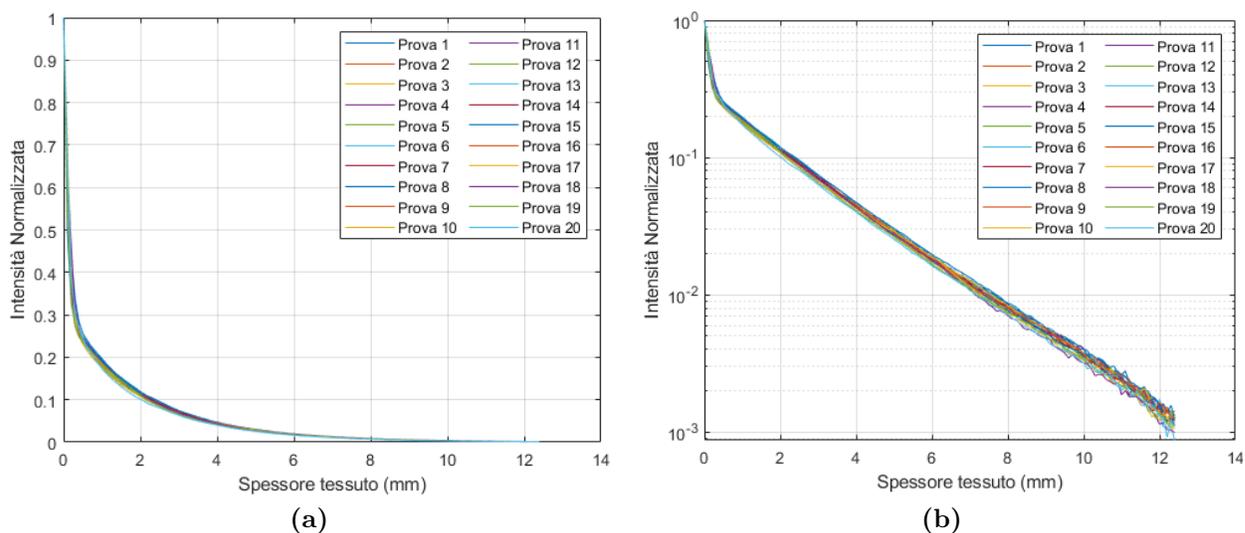


Figura 4.9: Curva intensità-spessore del fantoccio all'8% di Intralipid[®] analizzato con luce bianca. (a) Andamento lineare (b) Andamento semilogaritmico

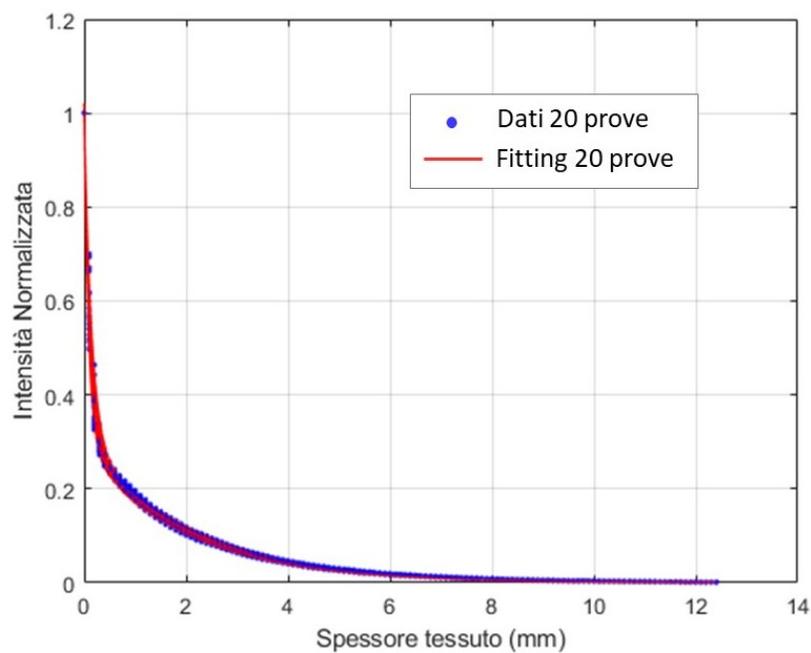


Figura 4.10: Interpolazione dei dati delle misurazioni effettuate sul fantoccio a base di Intralipid[®] attraverso il fitting di una funzione doppia esponenziale

Fantoccio a base di inchiostro di China

Sono stati realizzati, seguendo il procedimento precedentemente descritto [4.1.4], due fantocci in agar al 5% e con dosi crescenti di inchiostro:

- *Campione N°1* : 10% in peso
- *Campione N°2* : 30% in peso

Dal momento che la valutazione della stabilità del setup è già stata fatta con il fantoccio Intralipid, sui campioni a base di china si è valutato unicamente l'andamento delle curve in modo qualitativo, senza volerne dare valenza statistica. Per questo motivo, ogni campione è stato sottoposto a due prove consecutive e i parametri della strumentazione sono stati settati con i seguenti valori, mantenuti costati per tutte le prove.

- Spessore analizzato del campione, pari al suo spessore totale : 13 mm
- Step spaziale di acquisizione pari a 0.1 mm e mantenuto costante per tutta la prova
- Guadagno dell'amplificatore di transimpedenza : $10^5 \Omega$
- Forma d'onda creata con il generatore di segnali in ingresso al driver di pilotaggio del LED : Sinusoide
 - Frequenza : 313 Hz
 - Ampiezza : 60 mV ; minimo pari a 1 mV e massimo uguale a 61 mV
- Acquisizione DAQ:
 - Frequenza di campionamento : 10 kHz
 - Numero di campioni per ogni acquisizione : 10 000

Curva intensità-spessore

In figura 4.11 si riportano le curve medie di intensità-spessore ricavate dai due fantocci realizzati, e si riporta sia il loro andamento lineare che quello semilogaritmico.

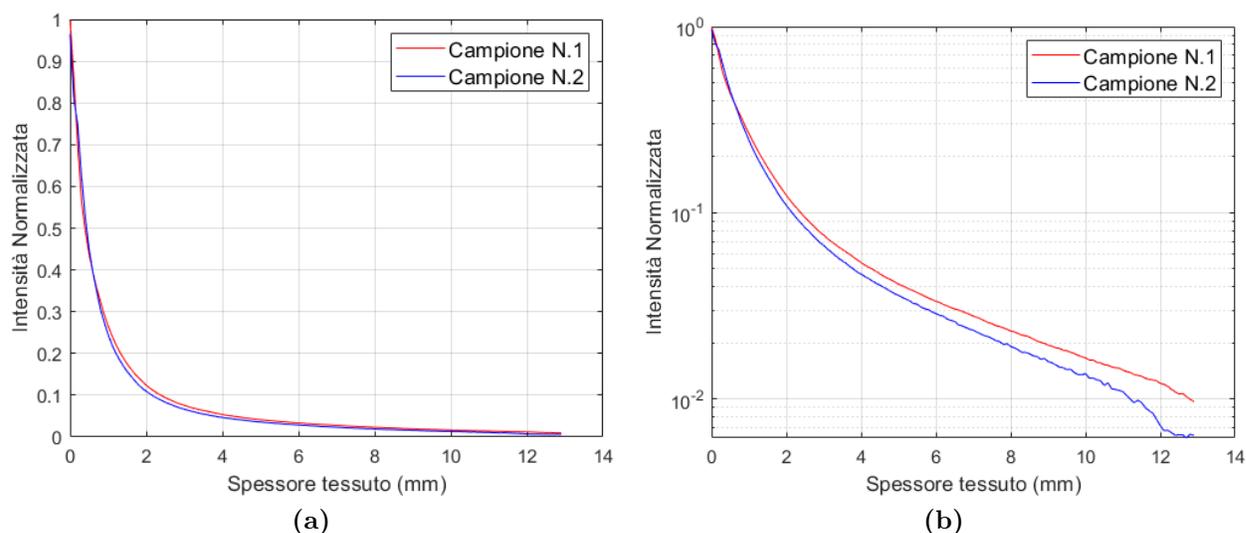


Figura 4.11: Curve medie di intensità-spessore dei fantocci a base di inchiostro di china analizzati con luce bianca. (a) Andamento lineare (b) Andamento semilogaritmico

Osservazioni

Analizzando qualitativamente l'andamento registrato nelle curve di intensità-spessore misurate con i due fantocci a base di inchiostro di china, è immediato notare che il decadimento dell'intensità della luce lungo il campione aumenta quando si accresce la concentrazione dell'inchiostro nel campione. Infatti il campione N.2 presenta un'attenuazione maggiore visibile nella figura 4.11 per spessori del campione maggiori a 1 mm. In accordo con quanto analizzato precedentemente [4.1.3], infatti, il comportamento dell'assorbimento del tessuto è deducibile proprio nella seconda parte della curva, per spessori maggiori, e il fatto che all'aumentare della concentrazione di inchiostro aumenti il decadimento conferma il corretto utilizzo della china come cromoforo per lo studio dell'assorbimento. Inoltre sempre sulla base delle considerazioni fatte nei capitoli precedenti, come ci si poteva aspettare, la curva non mostra un andamento di una doppia esponenziale, visibile invece nel campione realizzato per studiare lo scattering. Quest'ultimo aspetto è particolarmente evidente qualora si confrontino gli andamenti semilogaritmici delle curve registrate per i due fantocci (Fig.4.11 (b) e Fig. 4.9 (b)).

4.2.2 Misure nel campo dell'infrarosso

Una volta testata la stabilità e l'efficacia del setup realizzato, si è esteso lo studio dei parametri ottici al campo dell'infrarosso. Questa scelta è stata presa tenendo in considerazione il fatto che i parametri ricercati hanno una forte dipendenza dalla lunghezza d'onda della luce che interagisce con il materiale. Il diodo LED utilizzato nelle prove preliminari è stato quindi sostituito con un altro LED con emissione a $\lambda = 850$ nm per misurare le proprietà ottiche del tessuto quando interagisce con il laser per la termoablazione, in cui solitamente si utilizzano lunghezze d'onda nel vicino infrarosso (intorno ai 1000 nm).[4]

Fantoccio a base di Intralipid [®]

Analogamente a quanto esposto in precedenza, seguendo la procedura descritta nel paragrafo [4.1.4] è stato fabbricato un fantoccio al 10% di Intralipid [®] utilizzando i seguenti materiali e con le quantità qui riportate:

- *Intralipid [®] 20%* : 30 ml \approx 30 g
- *Acqua distillata* : 30 g
- *Agar* : 1.7 g

Il campione è stato sottoposto a 8 prove consecutive ripetute in zone diverse e la strumentazione è stata settata con i seguenti parametri, mantenuti costati per tutte le prove.

- Spessore analizzato del campione : 10 mm
- Step spaziale di acquisizione pari a 0.1 mm fino allo spessore di 2 mm; nell'ultimo tratto, ovvero per spessori inferiori a tale valore lo step spaziale viene diviso per un fattore pari a cinque, permettendo alla fibra di muoversi di 0.02 mm alla volta.
- Guadagno dell'amplificatore di transimpedenza : $10^5 \Omega$
- Forma d'onda creata con il generatore di segnali in ingresso al driver di pilotaggio del LED : Sinusoide
 - Frequenza : 313 Hz
 - Ampiezza : 50 mV ; minimo pari a 2 mV e massimo uguale a 52 mV
- Acquisizione DAQ:
 - Frequenza di campionamento : 10 kHz
 - Numero di campioni per ogni acquisizione : 10 000

Curva intensità-spessore

Di seguito si riportano le curve intensità-spessore ricavate da queste prove.

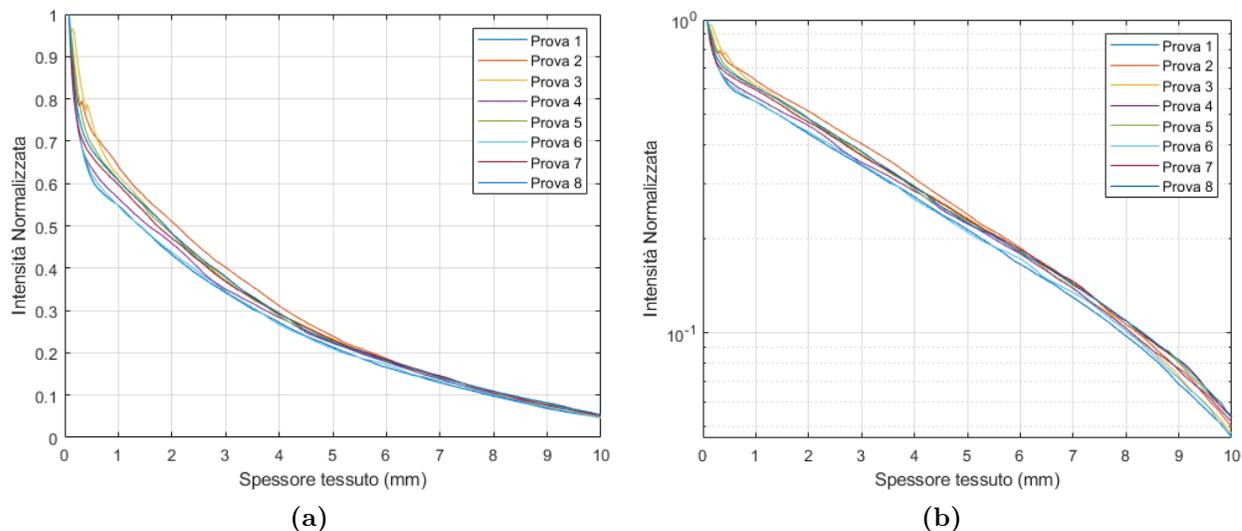


Figura 4.12: Curva intensità-spessore del fantoccio al 10% di Intralipid[®] analizzato con luce infrarossa. (a) Andamento lineare (b) Andamento semilogaritmico

Osservazioni

In accordo con quanto visto nell'analisi del campione scatterante illuminato da luce bianca, l'andamento medio delle curve mostra chiaramente i due tratti caratterizzati da due pendenze diverse, rispecchiando le osservazioni fatte precedentemente [4.1.3]. Dalla figura 4.12 si nota un aumento della variabilità tra le prove, questo soprattutto per spessori inferiori a 4-5 mm. Questo potrebbe essere dovuto a una leggera disomogeneità strutturale del fantoccio che può essersi creata durante il raffreddamento o la colatura. Non solo, ma due prove, la seconda e la settima, presentano alcuni punti anomali per spessori del fantoccio di qualche frazione di millimetro. Questo può essere dovuto nuovamente ad una disomogeneità locale che può essersi creata durante il raffreddamento o la colatura, come ad esempio la presenza di microbolle. Siccome questi outliers deviano l'interpolazione dal normale fitting a doppio esponenziale della curva, si fa sentire la criticità del comando `fit` di Matlab, infatti per poter cercare la curva che meglio interpola tutti punti, la pendenza dell'intero tratto viene modificata, andando quindi a stravolgere il risultato di σ_1 . Grazie al metodo esposto nel paragrafo 4.1.3, andando a ricercare il coefficiente angolare della retta che approssima l'andamento semilogaritmico della curva, si riesce a selezionare manualmente la zona da interpolare escludendo quindi queste ridotte zone anomale, permettendo così di utilizzare comunque queste prove per ottenere un risultati in linea con gli altri.

Parametri ottici

Utilizzando le equazioni spiegate nel capitolo 4.1.3 si calcolano i coefficienti σ_1 e σ_2 da cui si ricavano i parametri ottici μ_a e μ_s . Di seguito vengono riportati i valori dei coefficienti delle due esponenziali che interpolano i dati raccolti (Tab. 4.1) in modo da poterli confrontare con quelli mostrati nell'articolo utilizzato come riferimento per la realizzazione del setup[14] (Tab. 4.2).

$\lambda(nm)$	$\bar{\sigma}_1 \pm S.E.(mm)$	$\bar{\sigma}_2 \pm S.E.(mm)$
850	0.70 ± 0.08	4.13 ± 0.03

Tabella 4.1: Coefficienti della funzione esponenziale, σ_1 e σ_2 , ricavati dalle misurazioni fatte sul fantoccio a base di Intralipid[®] con luce infrarossa

$\lambda(nm)$	$\sigma_1(mm)$	$\sigma_2(mm)$
660	0.17	5.30
532	0.10	5.85

Tabella 4.2: Coefficienti di riferimento della funzione esponenziale, σ_1 e σ_2 [14]

Sebbene l'articolo scientifico citato utilizzi lunghezze d'onda differenti, viene ugualmente utilizzato come riferimento dal momento che ha guidato questo lavoro di tesi sia per la realizzazione del setup che per la fabbricazione del fantoccio. Dai risultati si può notare che i coefficienti trovati sperimentalmente ricalcano quelli trovati in letteratura, specialmente σ_2 . Il parametro σ_1 , invece, è quello più critico, infatti presenta un errore standard maggiore e un valore che si discosta in modo non trascurabile da quello di riferimento. Questo è in accordo con le difficoltà misuristiche che si incontrano nell'acquisizione di questi dati, infatti, il tratto a maggiore pendenza che caratterizza questo parametro si concentra in uno spessore del tessuto molto limitato, e sebbene si aumentino il numero di punti esplorati in quella zona, risulta ancora sempre difficile analizzarla in modo esaustivo e soddisfacente. Un altro fatto di cui tenere conto nel valutare le differenze tra i coefficienti misurati e quelli presi come riferimento è la variabilità della curve e la presenza degli outliers già notati in precedenza, che sono facilmente legati a disomogeneità createsi nella realizzazione del fantoccio e che quindi incidono sul calcolo dei parametri.

Fantoccio a base di inchiostro di China e Intralipid [®]

Per valutare il comportamento dello scattering unito all'assorbimento, simulando un tessuto biologico, si realizza un fantoccio che unisce tali proprietà combinando la soluzione intralipidica con l'inchiostro di China. Unendo quindi le procedure di preparazione descritte nel paragrafo [4.1.4] è stato fabbricato un fantoccio al 10% di Intralipid [®], esattamente come nel paragrafo precedente, aggiungendo solo la china prima della colatura nello stampo. In particolare si sono utilizzati:

- *Intralipid [®] 20%* : 30 ml \approx 30 g
- *Acqua distillata* : 30 g
- *Agar* : 1.7 g
- *Inchiostro di China* : 5.8 g, in modo da avere un fantoccio al 15.16% in peso

Il campione è stato sottoposto a 8 prove consecutive ripetute in zone diverse e la strumentazione è stata settata con i seguenti parametri, mantenuti costati per tutte le prove.

- Spessore analizzato del campione : 10 mm
- Step spaziale di acquisizione pari a 0.1 mm fino allo spessore di 2 mm; nell'ultimo tratto, ovvero per spessori inferiori a tale valore, lo step spaziale viene diviso per un fattore pari a cinque, permettendo alla fibra di muoversi di 0.02mm alla volta.
- Guadagno dell'amplificatore di transimpedenza : $10^5 \Omega$
- Forma d'onda creata con il generatore di segnali in ingresso al driver di pilotaggio del LED : Sinusoide
 - Frequenza : 313 Hz
 - Ampiezza : 70 mV ; minimo pari a 2 mV e massimo uguale a 72 mV
- Acquisizione DAQ:
 - Frequenza di campionamento : 10 kHz
 - Numero di campioni per ogni acquisizione : 10 000

Curva intensità-spessore

Nelle figure 4.13 e 4.14 è possibile osservare le curve intensità-spessore ricavate da queste prove e il loro fitting con la funzione composta da due esponenziali decrescenti.

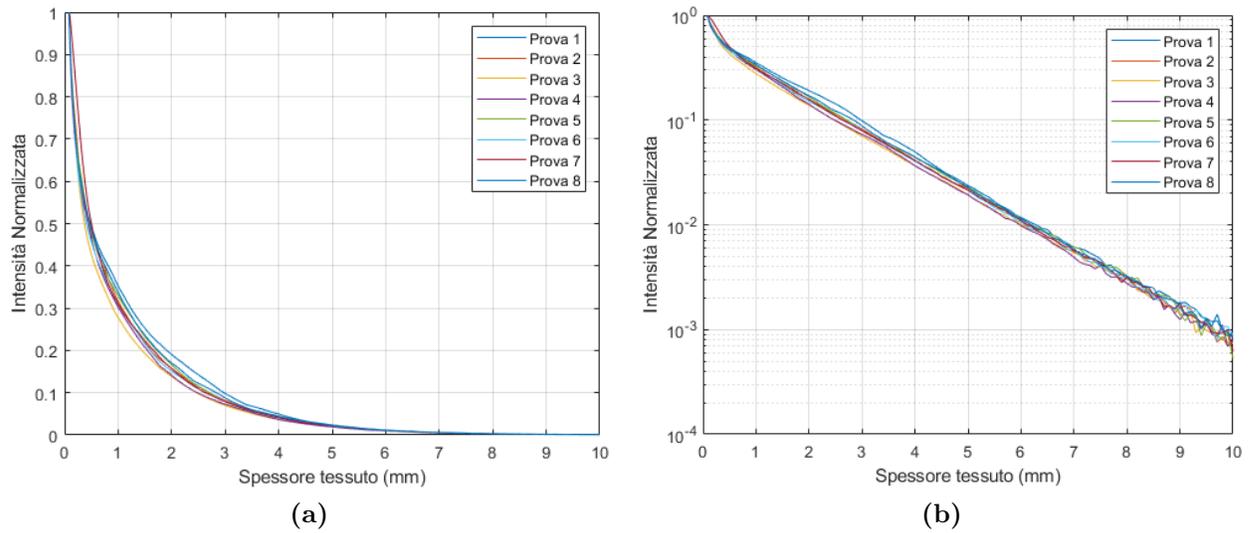


Figura 4.13: Curva intensità-spessore del fantoccio al 10% di Intralipid e China[®] analizzato con luce infrarossa. (a) Andamento lineare (b) Andamento semilogaritmico

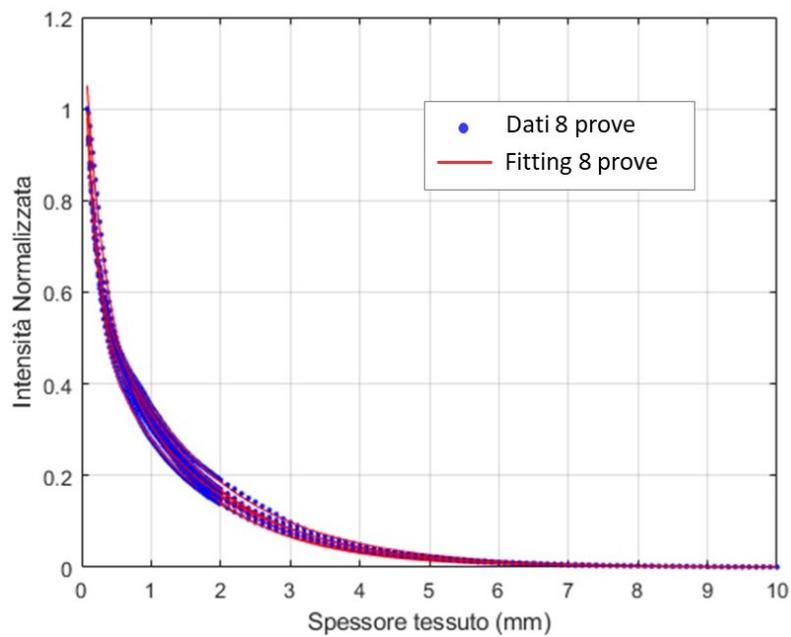


Figura 4.14: Interpolazione dei dati delle misurazioni effettuate sul fantoccio a base di Intralipid[®] e Inchiostro di China attraverso il fitting di una funzione doppia esponenziale

Osservazioni

Ancora una volta l'andamento medio delle curve mostra chiaramente i due tratti caratterizzati da due pendenze diverse, rispecchiando le osservazioni fatte precedentemente [4.1.3]. Confrontando la figura 4.13 con la figura 4.12 si nota l'aumento dell'assorbimento causato dalla china che viene aggiunta alla ricetta seguita per realizzazione del solo fantoccio a base di Intralipid. Infatti, a parità di spessore, l'attenuazione in quest'ultimo è nettamente maggiore; per facilità si osservi che a 10 mm si ha un'attenuazione di tre decadi rispetto alle due ottenute con il solo scattering. Per questo motivo, inoltre, il segnale in questa zona si presenta più rumoroso. A differenza delle prove effettuate con il fantoccio intralipidico, queste misurazioni non hanno riportato particolari anomalie nei punti della curva intensità-spessore. Per questo motivo i valori dei coefficienti σ_1 e σ_2 sono stati calcolati attraverso il comando `fit` di Matlab e in figura 4.14 se ne trova una rappresentazione grafica.

Parametri ottici

Utilizzando le equazioni spiegate nel capitolo 4.1.3 si ricavano i coefficienti σ_1 e σ_2 da cui si ricavano i parametri ottici μ_a e μ_s . Di seguito vengono riportati i valori dei coefficienti delle due esponenziali che interpolano i dati raccolti (Tab. 4.3) in modo da poterli confrontare con quelli mostrati nell'articolo utilizzato come riferimento per la realizzazione del setup [14] (Tab. 4.4).

$\lambda(nm)$	$\bar{\sigma}_1 \pm S.E.(mm)$	$\bar{\sigma}_2 \pm S.E.(mm)$
850	0.148 ± 0.018	1.450 ± 0.033

Tabella 4.3: Coefficienti della funzione esponenziale, σ_1 e σ_2 , ricavati dalle misurazioni fatte sul fantoccio a base di Intralipid[®] e China con luce infrarossa

$\lambda(nm)$	$\sigma_1(mm)$	$\sigma_2(mm)$
660	0.180	1.790
532	0.100	1.330

Tabella 4.4: Coefficienti di riferimento della funzione esponenziale, σ_1 e σ_2 [14]

Confrontando le tabelle 4.3 e 4.4 si può notare che i risultati ottenuti sono in linea con quelli di riferimento, non solo, ma i valori ridotti dello standard error confermano l'omogeneità del fantoccio e la stabilità del setup realizzato. Si sottolinea che utilizzando sorgenti luminose a lunghezza d'onda differenti da quelle utilizzate nell'articolo di riferimento, anche nel migliore dei casi non ci si possono aspettare valori uguali a quelli della tabella 4.4, ma vengono comunque presi come riferimento per confrontare la realizzazione del fantoccio e la costruzione del setup di misure. La bontà dei risultati è confermata anche dal calcolo dei parametri

ottici μ_a e μ_s , infatti seguendo le formule spiegate nel paragrafo 4.1.3 si ottengono risultati comparabili con quelli di riferimento.

$\lambda(nm)$	$\bar{\mu}_a \pm S.E.(mm^{-1})$	$\bar{\mu}_s \pm S.E.(mm^{-1})$
850	0.060 ± 0.005	10.390 ± 0.810

Tabella 4.5: Coefficienti della funzione esponenziale, μ_a e μ_s , ricavati dalle misurazioni fatte sul fantoccio a base di Intralipid[®] e China con luce infrarossa

$\lambda(nm)$	$\mu_a(mm^{-1})$	$\mu_s(mm^{-1})$
660	0.055	5.620
532	0.066	11.500

Tabella 4.6: Parametri ottici μ_a e μ_s di riferimento del fantoccio a base di Intralipid[®] e china [14]

Fegato *ex-vivo*

Analizzate e verificate le proprietà del setup di misura realizzato, si procede all'analisi ottica di un campione di fegato bovino *ex-vivo*, tessuto biologico di interesse per questa ricerca. Questo è il primo passo possibile verso lo studio del fenomeno che regola il processo di termoablazioni nel fegato umano. Il numero delle variabili da tenere in considerazione è davvero elevato e per quanto possibile si è ricercato, già in queste prime prove, di ricondursi il più possibile alle condizioni migliori, senza dimenticare quanto queste simulazioni si discostino dall'applicazione *in-vivo* e ancora di più dalla condizione fisio-patologica di un trattamento chirurgico umano.

Per la realizzazione di queste prove è stato utilizzato il medesimo setup descritto nei paragrafi precedenti, utilizzando una sorgente infrarossa con lunghezza d'onda pari a 850 nm per simulare il laser del trattamento termico di termoablazione. Si è analizzato un campione di fegato bovino a quattro giorni dalla macellazione che non è stato sottoposto ad alcun trattamento chimico, se non la conservazione in ambiente fresco e controllato per prevenirne la degradazione. Dimensionalmente la fetta analizzata era caratterizzata da uno spessore uniforme di circa un centimetro, e per quanto possibile, si è ricercata una zona priva di vasi sanguigni. (Fig.4.15)

Il campione è stato sottoposto a 5 prove consecutive ripetute in zone diverse e la strumentazione è stata settata con i seguenti parametri, mantenuti costati per tutte le prove.

- Spessore analizzato del campione : 8 mm
- Step spaziale di acquisizione pari a 0.1 mm fino allo spessore di 2 mm; nell'ultimo tratto, ovvero per spessori inferiori a tale valore lo step spaziale viene diviso per un fattore pari a cinque, permettendo alla fibra di muoversi di 0.02mm alla volta.
- Guadagno dell'amplificatore di transimpedenza : $10^5 \Omega$
- Forma d'onda creata con il generatore di segnali in ingresso al driver di pilotaggio del LED : Sinusoide
 - Frequenza : 313 Hz
 - Ampiezza : 50 mV ; minimo pari a 2 mV e massimo uguale a 52 mV
- Acquisizione DAQ:
 - Frequenza di campionamento : 10 kHz
 - Numero di campioni per ogni acquisizione : 10 000

Curva intensità-spessore

Di seguito si riportano le curve intensità-spessore ricavate da queste prove. (Fig.4.16)

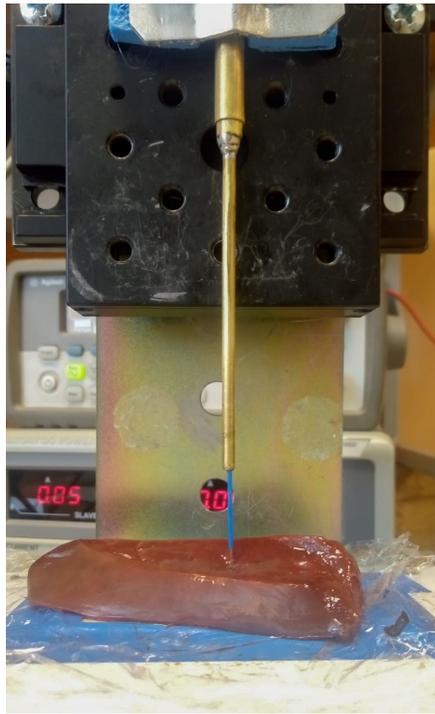


Figura 4.15: Campione del fegato bovino analizzato nel setup di misura. Nell'immagine si può anche notare la fibra ottica che penetra il tessuto durante l'acquisizione

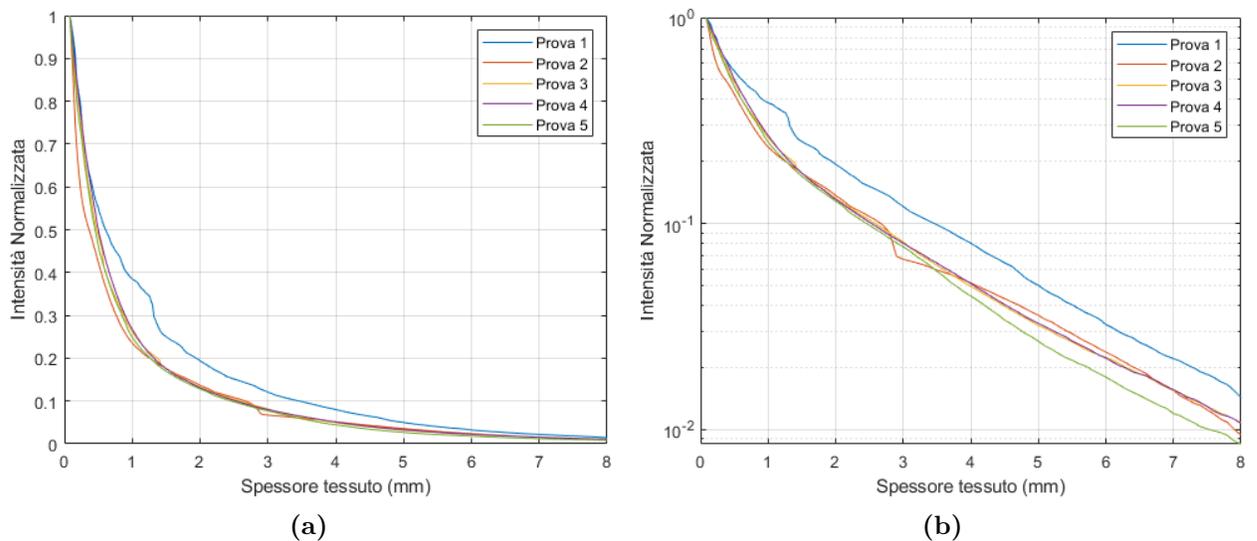


Figura 4.16: Curva intensità-spessore del campione di fegato bovino analizzato nel campo dell'infrarosso. (a) Andamento lineare (b) Andamento semilogaritmico

Osservazioni

A differenza del fantoccio a base di Intralipid[®] (Figura 4.13) il tratto a maggiore pendenza, limitato a spessori di alcuni decimi di millimetri, non si evidenzia più in modo così marcato, ma si distinguono ancora in modo chiaro le due zone caratterizzate da due pendenze differenti (Figura 4.16 (b)), e questo conferma che il tessuto biologico in analisi è caratterizzato da entrambi i fenomeni di scattering e di assorbimento. Un'altra importante considerazione è che, sebbene il numero di prove risulti essere limitato, solamente la prova numero uno sembra discostarsi particolarmente dall'andamento generale delle misure. Questo, però, non incide eccessivamente sul calcolo delle esponenziali interpolanti dal momento che, come si vede soprattutto nella figura 4.16 (a) interessa solo una zona centrale e non le estremità della curva che ne contraddistinguono i due andamenti. Considerando inoltre che questa anomalia si presenta in una sola prova e in una zona limitata a qualche millimetro, può essere dovuta all'inomogeneità del tessuto, infatti durante le acquisizioni si sono osservate alcune zone di fegato più fibrose rispetto alle altre. In queste ultime la fibra ottica incontra maggiori difficoltà nel perforare il tessuto e quindi in alcuni tratti si ha una semplicemente compressione, e non una foratura, durante la discesa della fibra e quindi localmente i parametri sembrano essere diversi.

Per permettere un confronto immediato, le curve analizzate sono state messe a confronto con l'attenuazione che si misura nel vuoto, ovvero ripercorrendo gli stessi step spaziali, ma senza interporre alcun mezzo tra la sorgente LED luminosa e la fibra ottica di raccolta. Tale rappresentazione (Figura 4.17) mette in evidenza l'attenuazione della luce infrarossa attraverso il fegato rispetto all'attenuazione spaziale che si ha nell'aria. Questo significa che la luce interagisce molto con il tessuto e molta di questa decade dentro di esso. I valori dei coefficienti σ_1 e σ_2 sono stati calcolati attraverso il comando `fit` di Matlab e in figura 4.18 si trova una rappresentazione grafica dell'interpolazione effettuata.

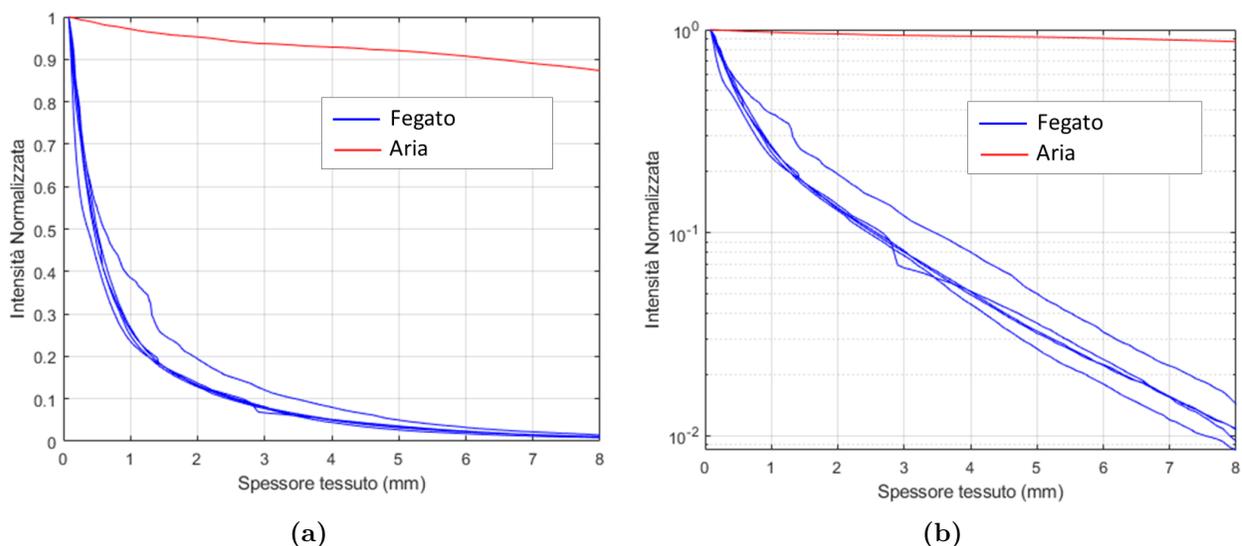


Figura 4.17: Confronto tra curva intensità-spessore del campione di fegato bovino e attenuazione libera in aria. (a) Andamento lineare (b) Andamento semilogaritmico

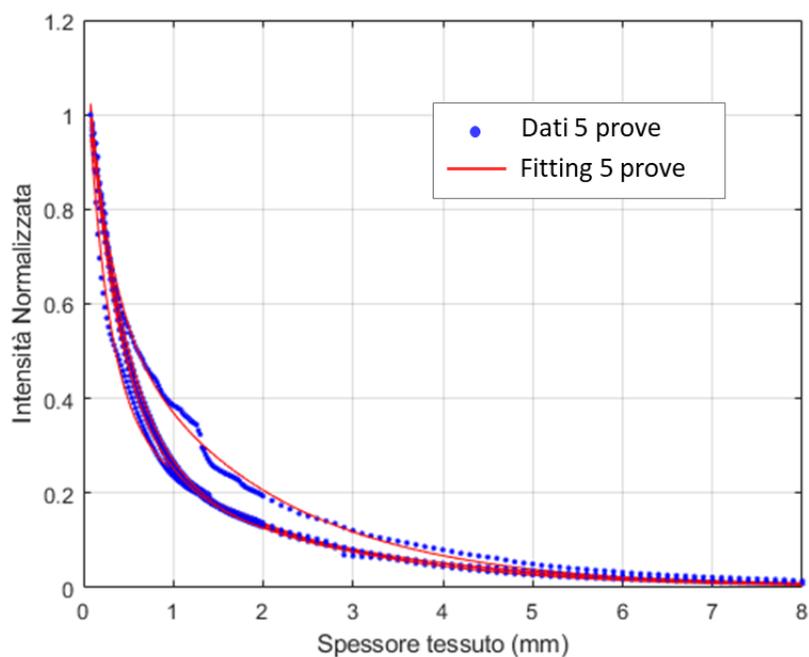


Figura 4.18: Interpolazione dei dati delle misurazioni effettuate sul campione di fegato bovino attraverso il fitting di una funzione doppia esponenziale

Parametri ottici

Utilizzando le equazioni spiegate nel capitolo 4.1.3 si ricavano i coefficienti σ_1 e σ_2 da cui si ricavano i parametri ottici μ_a e μ_s . Cambiando il mezzo analizzato, rispetto ai calcoli fatti per i parametri ottici dei fantocci, il fattore di anisotropia g (Eq. 4.3) viene fissato pari a 0.9 [21] [22] e l'indice di rifrazione n , utile a calcolare l'angolo di accettazione θ (Eq. 4.4), pari a 1.39. [16] Nella tabella 4.7 vengono riportati i valori dei coefficienti delle due esponenziali che interpolano i dati raccolti e i parametri ottici di assorbimento e scattering.

$\lambda(nm)$	$\bar{\sigma}_1 \pm S.E.(mm)$	$\bar{\sigma}_2 \pm S.E.(mm)$
850	0.327 ± 0.038	2.053 ± 0.110
$\lambda(nm)$	$\bar{\mu}_a \pm S.E.(mm^{-1})$	$\bar{\mu}_s \pm S.E.(mm^{-1})$
850	0.076 ± 0.003	10.015 ± 1.235

Tabella 4.7: Coefficienti della funzione esponenziale σ_1 , σ_2 e i parametri ottici μ_a e μ_s , del campione di fegato bovino analizzato con luce infrarossa

Osservazioni

A differenza dei dati misurati con i fantocci a base di inchiostro di china o con soluzione intralipidica, la valutazione dell'attendibilità dei risultati ottenuti per il campione di fegato è più complicata dal momento che l'analisi dei parametri ottici dei tessuti biologici è sì molto estesa, ma i tessuti di interesse, le specie animali studiate e le lunghezze d'onda utilizzate possono essere così numerose che risulta difficile trovare un confronto diretto con le prove che si effettuano. Di seguito si riportano alcuni valori presi come riferimento generale, sebbene risulti quasi impossibile trovare un altro studio che replichi esattamente il tessuto e le condizioni di analisi di questo lavoro.

<i>Tessuto</i>	$\lambda(nm)$	$\bar{\mu}_a \pm S.E.(mm^{-1})$	$\bar{\mu}_s \pm S.E.(mm^{-1})$
<i>Bovino</i> [23]	633	0.30 ± 0.01	10.12 ± 0.05
<i>Bovino</i> [23]	751	0.17 ± 0.01	3.23 ± 0.01
<i>Bovino</i> [24]	1064	$0.05 \pm n.d.$	$1.76 \pm n.d.$
<i>Porcino</i> [21]	850	0.07 ± 0.01	5.39 ± 0.11

Tabella 4.8: Confronto parametri ottici μ_a, μ_s del fegato

La difficoltà nel trovare un diretto confronto con i parametri della letteratura è chiaramente descritto negli articoli da cui sono stati estrapolati i dati qui riportati, infatti, le possibili varianti possono essere molteplici e ognuna di queste può incidere sul risultato numerico ottenibile. Nel valutare la correttezza dei risultati bisogna tenere conto della differenza anatomica

che si ha nell'analizzare tessuti provenienti da specie animali differenti, la disomogeneità del tessuto stesso che incide sulla variabilità delle misure ottenibili dallo stesso campione, e anche la condizione fisio-patologica dell'animale. Inoltre, per dare maggiore validità ai risultati, a livello statistico sarebbe opportuno valutare anche la variabilità inter-soggetto, analizzando diversi campioni provenienti da diversi animali. In generale, l'aspetto che accomuna tutte le prove *ex-vivo* e che incide notevolmente sulle misurazioni è la modalità di conservazione del campione biologico e il lasso temporale trascorso dall'asportazione dell'animale alla prova di misura. Pensando inoltre all'applicabilità di questi parametri ottici al fine di valutare e prevedere l'estensione del trattamento termo-ablativo bisogna ancora tenere conto che durante il trattamento termico gli stessi parametri ottici cambiano nel tempo, infatti il danneggiamento dei cromofori come l'emoglobina cambia il potere di assorbimento del tessuto e la denaturazione delle proteine causa un cambiamento sostanziale al coefficiente di scattering.[21]

Naturalmente risulta estremamente difficile, se non quasi impossibile, realizzare delle misure che tengano conto di tutte queste variabili e valutino nel dettaglio ogni casistica possibile, e questo rappresenta proprio il problema che rimane tuttora aperto riguardo alla caratterizzazione dei tessuti biologici e su cui ancora si sta lavorando. In questo progetto di tesi, però, valutando la globalità delle prove effettuate sia sui fantocci che sul tessuto *ex-vivo*, si evidenzia una generale confrontabilità con i dati trovabili in letteratura, quindi questo permette ancora una volta di confermare la risuscita nella costruzione del setup sperimentale.

Analizzando invece i valori numerici dei coefficienti ottici ritrovati, si può notare che l'effetto dello scattering è estremamente importante nell'interazione tra luce e fegato, ed un parametro che non è possibile da trascurare. In generale, il valore contenuto del coefficiente di assorbimento e quello non trascurabile dello scattering, sembrano quindi confermare numericamente l'efficacia del trattamento termoablativo al fegato. Per dare validità scientifica a quest'affermazione, si è realizzata una simulazione numerica che permettesse di prevedere la distribuzione spaziale dell'assorbimento ottico e della conseguente evoluzione termica che interessa il tessuto qui caratterizzato. I risultati sono poi stati confrontati con quelli ottenuti dalla simulazione di un riscaldatore resistivo localizzato e, come si vedrà dai risultati riportati nel prossimo paragrafo, proprio la combinazione di questi valori di assorbimento e scattering permette di trattare termicamente zone più estese, e non semplicemente carbonizzare il primo strato di tessuto attorno al probe di delivery.

Capitolo 5

Modello ottico - termico

Dopo aver costruito sperimentalmente un banco di misura che permette di misurare i parametri di assorbimento e scattering che caratterizzano un generico mezzo, si vuole realizzare un modello ottico - termico che permetta di simulare la distribuzione luminosa e prevedere la mappatura termica all'interno del tessuto caratterizzato. L'obiettivo generale è quindi quello di utilizzare i coefficienti ottici misurati sperimentalmente per studiare come avviene la propagazione luminosa all'interno del tessuto di interesse per mezzo di una simulazione Montecarlo. Da questa si ricava una mappatura dell'energia ottica assorbita, che coincide con la sorgente termica da utilizzare per simulare l'evoluzione della temperatura nel tempo. Questo studio, permette quindi di prevedere la distribuzione termica spazio-temporale che si presenta quando il tessuto viene colpito da una sorgente laser e quindi permette di simulare un trattamento ablativo e di studiarne l'efficacia. Questo rappresenta un primo passo verso la realizzazione di uno strumento per la pianificazione di un intervento di ablazione laser, ottimizzando la procedura in base alla tipologia e alla forma di tumore. Occorre però precisare, che il modello realizzato non è sufficientemente accurato da poter simulare condizioni reali del trattamento effettuabile in-vivo. Infatti per questo tipo di studio occorrerebbe tenere conto del cambiamento dei parametri ottici tra tessuto sano e quello tumorale, della loro variabilità durante il trattamento e dal punto di vista termico e bisognerebbe valutare l'effetto dei vasi sanguigni che fungono da dissipatori di calore (*Blood Perfusion*). Tutti questi aspetti, in questo modello, non sono stati valutati dal momento che lo studio è ancora in una fase preliminare, e l'applicazione è limitata allo studio *ex-vivo* di tessuti o anche solamente a fantocci realizzati *ad-hoc*.

In questo capitolo vengono illustrati i principali passi eseguiti per la realizzazione di questo modello e i risultati che si sono ottenuti. In ordine, verranno presentati i due programmi utilizzati per la simulazione Montecarlo della propagazione della luce all'interno del tessuto e i parametri che si sono fissati per realizzarla. Infine vengono illustrati anche i principali passi seguiti per la realizzazione del modello termico in Comsol.

5.1 Propagazione luminosa : MCML - CONV

Per lo studio della propagazione della luce all'interno del mezzo di interesse si utilizzano due programmi che permettono di effettuare una simulazione Montecarlo del trasporto luminoso: Monte Carlo Multi Layered (MCML) e CONV. Questi due software open-source, sono i medesimi programmi utilizzati nell'articolo preso come riferimento per la realizzazione del setup per le misure dei coefficienti ottici, e sono stati realizzati ad hoc per studiare la propagazione della luce all'interno di tessuti biologici di cui i parametri ottici μ_a , μ_s e g sono noti a priori. Essendo lo scattering un fenomeno casuale, lo studio dell'interazione tra luce e materia avviene seguendo il metodo Montecarlo, dove, per mezzo di MCML, viene costruito un modello stocastico per lo studio della variabile casuale che caratterizza il fenomeno.

5.1.1 MCML : Monte Carlo Multi Layered

Come già descritto in precedenza, questo software permette di studiare la propagazione della luce all'interno di un tessuto applicando un metodo Montecarlo. La peculiarità di questo programma è la possibilità di studiare un mezzo multistratificato, ovvero composto dalla stratificazione di tessuti otticamente diversi. Per ognuno di questi occorre definire i parametri ottici di assorbimento e scattering, i quali vengono mantenuti costanti per tutto lo spessore definito dall'utente.

In generale, il programma studia a livello statistico la diffusione tridimensionale dei fotoni all'interno del mezzo. Questi ultimi appartengono ad un fascio infinitesimo che colpisce il tessuto perpendicolarmente, simulando così un impulso dato in ingresso ad un sistema da caratterizzare. Come si vede dall'immagine (Fig.5.1), lo studio avviene su una porzione di volume cilindrica e i risultati sono riportati sul piano rz .

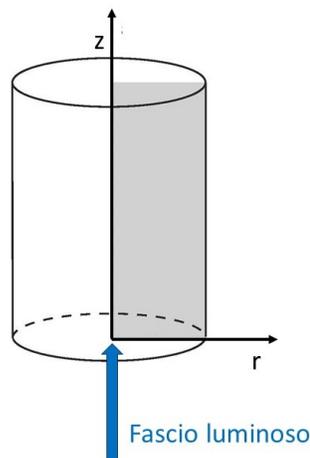


Figura 5.1: Volume cilindrico analizzato in MCML. I risultati sono presentati dal programma sul piano rz , qui rappresentato in grigio

Di seguito si elencano i parametri di ingresso utilizzati per simulare la propagazione luminosa all'interno del fegato.

- *Numero di pacchetti di fotoni simulati* : 100 000 000
- *Discretizzazione spaziale* :
 - *Passi spaziali* :
 - * $dr = 0.01$ cm
 - * $dz = 0.01$ cm
 - *Numeri di elementi infinitesimi*
 - * $Nr = 300$
 - * $Nz = 300$
- *Numero di layer studiati* : 1
- *Spessore totale layer* : 3 cm (in accordo con la discretizzazione spaziale)
- *Parametri ottici* :
 - $\mu_a = 0.076$ mm⁻¹
 - $\mu_s = 10.015$ mm⁻¹
 - $g = 0.9$ [21] [22]

Il programma fornisce in output un file in formato *txt* che raccoglie, per ogni elemento di discretizzazione, svariate informazioni del fascio luminoso, come l'assorbimento, la riflessione o la trasmissione che avviene all'interfaccia tra due tessuti differenti. In questo lavoro, essendo interessati all'innalzamento termico che consegue all'assorbimento del fascio luminoso nel mezzo, di tutti i parametri calcolati l'attenzione viene focalizzata solamente sul parametro Arz , ovvero l'assorbimento che avviene in ogni elemento volumetrico. Ad ogni fotone, infatti, viene inizialmente attribuito un peso unitario che durante la propagazione nel mezzo diminuisce fino ad arrivare sotto una determinata soglia (di default fissata a 0.0001), oltre la quale non viene più considerato, perchè totalmente assorbito. Il parametro Arz , indica appunto la totalità dei pesi che vengono depositati, da ogni fotone, in ogni elemento spaziale, ed è quindi indice dell'assorbimento che avviene nel tessuto. Questo dato, però, deve ancora essere processato con il programma CONV, al fine di simulare una sorgente luminosa di dimensioni reali finite, e non infinitesima.

5.1.2 CONV : Convolution

Come descritto precedentemente, il programma MCML permette di simulare un fascio infinitesimo incidente sul mezzo da analizzare, che equivale a caratterizzare un sistema, fornendogli un impulso in ingresso. Però, per vedere il comportamento luminoso del mezzo quando la sorgente ha un'estensione finita e non infinitesima, occorre utilizzare un secondo programma: CONV. Questo programma utilizza la risposta all'impulso precedentemente ricavata con MCML e ne effettua una convoluzione spaziale per soddisfare le condizioni di un fascio incidente reale. In questo modo, dividendo lo studio del sistema in queste due fasi, i tempi computazionali vengono ridotti e l'intera analisi viene snellita. Infatti una volta trovata la risposta all'impulso, questa può essere riutilizzata più volte per variare i parametri del laser e valutarne gli effetti sul tessuto, senza dover ripetere ogni volta l'intera simulazione Monte-carlo.

Operativamente, quindi, il file di estensione .MCO, ottenuto da MCML, viene passato in ingresso a CONV e successivamente si fissano i parametri del fascio luminoso che si vuole studiare. Qui si riportano i valori utilizzati per simulare un fascio laser erogato da una fibra multimodo con diametro di $400 \mu m$:

- Tipologia del fascio : Piatto (*Flat*)
- Energia : 1J
- Raggio del fascio : 0.02 cm (pari al raggio della fibra)

Analogamente per quanto visto con MCML, i parametri studiabili del fascio luminoso sono diversi, ma l'unico di nostro interesse rimane l'assorbimento Arz , che corrisponde alla mappatura dell'assorbimento della luce all'interno del tessuto. Questo dato viene riportato come densità di energia assorbita sull'unità di volume (definito dall'integrazione dell'anello volumetrico $2\pi r dr dz$) e il suo valore viene mappato nel piano bidimensionale rz (Fig.5.1). Assumendo inoltre che questa quantità energetica venga erogata dalla sorgente laser in un lasso temporale pari a un secondo, Arz verrà utilizzata come distribuzione spaziale della sorgente termica, espressa in W/cm^3 . Infine, come ultima modifica, volendo simulare il laser all'interno del fegato, il lato di incidenza del fascio luminoso viene ampliato e equiparato ad una sorgente di potenza nulla, simulando così la fibra immersa totalmente nel tessuto e non incidente sulla sua superficie.

In figura 5.2 viene riportato il risultato grafico della distribuzione dall'assorbimento luminoso ottenuto, che verrà poi importata in Comsol come sorgente termica spazialmente distribuita.

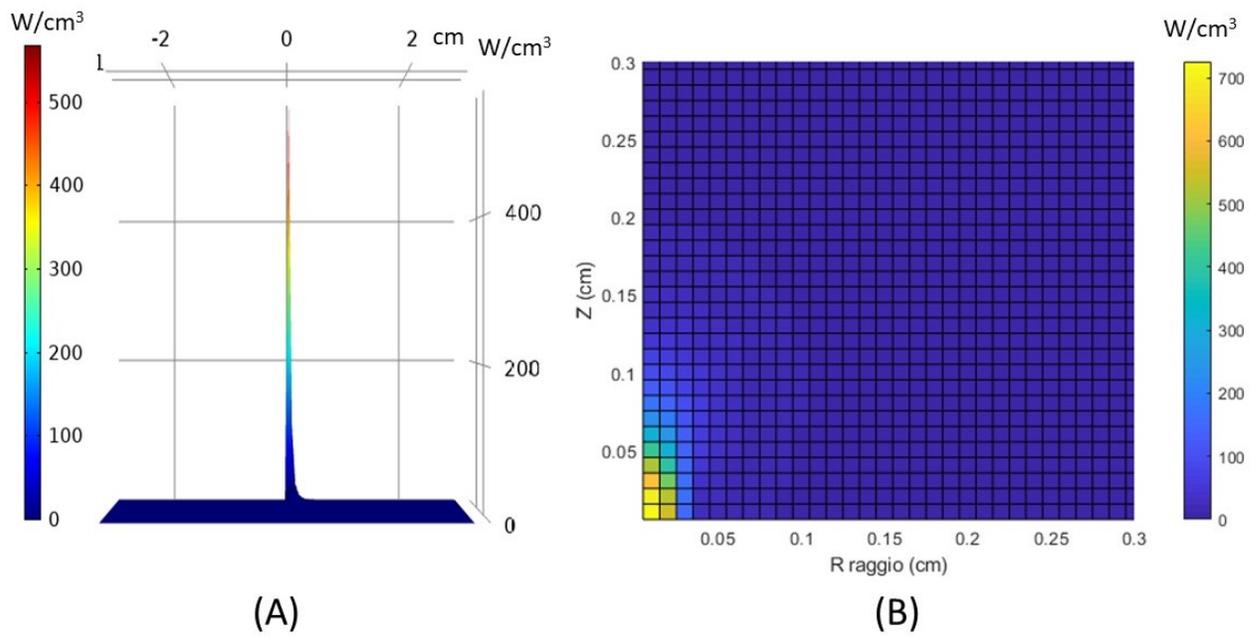


Figura 5.2: Distribuzione spaziale dell'assorbimento luminoso nel fegato. (A) vista tridimensionale lungo tutto il piano rz (B) Ingrandimento bidimensionale nel piano rz

5.2 Evoluzione termica : COMSOL Multiphysics®

Una volta studiata l'interazione tra il fascio laser e il mezzo in analisi, si intende costruire un modello numerico che permetta di prevedere la distribuzione termica che consegue all'assorbimento dell'energia ottica, e vedere come questo evolve nel tempo. Per far questo, si utilizza il programma COMSOL Multiphysics®, servendosi del pacchetto *Heat transfer in Solids*. Con questo software, ricreando la medesima geometria volumetrica studiata in MCML, si imposta come sorgente termica la mappa di potenza precedentemente ricavata (Fig. 5.2) e, dopo aver fissato le condizioni al contorno, si studia l'evoluzione termica che interessa l'intero mezzo. Di seguito si riportano i principali passi eseguiti per la realizzazione di questo modello e nelle successive sezioni se ne discutono i parametri e i risultati ottenuti. In particolare, l'intero processo di realizzazione può essere così riassunto :

1. *Costruzione del volume* : per simmetria si ricrea la medesima geometria cilindrica studiata in MCML
2. *Settaggio dei parametri termici* : dalla letteratura si raccolgono i parametri necessari per effettuare uno studio termico del fegato; in particolare si fissano la conducibilità termica, il calore specifico e la sua densità
3. *Definizione delle condizioni al contorno* : dovendo risolvere l'equazione differenziale, in particolare l'equazione generale della conduzione, è necessario definire opportune condizioni al contorno per fissare una soluzione
4. *Definizione della sorgente termica* : la fonte di calore che origina la distribuzione termica da studiare coincide con la distribuzione dell'assorbimento ottico studiato con MCML e CONV.
5. *Creazione della mesh* : per lo studio della propagazione termica all'interno di un solido, Comsol effettua un'analisi agli elementi finiti, e per questo discretizza l'intero volume in analisi in sotto elementi, creando una mesh.
6. *Studio dell'evoluzione termica* : occorre settare il lasso temporale da investigare e la risoluzione con cui indagarlo

Costruzione del volume

Nella sezione *Geometry* dell'interfaccia di COMSOL, si ricrea la medesima geometria cilindrica studiata in MCML. Sfruttando la sua simmetria, si lavora in 2D e si ricrea il cilindro per rotazione di un rettangolo attorno all'asse, in questo caso coincidente con z . Nella figura 5.3 è riportata la schermata della sezione *Geometry*, in cui sono indicati gli elementi geometrici di maggiore interesse per lo studio di questa geometria

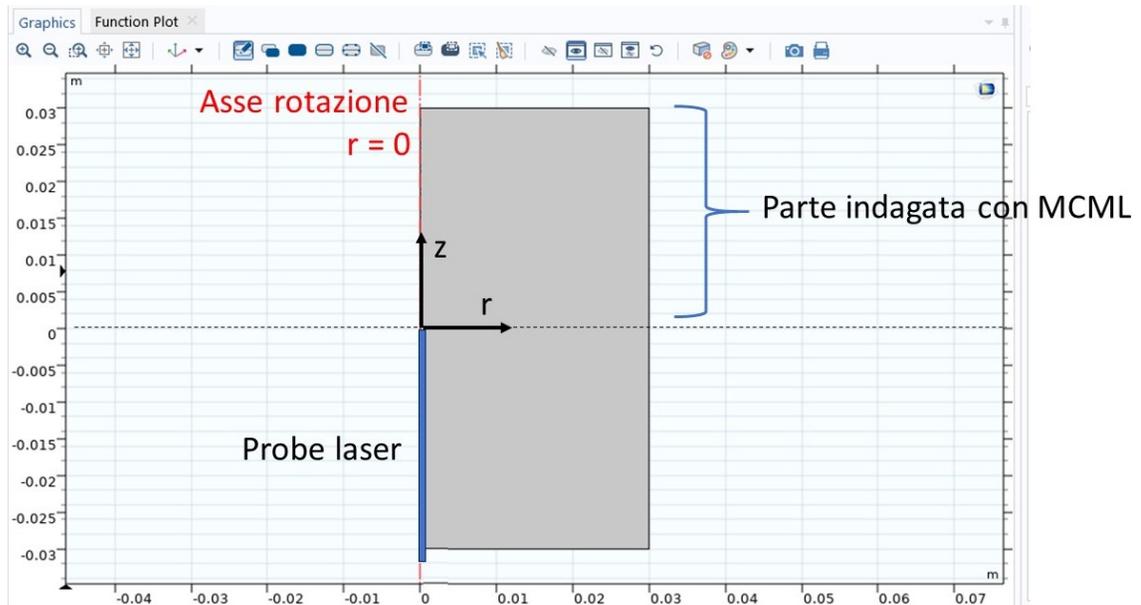


Figura 5.3: Costruzione della geometria in COMSOL Multiphysics®. Qui si riporta la schermata visibile nella sezione *Geometry* del programma e si riportano i principali elementi necessari alla comprensione globale della geometria ricreata

Parametri termici del fegato

Dal momento che il tessuto biologico del fegato non è salvato nelle librerie predefinite e disponibili in Comsol, si crea un nuovo materiale e si impongono i parametri necessari ad effettuare l'analisi termica. In questo caso, in accordo con la letteratura, si sono fissati:

- *Conducibilità termica* : $0.5696 [W/mK]$ [23]
- *Calore specifico* : $3500 [J/kgK]$ [24]
- *Densità* : $1070 [kg/m^3]$ [25]

Condizioni al contorno

Per risolvere l'equazione differenziale che regola il fenomeno di conduzione all'interno dei solidi è necessario imporre le condizioni al contorno. In questo caso si fissano le temperature dei contorni geometrici del volume (condizioni di Dirichlet), e volendo simulare l'ablazione laser in vivo, la temperatura viene fissata a 37°C . Il medesimo valore viene utilizzato anche come valore iniziale di temperatura a cui si trova il mezzo. In figura 5.4 viene riportata una schematizzazione di queste condizioni imposte.

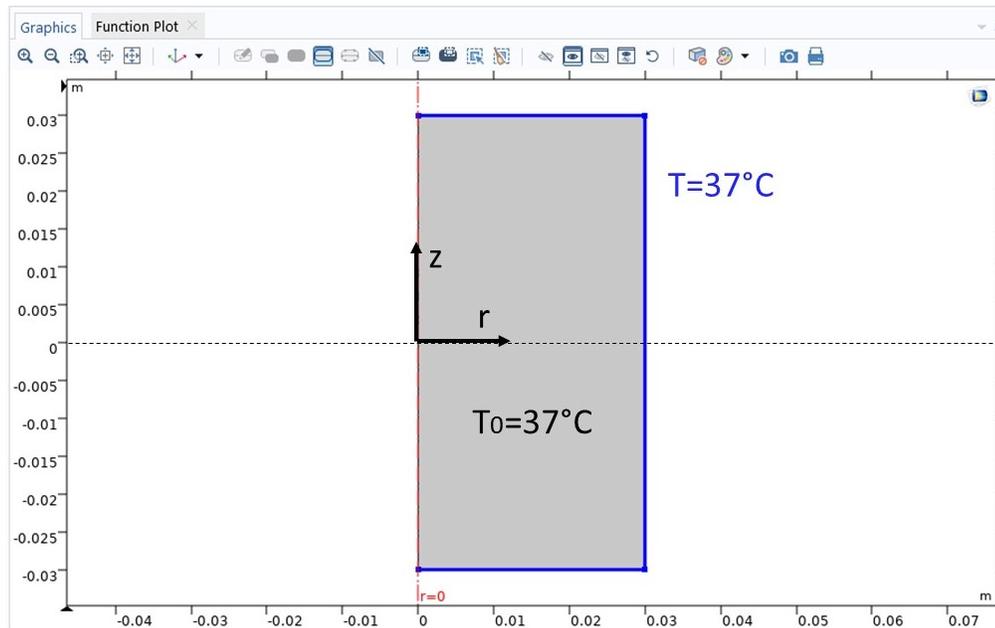


Figura 5.4: Schematizzazione delle condizioni al contorno imposte in COMSOL Multiphysics®

Evoluzione termica

Dopo aver discretizzato il volume con una mesh "Extremely fine" con Comsol, si studia come evolve la mappatura termica nel tempo all'interno del cilindro. Per farlo si decide di studiare il fenomeno su un arco temporale pari a 15 minuti a intervalli di 30 secondi. Di seguito si riportano i risultati grafici che mostrano la distribuzione termica a precisi step temporali. In particolare si è scelto di monitorare tale andamento sul piano yz che interseca l'intero cilindro (Fig.5.9), e lungo la retta coincidente con l'asse della fibra di delivery a partire dal suo punto di emissione (Fig.5.6 - 5.7).

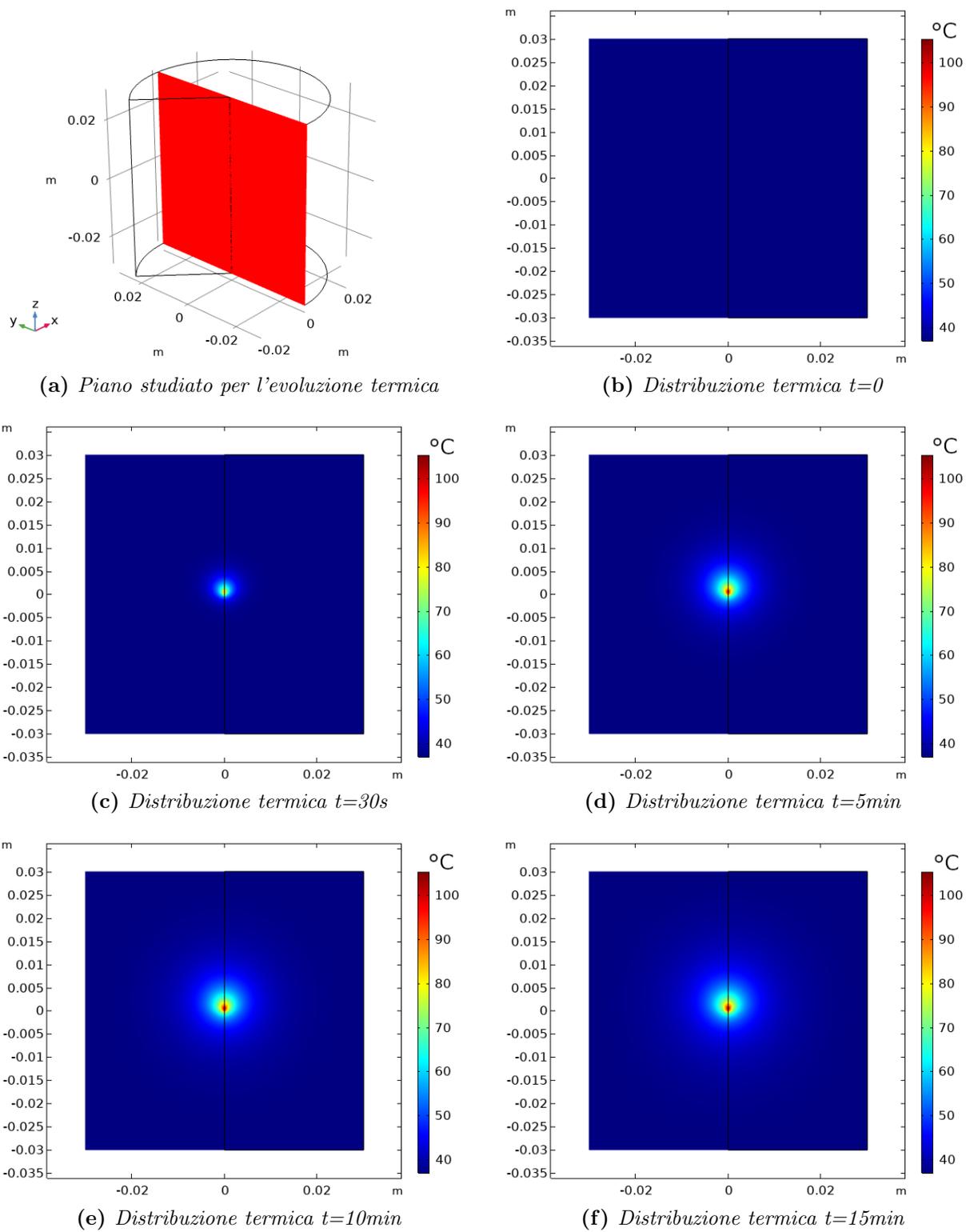


Figura 5.5: Previsione dell'evoluzione termica del trattamento ablativo del fegato sul piano yz della geometria costruita nel modello Comsol®

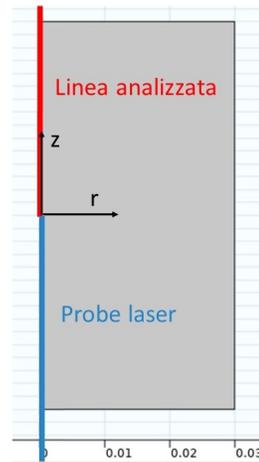


Figura 5.6: Schematizzazione della linea lungo la quale si studia l'evoluzione termica nel modello Comsol®

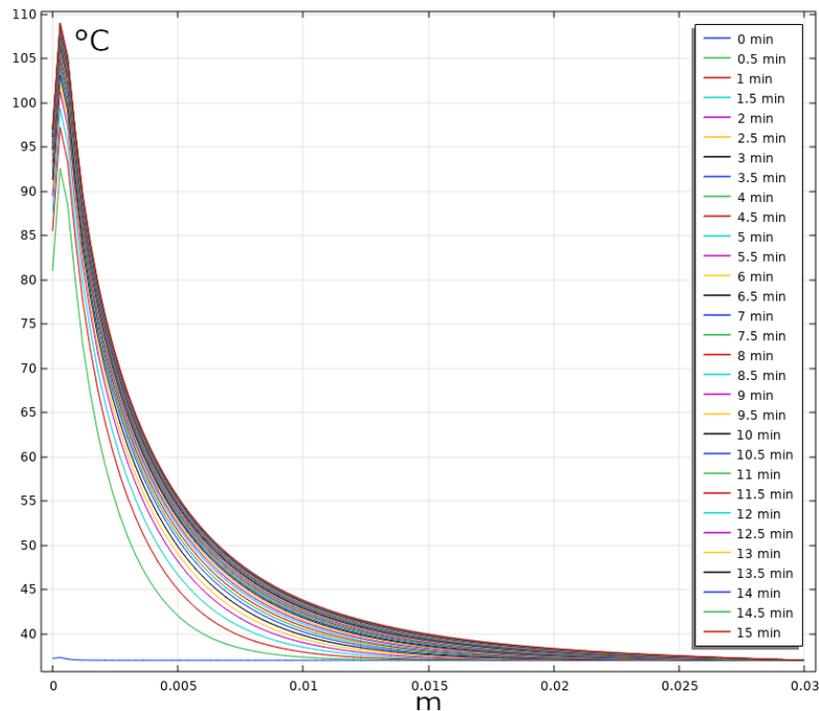


Figura 5.7: Previsione dell'evoluzione termica del trattamento ablativo del fegato lungo l'asse della fibra di delivery nel modello Comsol®

Osservazioni

Il modello ottico-termico realizzato permette di simulare un trattamento termoablattivo e di valutarne, almeno a livello qualitativo, l'ipotetica efficacia. In particolare, i risultati precedentemente esposti riportano la previsione termica osservabile nel tessuto epatico, durante l'intervento, simulando un fascio laser con potenza costante pari a 1 Watt. Come è già stato esposto in precedenza, l'estensione del danno cellulare è direttamente collegata al livello termico che si raggiunge nel tessuto trattato, per questo motivo analizzando i profili e le mappe di temperatura (Fig. 5.7 e Fig. 5.9) è stato possibile valutare, in termini di vitalità cellulare, l'estensione del trattamento e la sua validità. In accordo con la letteratura [5] è possibile notare e distinguere tre zone: una centrale dove avviene una necrosi cellulare istantanea, una più periferica in cui si ha un indebolimento cellulare sfruttabile da seconde terapie post-operatorie come chemioterapia o radio e la terza zona completamente insensibile al trattamento. Più nel dettaglio, la zona centrale corrispondente al primo strato di tessuto attorno alla fibra di delivery, in cui le cellule, essendo sottoposte a temperature maggiori di 55°C / 60°C , incorrono in una morte immediata. In questa simulazione è possibile constatare che tale zona arriva ad estendersi fino a 0.005 mm lungo l'asse della fibra quando il trattamento è applicato per una decina di minuti. Allontanandoci dal probe, è poi possibile individuare una seconda zona dove le temperature, comprese tra 41°C e 50°C , non portano ad una necrosi immediata ma indeboliscono le cellule danneggiandole in modo reversibile. In queste condizioni, infatti, il metabolismo cellulare viene rallentato e quindi la ripresa cellulare viene frenata e inoltre la perfusione sanguigna aumenta per apportare maggior ossigeno alle cellule, ma in questo modo le rende più sensibili ad un ipotetico trattamento di radioterapia post-operatorio e facilita la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) o radicali liberi. Questa seconda area, quindi, rappresenta una zona il cui trattamento continua ad avere un effetto deleterio sulle cellule, seppure più lento e debole. Per questo motivo è importante quantificare anche l'estensione di quest'ultima area in modo da valutare quanto trattamenti radiologici o terapeutici possano essere utili per completare ed estendere la zona trattata dalla termoablazione, e in questa simulazione questa zona arriva ad estendersi oltre un centimetro. Per ultima, infine, si identifica la zona di tessuto periferico non intaccato dal trattamento. In questa area, la temperatura del tessuto non sale oltre i 37°C / 39°C e non viene modificato il livello di vitalità cellulare.

Tendendo quindi conto del trattamento qui simulato e dei valori ottenuti è possibile verificare l'effetto di necrosi immediata del trattamento fino a distanze dell'ordine di qualche millimetro e l'indebolimento cellulare maggiormente suscettibile a trattamenti farmaceutici post-operatori fino a distanze di un centimetro a partire dalla sonda, che risulta plausibile tenendo conto che il trattamento ablattivo ad oggi riesce a trattare masse tumorali dell'ordine di $1\text{-}2\text{ cm}^2$ [5]

Analizzando il profilo termico osservabile dopo un trattamento di una decina di minuti, però, è possibile vedere che la zona nell'immediato intorno del probe laser si raggiungono temperature superiori a 100°C , che nelle realtà si tradurrebbero nella carbonizzazione del tessuto. Questo fenomeno, tuttavia, è riscontrabile solo nei primi millimetri di tessuti attorno alla fibra e temperature così elevate arrivano a manifestarsi solamente dopo alcuni minuti dall'ini-

zio del trattamento. In un'ablazione laser reale, tale inconveniente potrebbe essere contenuto realizzando un probe autorefrigerante, in modo da contenere le temperature nell'immediato intorno della sonda e evitare la carbonizzazione del primo strato di tessuto continuando però a scaldare la zona limitrofa, proprio come viene fatto per la radio-frequenza o le microonde. In generale, quindi, nonostante le semplificazioni attuate in questo modello e nonostante la sua valenza puramente qualitativa, è possibile già individuare zone termiche del trattamento che sembrano essere in accordo con quelle riscontrate e descritte nei trattamenti reali.

Confronto con una sorgente puntiforme

Il modello ottico-termico realizzato, oltre a permettere di studiare e valutare gli effetti termici osservabili in un tessuto caratterizzato sperimentalmente con il banco di misura realizzato, è stato utilizzato anche per osservare il vantaggio che si ha ad utilizzare un fascio laser per il trattamento termoablativo delle masse tumorali, rispetto ad un ipotetico riscaldatore resistivo localizzato.

Come è stato illustrato dalla simulazione precedente, la luce non viene assorbita nel primo strato di tessuto a contatto con la fibra, ma riesce ad attraversare una, seppur piccola, porzione di volume del tessuto. Questo significa che l'assorbimento luminoso viene distribuito su questa regione, e quindi la sorgente di calore che innesca l'evoluzione termica studiata, è spazialmente più diffusa. Al contrario, un comune riscaldatore resistivo sarebbe equiparabile ad una sorgente termica limitata alla sua dimensione fisica. Per confrontare l'effetto termico di questi due tipologie di sorgente, si è quindi deciso di studiare l'evoluzione termica innescata da un ipotetico riscaldatore resistivo caratterizzato dalle stesse dimensioni della fibra ottica, quindi simile ad una sorgente puntiforme.

Per poter realizzare tale tipo di sorgente termica, si modella un tessuto con un coefficiente di assorbimento molto elevato, in modo che tutta la potenza ottica venga assorbita nel primo strato di tessuto attorno alla fibra di delivery.

I parametri ottici utilizzati per il nuovo tessuto, riassunti in questo elenco puntato, sono rimasti invariati, ad eccezione del coefficiente di assorbimento che è stato moltiplicato per un fattore cento.

- $\mu_a = 7.60 \text{ mm}^{-1}$
- $\mu_s = 10.015 \text{ mm}^{-1}$
- $g = 0.9$ [21] [22]

Tutti gli altri parametri del modello, sia in MCM che in Comsol®, rimangono invece invariati. Questo è importante soprattutto per i parametri del fascio laser, dal momento che ci interessa valutare la mappatura termica che si avrebbe qualora la sorgente di calore, a parità di energia, fosse spazialmente meno distribuita.

Il risultato viene riportato in figura 5.8 (Nota Bene: la scala colore è la medesima per le due sorgenti, ma i valori sono sostanzialmente differenti. Tale differenza, nonostante limiti l'immediata interpretazione dei grafici, è stata mantenuta dal momento che espandere la scala agli ordini di grandezza ottenuti per la sorgente puntiforme, avrebbe annerito totalmente quella ottenuta per il fegato)

Evoluzione termica

Esattamente come è stato fatto per la simulazione del fascio laser incidente sul fegato, dopo aver discretizzato il volume, si studia come evolve la mappatura termica nel tempo all'interno del cilindro e, come prima, si analizza su un arco temporale pari a 15 minuti a intervalli di 30 secondi. Di seguito si riportano i risultati grafici, ovvero l'andamento termico sul piano

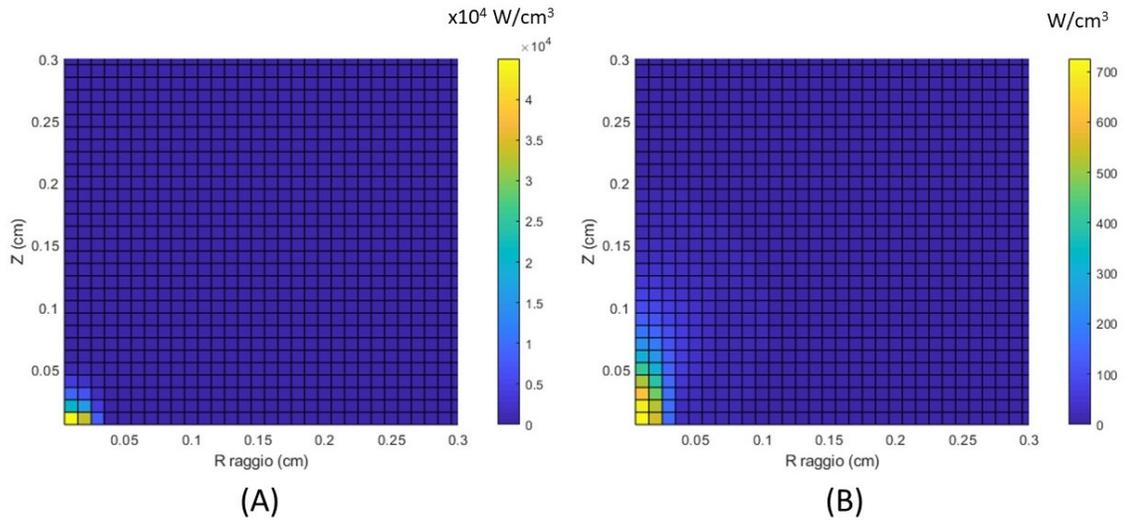


Figura 5.8: Confronto tra le sorgenti termiche dovute all'assorbimento luminoso (B) o dal riscaldatore localizzato simulato (A). NOTA BENE: la scala colore è la medesima per le due sorgenti, ma i valori sono sostanzialmente differenti. Tale differenza, nonostante limiti l'immediata interpretazione dei grafici, è stata mantenuta dal momento che espandere la scala agli ordini di grandezza ottenuti per la sorgente puntiforme, avrebbe annerito totalmente quella ottenuta per il fegato

yz che interseca l'intero cilindro, e l'evoluzione termica lungo la medesima retta analizzata in precedenza (Fig.5.6).

Risultati

Di seguito si riporta la rappresentazione grafica dei risultati analizzati. Dell'analisi bidimensionale fatta sul piano yz, si riporta solamente l'evoluzione termica a 15 minuti dall'inizio della simulazione, perchè la più significativa al fine delle osservazioni fatte. Ancora una volta, si sottolinea la diversità tra i valori delle scale colore utilizzate, ma la motivazione di tale scelta rimane la medesima di quella esposta prima.

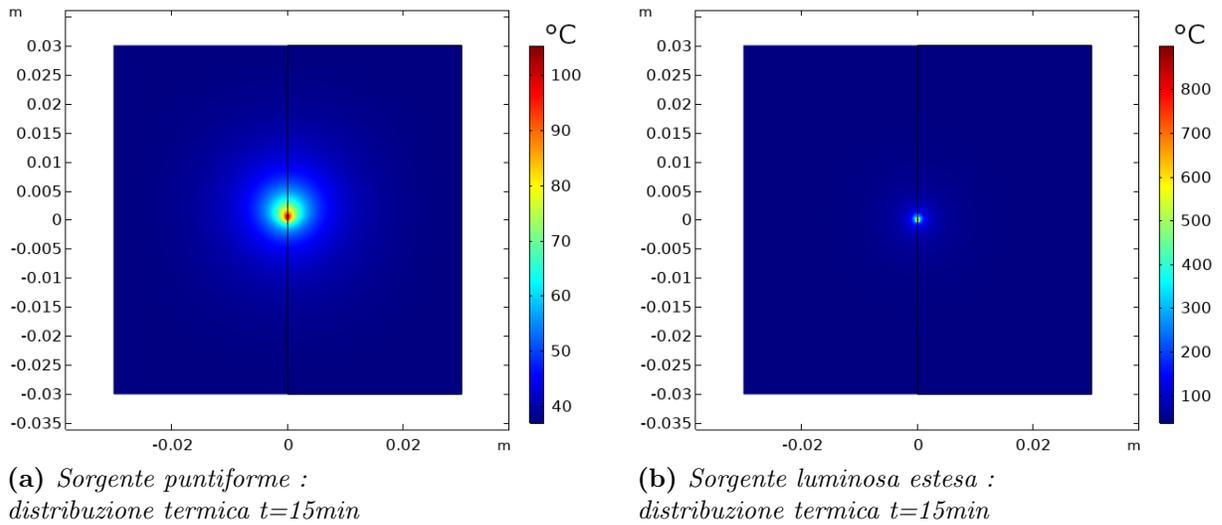


Figura 5.9: Confronto tra le previsioni termiche : sorgente puntiforme (A) e luminosa estesa (B)
 NOTA BENE: la scala colore è la medesima per le due sorgenti, ma i valori sono sostanzialmente differenti. Tale differenza, nonostante limiti l'immediata interpretazione dei grafici, è stata mantenuta dal momento che espandere la scala agli ordini di grandezza ottenuti per la sorgente puntiforme, avrebbe annerito totalmente quella ottenuta per il fegato

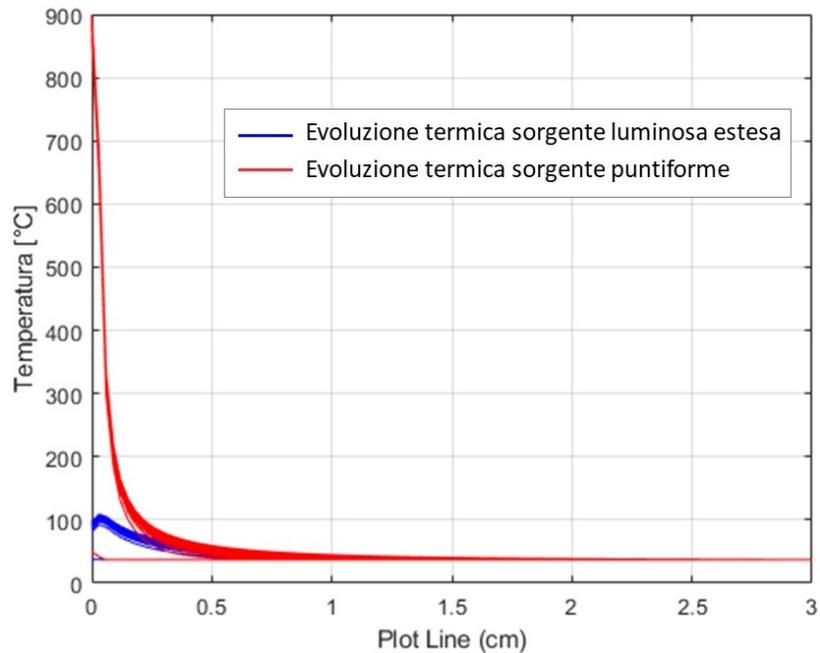


Figura 5.10: Confronto tra l'evoluzione termica lungo l'asse della fibra : sorgente luminosa estesa e sorgente localizzata. In ogni simulazione , come riportato in figura 5.7, al passare del tempo la curva di temperatura viene traslata verso le temperature maggiori, fino a tendere ad una condizione di equilibrio

Osservazioni

I risultati precedentemente riportati mostrano chiaramente il vantaggio ad utilizzare un fascio laser rispetto ad un ipotetico riscaldatore resistivo localizzato. Infatti la luce, seppur in uno spazio limitato, diffonde nel tessuto e crea una sorgente termica sufficientemente estesa per riscaldare il volume intorno per conduzione, senza carbonizzare il tessuto attorno al probe come succederebbe ad utilizzare un riscaldatore resistivo. Infatti la sorgente puntiforme porta il tessuto circostante a temperature elevatissime ma per una zona spaziale estremamente limitata. Questo non è l'obiettivo ricercato in nessuna delle applicazioni termiche contro le masse tumorali. Infatti in questa tipologia di trattamento, come è già stato spiegato in precedenza, ha l'obbiettivo di riscaldare localmente tutta la massa tumorale raggiungendo temperature citotossiche, e l'elemento che sta alla base dell'efficacia di questo trattamento è proprio raggiungere temperature sufficientemente elevate in tutta la massa, e non solo intorno al probe. Non solo, ma il raggiungimento di temperature eccessive localizzate esclusivamente attorno alla fibra porterebbe alla carbonizzazione del tessuto locale e cambierebbe sostanzialmente il resto del trattamento termico dal momento che le proprietà fisiche del mezzo cambierebbero sostanzialmente.

Per tutte queste motivazioni, quindi, un semplice riscaldatore resistivo non trova applicazioni terapeutiche per il trattamento di masse tumorali, mentre l'ablazione laser si.

Capitolo 6

Monitoraggio della temperatura

Come già anticipato, l'efficacia del trattamento termoablativo dipende unicamente dalla temperatura raggiunta nel tessuto e dal tempo in cui questa è applicata. Studiando e caratterizzando tutti i tessuti, è possibile prevedere quali debbano essere i parametri da settare nella strumentazione, affinché si eroghi una quantità energetica sufficiente a rendere il trattamento efficace. Come si è visto nei capitoli precedenti, però, la stima di questi parametri è tutt'altro che un processo semplice. Infatti i parametri fisici che regolano l'innalzamento termico dei tessuti hanno una variabilità inter e intra-soggetto estremamente elevata, non solo, ma questi cambiano anche durante il trattamento termico stesso. Per tutti questi motivi, per i trattamenti termoablativi, attualmente, non è possibile un settaggio dei parametri strumentali appropriato, ma per verificare l'effettiva estensione del trattamento è necessario avere un feedback in real time in modo da potersi accertare che tutta la zona tumorale sia stata trattata, così da ridurre la possibilità di ricaduta al paziente. Per queste ragioni, infatti, tutte le tecniche termoablative dovrebbero essere associate a sensori termici che permettono di ricavare le temperature effettivamente raggiunte per associarle al livello di vitalità delle cellule. Tali sensori possono essere divisi in due tipologie : non invasivi (contactless) come mappature termiche ricavate da tecniche di imaging o invasivi che comprendono svariate possibilità, dalle termocoppie ai sensori in fibra ottica.

6.1 Sensori contactless

Questo tipo di tecnologia è la più innovativa. Come si può dedurre dal nome, basa il suo funzionamento sul monitoraggio termico di un corpo senza richiederne il contatto diretto. Tra le procedure più promettenti si trovano le tecniche di imaging, tra cui la risonanza magnetica (MR), la tomografia computerizzata (TC) e la tecnica ultrasonografica (US). [4] Tutte queste tecniche basano il monitoraggio della temperatura, correlando il suo valore con i parametri fisici che monitorato comunemente per fare imaging. Nello specifico:

- *Risonanza magnetica* : relaziona il tempo di rilassamento richiesto dai protoni per tornare alle condizioni di equilibrio iniziale dopo l'eccitazione magnetica (comunemente

chiamato T_1) alla temperatura. Attualmente è considerato il gold standard tra tutte le tecniche termometriche ad imaging, ma presenta delle limitazioni :

- Applicabile solamente con strumenti di erogazione termica ad essa compatibili, ovvero che non creino artefatti che possano distorcere l'immagine e quindi la lettura di temperatura
- Tempi di acquisizione lunghi
- Non eseguibile su tutti i pazienti, ad esempio quelli dotati di impianti protesici metallici o che soffrono di claustrofobia
- Tecnologia molto costosa
- Dipendenza dei parametri dai tessuti analizzati

Nonostante questi problemi, risulta essere comunque al primo posto dal momento che qualora si utilizzi una sonda di delivery termico ad essa compatibile, potrebbe utilizzarsi sia per il posizionamento della sonda che per il monitoraggio della temperatura. Inoltre l'utilizzo di un campo magnetico non presenta effetti negati sulla salute del paziente come potrebbero recare invece i raggi X.

- *Tomografia computerizzata* : esattamente come la RM, associa la propria grandezza sensibile , in questo caso il coefficiente di attenuazione, al grado di temperatura. Gli svantaggi di questa tecnica sono subito evidenti, e il principale è l'effetto negativo che le radiazioni hanno sul corpo, che ne limita l'utilizzo entro un dosaggio di sicurezza. Anche questa tecnica, inoltre, presenta caratteristiche dipendenti dal tessuto.
- *Ultrasuoni* : questa tecnica associa il cambiamento della velocità del suono nel mezzo attraversato, alla sua temperatura. Il grosso limite di questa tecnica è la possibilità di utilizzarla solamente in range termici limitati, fino a circa 50°C.

6.2 Sensori a contatto diretto

Questa tipologia di sensori, invece, prevede il diretto contatto con l'oggetto di cui è necessario misurare la temperatura. E' quindi immediatamente chiaro il difetto rispetto alla tecniche contactless, infatti prevedono di essere inserite nella regione da trattare termicamente, senza però modificarne la diffusione del calore e senza interferire con la sonda. Diversi dispositivi commerciali sono oggi inseriti direttamente nella stessa sonda utilizzata per il delivery. In questo modo si evita un secondo accesso percutaneo alla zona trattata a spese di un piccolo aumento della sezione della sonda. Di seguito vengono riportati i principali sensori utilizzati per quest'applicazione e se ne espongono brevemente le peculiarità.

6.2.1 Termocoppie

Le termocoppie sono connettori metallici che permettono di monitorare la temperatura per mezzo dell'effetto seebeck. Sono sensori ampiamente utilizzati in diverse applicazioni, dato il loro costo contenuto, accuratezze nell'ordine di un grado centigrado e un tempo di risposta ridotto. Valutando invece, la loro applicabilità per il monitoraggio termico della termoablazione si riscontrano alcuni difetti. Infatti, essendo costituite da materiale metallico, possiedono una conduttività termica elevata che porta quindi a sovra stimare la temperatura, non solo, ma questo materiale può creare anche artefatti con alcune tecniche di imaging utilizzate per posizionare il probe, come la risonanza magnetica. [4]

6.2.2 Sensori a fibra ottica

I vantaggi dell'utilizzo di fibre ottiche sono innumerevoli, per questo vengono usati in diversi campi e per diverse applicazioni, da trasportatori di segnali a perdita estremamente ridotta nelle telecomunicazioni a sensori per monitoraggi industriali, aerospaziali e anche in campo medico per il controllo di processi terapeutici o per il completamento di diagnosi. Dal punto di vista sensoristico possono essere classificati in due categorie, ovvero estrinseci ed intrinseci. Nella prima, la luce raccolta e trasmessa dalla fibra è l'elemento sensibile che interagisce con il misurando e cambia in accordo con questo; nella seconda tipologia, invece, il cavo stesso della fibra è utilizzato come elemento sensibile. In generale, però, il principio che sta alla base di tutte queste tipologie di sensori è il monitoraggio delle caratteristiche fisico-chimiche del misurando che si concretizza in un cambiamento della propagazione della luce all'interno della fibra. In generale è quindi possibile misurare diversi parametri fisici come ad esempio la deformazione, la temperatura o la pressione e anche alcuni biochimici come la composizione chimica di un composto o il riconoscimento di una specifica sostanza come biomarker o proteine.[26]

Concentrandosi sui sensori per il monitoraggio della temperatura, di interesse in questo progetto, è possibile trovare diverse tipologie di sensori tra cui i principali sono : [4]

- *Sensori a fosforescenza* : correlano il tempo di emissione luminosa del materiale utilizzato come probe con la temperatura. In questo caso la luce della fibra ottica viene utilizzata per veicolare le lunghezze d'onda necessarie ad eccitare il materiale, che in risposta all'impulso, emette un segnale luminoso che viene acquisito da un fotodetettore. Da quest'ultimo è possibile ricavare la costante di tempo con cui questo segnale decresce e correlarla alla temperatura. Dal momento che questo decadimento esponenziale ha una durata dell'ordine di qualche microsecondo, è facile intuire che questa tipologia di sensore presenta una risposta molto rapida. Da tenere in considerazione, però, è il costo delle sonde utilizzate per la fosforescenza, che si aggira intorno alla centinaia di dollari.
- *Sensori a retrodiffusione di Rayleigh* : correlano il pattern della luce retrodiffusa dalla fibra alla temperatura, lavorando o nel tempo o nel dominio della frequenza. In questa tipologia l'intera fibra ottica viene utilizzata come elemento sensibile ed è possibile

ottenere risoluzioni spaziali sub-millimetriche. Purtroppo il loro utilizzo è limitato dall'elevato costo dell'interrogatore che supera il centinaio di migliaia di dollari.

- *Reticoli di Bragg* : fibre ottiche monomodali che di un intero spettro luminoso, riflettono una particolare lunghezza d'onda il cui valore è influenzato dal cambiamento di temperatura o da deformazioni meccaniche. E' quindi importante controllare e isolare questi due aspetti, in modo da scindere quale sia la causa dello shift del picco di riflessione e riuscirlo a correlarlo alla sola temperatura.

Tra queste tipologie di sensori, per questo lavoro di tesi, è stata utilizzata la terza, ovvero i reticoli di Bragg. Sebbene il loro grande difetto sia la difficoltà di isolare il monitoraggio termico dallo strain senza incidere sulle misurazioni, sono una tipologia di sensori estremamente promettente. Infatti a differenza di quelli a fosforescenza, non generano artefatti se accoppiati con una sorgente laser e rispetto a quelli di retrodiffusione utilizzano un interrogatore dal costo inferiore (attorno alla decina di migliaia di dollari). Un'altra importante caratteristica è la possibilità di avere più reticoli lungo una stessa fibra ottica, ognuno caratterizzato da un diverso picco di riflessione. In questo modo, con un'unica fibra, è possibile monitorare più zone contemporaneamente e studiare come la temperatura varia nel mezzo analizzato. [26] [4] Inoltre, dal momento che, come si vedrà dai prossimi capitoli, l'elemento sensibile allo strain e alla temperatura è la posizione del picco di riflessione, è facile monitorare termicamente anche segnali abbastanza rumorosi, dal momento che non conta l'ampiezza del segnale, ma solo l'individuazione del suo picco.

Capitolo 7

Reticoli di Bragg

In questo progetto di tesi, i sensori utilizzati per lo studio del monitoraggio della temperatura sono sensori in fibra ottica, nello specifico si sono trattati i reticoli di Bragg o FBG (*Fiber Bragg Gratings*). In generale le fibre ottiche sono strutture tubolari con diametri variabili intorno al centinaio di micrometri e in grado di condurre segnali luminosi al loro interno. La vastità del loro impiego può essere giustificata dai considerevoli vantaggi che si riscontrano nel loro utilizzo. Primo fra tutte è la capacità di trasportare il segnale con perdite praticamente nulle per diversi chilometri, non solo, ma di notevole importanza sono anche la loro immunità ai disturbi di natura elettromagnetica, le dimensioni e il peso estremamente ridotti e la loro resistenza ad alte temperature e ambienti corrosivi.

Di seguito vengono introdotti i concetti principali che regolano il funzionamento sia delle fibre ottiche in generale sia dei reticoli di Bragg. Per entrambi vengono anche definiti i parametri principali che li caratterizzano, in modo da rendere chiari i concetti teorici che stanno alla base delle loro applicazioni.

7.1 Fibre ottiche

In generale, le fibre ottiche sono composte da alcuni strati concentrici (Fig. 7.1), in particolare il cilindro più interno viene definito come *Nucleo* o *Core* e può avere un diametro variabile tra la decina di micrometri per le fibre singolo modo e alcune decine per le multimodali; questo è rivestito da un secondo strato indicato come *Mantello* o *Cladding* solitamente di diametro pari a 125 μm . Entrambi sono costituiti da materiale dielettrico, in generale vetro o plastica, e l'indice di rifrazione del core viene mantenuto leggermente più alto di quello del cladding (solitamente maggiorato dell'1%). Infine, questi due componenti vengono ulteriormente ricoperti da un rivestimento chiamato *Buffer*, ma solo per proteggere e irrobustire maggiormente la fibra.

Come anticipato, a seconda della dimensione del core e della differenza tra gli indici di rifrazione del nucleo e del mantello, si possono distinguere due tipologie di fibre: *Singolo modo* o *Multimodali*, che si differenziano in base al numero dei modi di trasmissione del campo EM. Le prime sono caratterizzate da diametri inferiori alla decina di micrometri e il profilo

dell'intensità del campo EM attraverso il diametro della fibra ha un profilo gaussiano, mentre le seconde hanno un diametro del core maggiore e trasportano al loro interno un numero maggiore di modi, ognuno caratterizzato da un profilo e percorso differente.

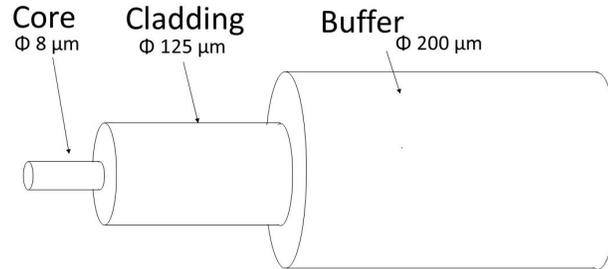


Figura 7.1: Schema degli elementi che compongono una generica fibra ottica. Le dimensioni sono tipiche di una fibra singolo modo

7.1.1 Parametri fibre ottiche

In generale ogni fibra ottica, indipendentemente dalla tipologia o dal materiale, è caratterizzata da alcune grandezze che vengono utilizzate per definirne proprietà e caratteristiche. Qui si riportano le grandezze che si utilizzano nelle formule trattate in questo progetto di tesi. Prima di tutto, partendo dal principio base del funzionamento delle fibre ottiche, che è il susseguirsi di riflessioni all'interfaccia tra core e cladding, è importante definire cosa succede quando un fascio luminoso incontra un mezzo differente da quello in cui stava viaggiando. In generale, infatti, un raggio luminoso che si propaga in un mezzo cambia direzione e si scinde in due componenti differenti quando incontra un mezzo differente da quello in cui stava viaggiando. Definendo (A) il primo mezzo e (B) il secondo, le due nuove componenti in cui si divide il raggio incidente sono: (Figura: 7.2)

- Raggio riflesso : porzione di luce che non attraversa il mezzo (B) ma continua a propagare nel mezzo (A) con una nuova direzione
- Raggio rifratto : componente del fascio incidente che penetra il mezzo (B) e continua a propagarsi con una nuova direzione

Affinchè il segnale viaggi all'interno della fibra ottica e le perdite siano ridotte al minimo, è necessario che l'angolo di incidenza, calcolato rispetto alla normale dell'interfaccia tra core e cladding, sia maggiore di un valore definito come *angolo critico*, oltre al quale non si ha più la componente rifratta ma solamente quella riflessa. Questo parametro dipende dagli indici di rifrazione che caratterizzano i materiali della fibra ed essenziale per ridurre al minimo le perdite di trasmissione del segnale lungo la fibra.

Analizzando invece la modalità con cui la luce viene raccolta e convogliata nella fibra ottica, è importante conoscere il *cono di accettazione*. Questo è definito come quella porzione di

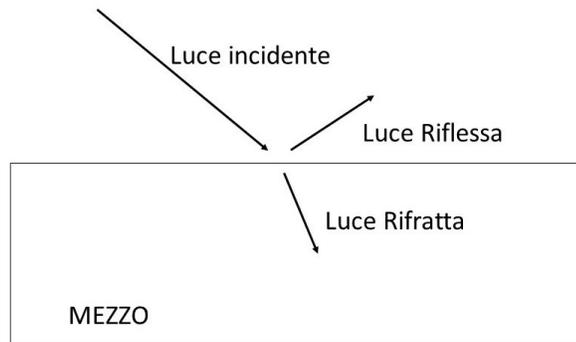


Figura 7.2: Raggio riflesso e raggio rifratto all'interfaccia tra due mezzi differenti

spazio che contiene tutte le direzioni che la luce può avere affinché, incidendo sulla fibra, possa continuare a propagarsi al suo interno, senza essere dispersa per trasmissione, ma si propaghi per riflessione totale. Abitualmente viene riferito all' *angolo di accettazione* che ne rappresenta il vertice. (Fig 7.3) Questo parametro è legato al valore degli indici di rifrazione dei mezzi in cui viaggia la luce, che spesso vengono raccolti in un unico parametro definito *apertura numerica*, definita dall'equazione 7.1. La relazione che lega l'apertura numerica e l'angolo di accettazione è riportata nei capitoli successivi (Eq.4.4), da questa risulta evidente notare che maggiore è NA, più semplice è accoppiare una sorgente luminosa alla fibra, in quanto è più ampio il cono di accettazione.

$$NA = \sqrt{n_{core}^2 - n_{cladding}^2} \quad (7.1)$$

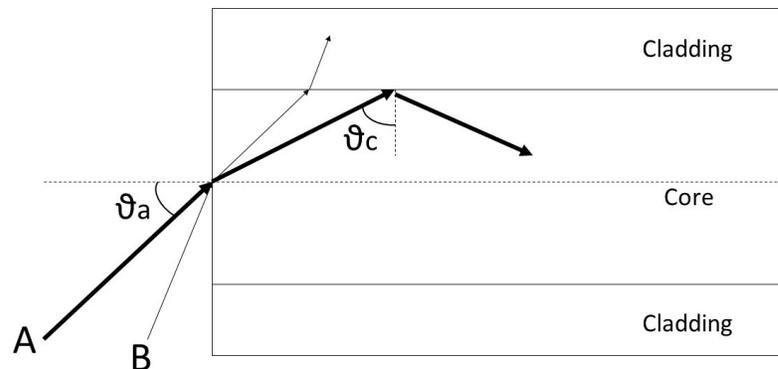


Figura 7.3: Sezione di una fibra ottica. I raggi che incidono sulla fibra con un angolo minore a θ_a (angolo di accettazione) e con un angolo maggiore di θ_c (angolo critico) percorrono la fibra per riflessione totale (Raggio A). Quelli che incidono sulla fibra con un angolo maggiore vengono invece rifratti attraverso il cladding (Raggio B)

7.2 Reticoli di Bragg

I reticoli di Bragg o *Fiber Bragg Gratings (FBG)* sono cambiamenti periodici dell'indice di rifrazione indotti in modo permanentemente sull'asse longitudinale del core di una fibra ottica singolo modo. Questa struttura svolge la medesima funzione di un filtro passa banda, infatti quando un fascio luminoso a larga banda incide sul reticolo solamente la finestra delle componenti spettrali centrate alla lunghezza d'onda λ_B viene riflessa, mentre tutto il resto dello spettro continua a percorrere la fibra con perdite minime. La componenti riflesse, riescono ad essere misurate dal momento che ad ogni singola variazione locale dell'indice di rifrazione, una piccola componente luminosa viene riflessa e unendosi con un'interferenza di tipo costruttivo a tutte le altre componenti riflesse nelle altre discontinuità del reticolo, forma un segnale ampio abbastanza da essere rilevato con facilità.

La lunghezza d'onda λ_B , viene definita come lunghezza d'onda di Bragg e, come si vede dall'equazione 7.2, dipende dall'indice di rifrazione efficace del core e dalla periodicità spaziale con cui questo è stato modificato.

$$\lambda_B = 2n_{eff}\Lambda \quad (7.2)$$

Questi reticoli possono essere utilizzati come sensori, dal momento che la lunghezza d'onda a cui è centrato il picco di riflessione λ_B è soggetta ad uno shift spettrale sensibile alla temperatura e alle deformazioni meccaniche. Infatti, entrambe le grandezze fisiche, interagiscono con il reticolo della fibra variandone la periodicità Λ (dilatazioni o contrazioni termiche e deformazioni strutturali) e l'indice di riflessione (cambiamenti molecolari del materiale *es.* effetto fotoelastico e effetto termo - ottico). In generale, si può dimostrare che la correlazione tra shift dello spettro registrato in riflessione e le variazioni meccaniche e/o termiche è regolamentata dall'equazione 7.3[27], dove si può facilmente notare, che una volta separati i due contributi, è possibile monitorare lo strain o la temperatura con una semplice equazione lineare. Infatti la sensibilità delle deformazioni è indicata con K_ε e il suo valore è approssimativamente pari a 1 pm/ $\mu\varepsilon$, mentre per la temperatura la sensibilità K_T si aggira intorno ai 10 pm/ $^\circ\text{C}$, qualora si analizzino spettri intorno a 1500 nm e con fibre ottiche in silicio. [27]

$$\Delta\lambda_B = K_\varepsilon \cdot \varepsilon + K_T \cdot T \quad (7.3)$$

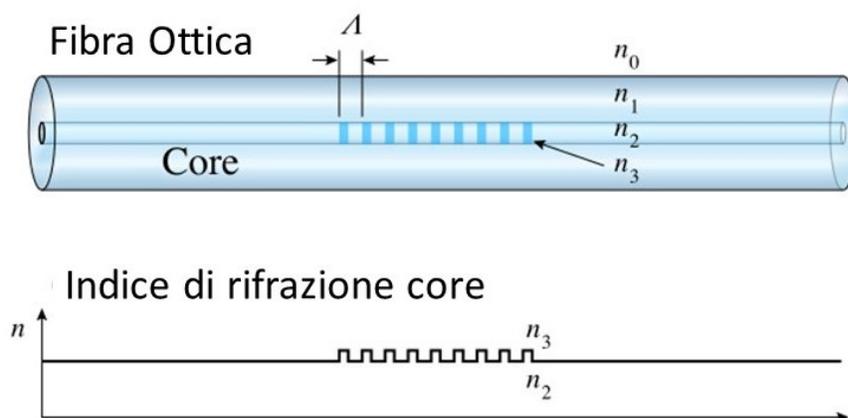


Figura 7.4: Struttura di un reticolo di Bragg

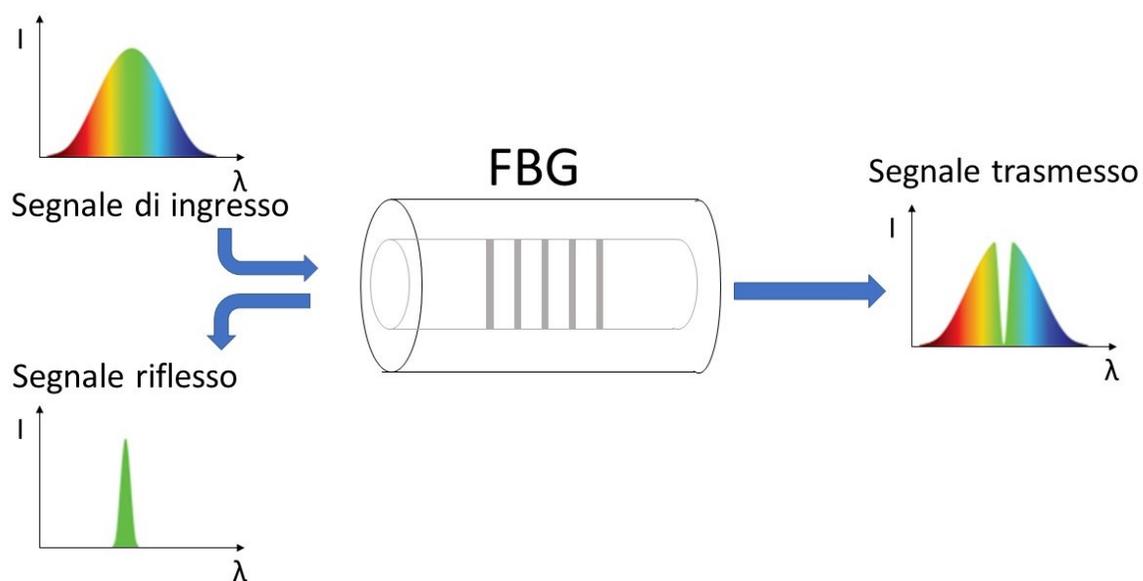


Figura 7.5: Principio di funzionamento reticolo di Bragg

7.2.1 Fabbricazione

Dal punto di vista strutturale, esistono diverse modalità di fabbricazione che si possono seguire per la realizzazione di questi reticoli, tutte quante, però, sfruttano la fotosensibilità del core per modificarne l'indice di rifrazione. Di seguito si riportano le principali metodologie utilizzabili. [28][29]

- *Olografia* : questa tecnica espone la fibra ottica ad un fascio UV. Questo viene diviso in due componenti che vengono poi ricombinate sulla fibra ottica secondo un'angolazione che ne determina la periodicità spaziale Λ . In generale per aumentare la fotosensibilità del nucleo della fibra ai raggi ultra violetti, questo viene opportunamente dopato con l'aggiunta di elementi chimici come il germanio o il boro.
- *Phase mask* : in questa tecnica tra la sorgente luminosa e la fibra ottica viene interposta una maschera, tipicamente in silice fusa, che divide il fascio luminoso in componenti che, una volta ricombinate, incidono sulla fibra e ne creano il reticolo al suo interno. La periodicità del reticolo è regolamentata dal pattern della maschera.
- *Femtosecond laser* : questa è una delle metodologie più recenti e innovative. Prevede l'utilizzo di un laser in grado di emettere impulsi dell'ordine dei femtosecondi (10^{-15} s) permettendo così di controllare con precisione la focalizzazione spaziale e temporale del fascio luminoso. Non solo, ma con questa tecnica non è richiesto un preciso drogaggio del core che ne aumenti la fotosensibilità.

7.2.2 Tipologie di reticoli

E' possibile distinguere diverse tipologie di reticoli di Bragg a seconda del periodo spaziale imposto nella modifica dell'indice di rifrazione del nucleo della fibra ottica. In particolare si possono distinguere le seguenti tipologie di ripetizione (Fig. 7.6) :

- *Uniforme* : il periodo spaziale tra le zone a indice di rifrazione modificato rimane costante per tutto il reticolo. Questa è la tipologia utilizzata in questo progetto di tesi.
- *Chirped* : il periodo non rimane costante ma viene progressivamente aumentato lungo il reticolo
- *Tilted* : la modifica dell'indice di rifrazione non avviene perpendicolarmente all'asse longitudinale della fibra, ma con un determinato angolo
- *Array di reticoli* : su una sola fibra ottica vengono scritti più reticoli, e ognuno è caratterizzato da lunghezze d'onda di riflessione differenti in modo che il loro spettro rimanga separato. Questa possibilità permette di analizzare più zone spaziali e monitorare la temperatura non solo in un punto. Naturalmente non ci sono vincoli alla tipologia di reticoli inscrivibili.

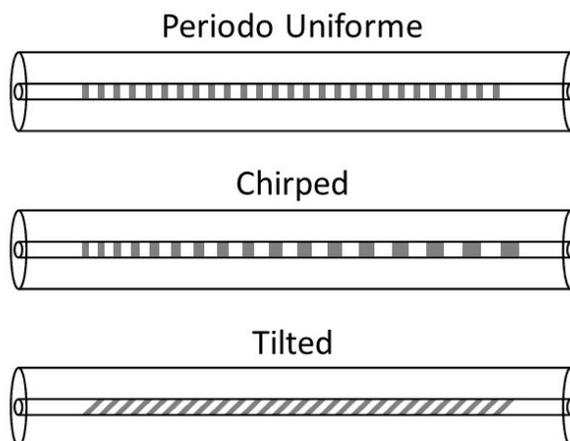


Figura 7.6: Tipologie di reticoli di Bragg, alcuni esempi delle periodicità spaziali realizzabili

E' necessario ancora sottolineare, che ogni singola variazione dell'indice di rifrazione all'interno del reticolo può essere realizzata seguendo profili differenti e questo influenza lo spettro di riflessione. Un esempio classico è la variazione apodizzata di n , che permette di ridurre i lobi secondari presenti nel picco di riflessione registrata dal reticolo. A titolo riassuntivo alcune di queste varianti sono riportate in figura 7.7.

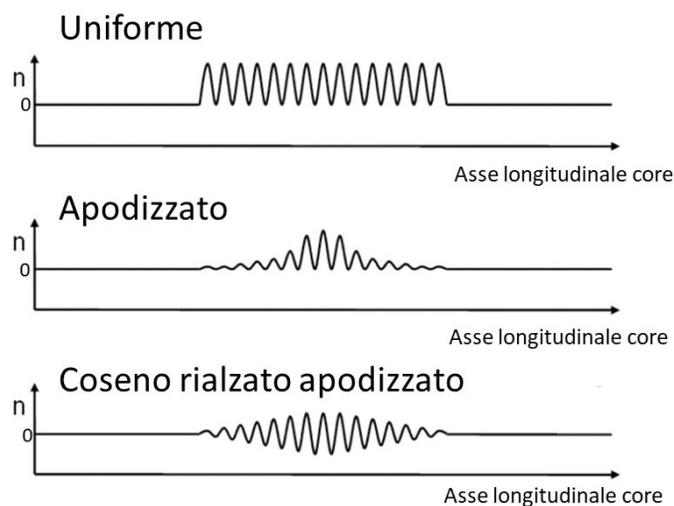


Figura 7.7: Esempio di alcune tipologie di variazioni dell'indice di rifrazione all'interno dei reticoli di Bragg

7.2.3 Interrogatori

I sistemi di acquisizione utilizzati per interrogare i reticoli di Bragg, qualunque sia il numero o la tipologia, prevedono essenzialmente due componenti, ovvero, la sorgente luminosa a largo spettro e un analizzatore dello spettro misurato in riflessione. In generale occorre però precisare e distinguere due tipologie di interrogatori: quelli basati su una sorgente luminosa a banda larga e quelli che utilizzano invece un laser tunabile che spazza consecutivamente tutto lo spettro.

La prima tipologia utilizza una fonte luminosa a larga banda, come ad esempio un LED superluminescente, la cui luce viene convogliata nella fibra ottica contenente il reticolo di Bragg attraverso un circolatore ottico. Sempre attraverso quest'ultimo, la componente riflessa viene indirizzata ad un filtro tunabile, che spazzando ordinatamente tutte le lunghezze d'onda dello spettro, indirizza il segnale in uscita ad un fotodiodo, che è collegato ad un amplificatore di transimpedenza; in questo modo la potenza ottica viene convertita in una tensione analogica, che può essere digitalizzata e memorizzata. Il componente che contraddistingue questa tipologia di acquisizione è proprio il filtro tunabile (Es. interferometro fabry-Perot).

La seconda tipologia, invece, prevede di utilizzare come sorgente luminosa un laser a banda ristretta, e di spazzarlo su tutto lo spettro da analizzare, evitando così di dover filtrare il segnale prima di analizzarlo in riflessione, il quale viene così direttamente indirizzato al fotodiodo. Il principio di funzionamento è quindi simile alla prima tipologia esposta, con la differenza che l'analisi sequenziale della singole lunghezze d'onda che compongono lo spettro avviene prima che il segnale luminoso interagisca con il reticolo (Fig. 7.8). Il vantaggio principale è l'utilizzo di una sorgente luminosa laser, la cui intensità risulta essere sempre uguale per qualunque lunghezza d'onda, caratteristica non soddisfatta, invece dal componente SLED che incide negativamente sul rapporto segnale rumore.

Per questo progetto di tesi, in particolare, si è utilizzato l'interrogatore Micron Optics si155, che utilizza la seconda tipologia qui esposta, ovvero il laser tunabile.

Micron Optics si155

Le letture delle risposte dei reticoli di Bragg utilizzati in questo progetto di tesi, come anticipato, sono state fatte utilizzando un interrogatore a laser tunabile : il Micron Optics si155. Tale strumento permette di monitorare l'intero spettro misurato in riflessione dai reticoli e di effettuarne un tracking dei picchi. Di seguito si riportano le principali caratteristiche tecniche:

- *Finestra di lettura* : da 1500 nm a 1600 nm
- *Risoluzione* : 10 pm
- *Frequenza di acquisizione* : fino a 1 kHz per il monitoraggio del picco e 10 Hz per l'intero spettro
- *Canali*: fino a quattro leggibili in parallelo, senza il bisogno di alcun switch ottico. Le specifiche tecniche dei dati misurati rimangono invariate per tutti e quattro.

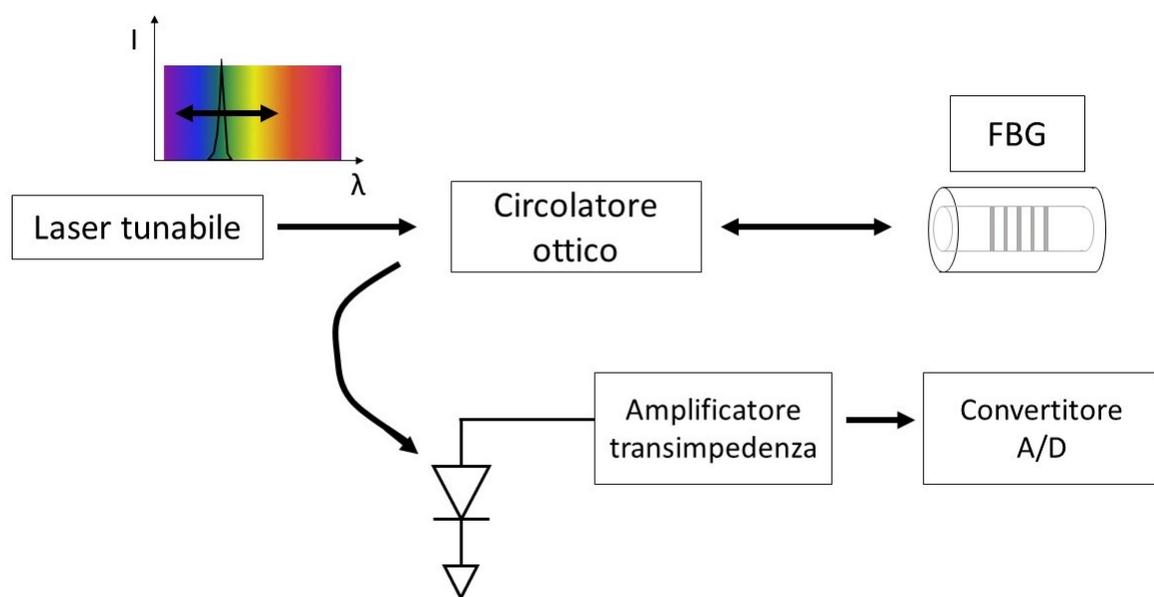


Figura 7.8: Rappresentazione schematica del principio di funzionamento degli interrogatori a laser tunabile

Dal punto di vista della portabilità, invece, lo strumento risulta avere dimensioni confrontabili con i consueti strumenti da banco (20.6 cm x 27 cm x 7.9 cm.) e un peso di 3 kg. Un vantaggio è la possibilità di utilizzare lo strumento in remoto, collegando ad una rete Ethernet; infatti proprio grazie a questa caratteristica è possibile acquisire e controllare lo strumento via computer senza la sua presenza fisica.

Per quanto riguarda l'interfaccia con l'utente è possibile utilizzare *ENLIGHT Sensing Analysis Software* scaricabile gratuitamente dal sito Micronoptics. Tale programma permette una lettura dello strumento molto facile ed intuitiva. Come si vede dall'immagine 7.10 è possibile visualizzare a video tutti e quattro gli spettri leggibili in parallelo. Dalle altre finestre, apribili dai manu a tendina, è possibile visualizzare graficamente il tracking dei picchi rilevati, modificare la frequenza di acquisizione, la modalità del salvataggio dei dati e realizzare dei veri e propri ambienti di controllo dei sensori, che monitorino costantemente i misurandi e mandino un messaggio dall'allarme all'utente qualora questo fuoriesca da un range di sicurezza imposto a priori.

7.2. Reticoli di Bragg



Figura 7.9: Micron Optics si 155

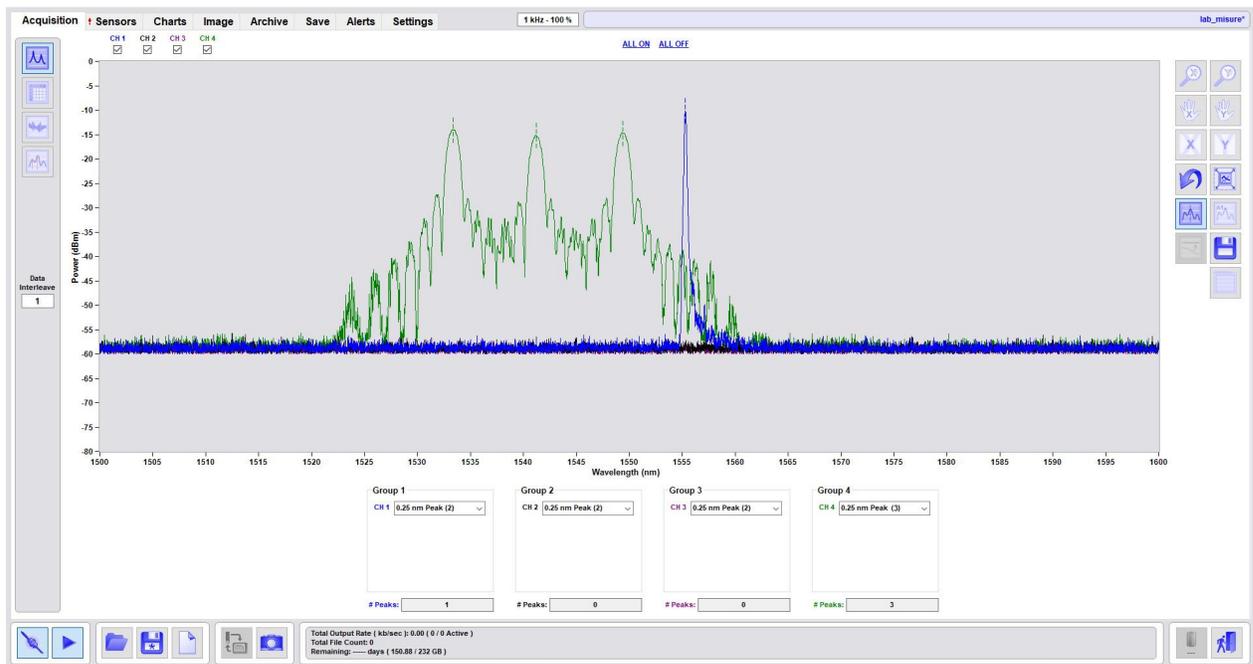


Figura 7.10: Interfaccia ENLIGHT Sensing Analysis Software. Nell'immagine si può vedere lo spettro di un reticolo semplice connesso al canale 1 (colore blu) e lo spettro di un array di reticoli connesso al canale 4 (colore verde)

Peak detection

Grazie all'utilizzo di questo strumento, è possibile rilevare in automatico il picco di riflessione dello spettro registrato dai reticoli di Bragg che, come è già stato spiegato precedentemente, è l'informazione utile per il sensing termico. Il Micronoptics, infatti, riesce a convertire i dati raccolti dell'intero spettro in precise misurazioni del picco con frequenze estendibili fino a 1 kHz, grazie ad un processing dei dati che avviene parallelamente all'acquisizione. Di seguito si riporta il procedimento generale utilizzato dallo strumento per identificare il picco.

Il segnale acquisito, dopo opportuni filtri per rimuovere eventuali disturbi introdotti dal rumore, viene filtrato con un filtro derivativo, che permette di ricercare il picco dello spettro attraverso una tecnica di *zero crossing*, ovvero ricercandolo come il punto in cui la derivata del segnale si annulla. A livello numerico, però, dopo il filtraggio nel segnale non è presente un unico valore nullo, infatti la derivata di un segnale è pari a zero anche quando ha un'andamento costante. Per risolvere questo problema, viene utilizzato un valore di soglia che permette di individuare un intervallo utile per ricercare lo zero, composto da tutti i punti che seguono il primo campione maggiore di questo parametro. Definita questa finestra, il picco ricercato corrisponde al primo campione con il valore nullo. Naturalmente i valori di questa soglia sono modificabili dell'utente, in modo da poter creare profili di ricerca del picco di riflessione personalizzati e che permettano di adeguarsi alle varie tipologie di reticoli, come ad esempio escludere i picchi secondari nei reticoli di Bragg non apodizzati, e riuscire ad individuare il picco anche in un segnale particolarmente rumoroso. In figura 7.11 sono riassunti i principali passaggi del processo di ricerca del picco appena esposto.

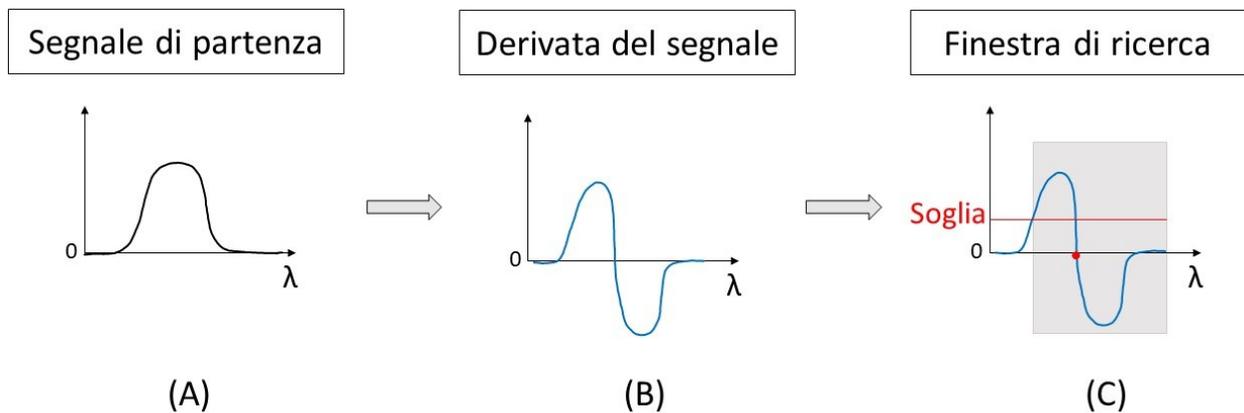


Figura 7.11: Schema dei principali passaggi dell'algoritmo di ricerca del picco incorporato nel sistema utilizzato. (A) Segnale di partenza (B) Derivata del segnale (C) Creazione della finestra di ricerca del valore nullo corrispondente al picco, attraverso l'imposizione di una soglia

Capitolo 8

Utilizzo sperimentale dei reticoli di Bragg

Come anticipato precedentemente, dati i loro numerosi vantaggi, in questo progetto di tesi i reticoli di Bragg sono stati utilizzati come sensori di temperatura.

Prima di tutto ne è stata effettuata una caratterizzazione in camera climatica, in modo da poter ricavare la relazione esatta che correla la temperatura allo shift del picco di riflessione, utilizzando un termoelemento campione Pt100 come riferimento. Durante la caratterizzazione tutti i sensori sono stati protetti da opportuni rivestimenti rigidi in modo da isolarli dalle deformazioni meccaniche e assicurarsi di monitorare la sola variazione termica. A tale scopo si sono utilizzati dei capillari di vetro, dove i sensori sono stati inseriti manualmente, e due protezioni, una metallica e l'altra di materiale plastico, costruite e posizionate attorno al reticolo direttamente dal costruttore.

Valutando poi la loro applicabilità per il monitoraggio termico in fantocci realizzati per simulare tessuti biologici, dopo il processo di taratura è stata valutata l'entità dell'errore che si aggiunge alle misure, qualora si utilizzino senza essere inseriti in opportune protezioni rigide. Per farlo si sono utilizzati nuovamente sia il sensore di riferimento Pt100 che la camera climatica, ma a differenza della calibrazione, il range di temperature analizzato è stato ristretto per evitare degradazioni del composto a base di agar. In queste misurazioni si sono provate due modalità differenti per il posizionamento delle fibre all'interno del fantoccio. In particolare alcuni sensori sono stati inseriti nel composto ancora fluido, posizionandoli su uno strato liquido di agar e ricoprendoli poi con la colatura del resto del composto, mentre un altro sensore è stato introdotto, per mezzo di un ago guida, nel campione già solidificato.

8.1 Caratterizzazione dei reticoli

Al fine di utilizzare correttamente un sensore, il primo passaggio obbligatorio è effettuare una caratterizzazione, ovvero, ricavare la relazione matematica che lega la grandezza fisica in ingresso e quella misurabile in uscita. Nel caso dei reticoli di Bragg, qui utilizzati come sensori di temperatura, questo processo prevede di ricavare la relazione tra lo shift della

lunghezza d'onda del picco di riflessione del reticolo (λ_B) e la variazione di temperatura che la causa, assunta uniforme lungo tutto il reticolo. La relazione da ricercare, in accordo con quanto già riportato, è di tipo lineare e descritta dall'equazione 8.1.

$$\lambda_B = K_T \cdot T + \lambda_0 \quad (8.1)$$

Dove le incognite da ricercare durante la caratterizzazione sono:

- *Sensibilità in temperatura* K_T [pm/°C] che esprime il rapporto tra la variazione della grandezza in uscita e quella d'ingresso del sensore. Maggiore è il suo valore più, a parità di variazione di temperatura, lo shift della lunghezza d'onda riflessa dal reticolo λ_B è consistente.
- λ_0 : la posizione del picco riflesso dal reticolo a zero gradi.

Per poter determinare tali parametri, i reticoli sono stati posti in camera climatica insieme a un sensore di riferimento che permettesse di monitorare esattamente la temperatura raggiunta.

In generale per la caratterizzazione dei reticoli la strumentazione che è stata utilizzata è la seguente:

- *Sensore di temperatura di riferimento* Pt_{100} : termoelemento campione certificato ACCREDIA
- *Multimetro HP Agilent 34401A*: utilizzato per il monitoraggio della resistenza del sensore Pt_{100} a quattro terminali. Lo strumento viene comandato in remoto attraverso un codice LabVIEW
- *Reticoli di Bragg*: opportunamente incapsulati in capillari di vetro per evitare variazioni del picco di riflessione causate dallo strain
- *Micron Optics si155*: interrogatore ottico per il monitoraggio del picco di riflessione dei reticoli di Bragg
- *Camera climatica Vötsch VC 4018* : permette di ricreare ambienti a temperatura e umidità controllata

Durante le varie acquisizioni si sono investigati range di temperatura sufficientemente vasti da poter monitorare i reticoli a precisi step termici in modo da avere un numero sufficiente di punti per verificarne la linearità. Ogni step deve prevedere l'esaurimento del transitorio termico e raggiunta la stabilità i dati raccolti, dai reticoli e dal sensore di riferimento, vengono estrapolati e mediati su un lasso temporale tale da ridurre la variabilità introdotta dal rumore o causate dalla, seppur minima, fluttuazione della camera climatica. Questi valori vengono poi messi in relazione tra di loro e interpolati attraverso la funzione `polyfit` di Matlab, e se ne ricava la relazione lineare che li lega (Eq. 8.1).

8.1.1 Sensori protetti in capillari di vetro

In questa sezione viene presentata la caratterizzazione di quattro reticoli di Bragg, in modo da sfruttare tutti e quattro i canali di ingresso del Micron Optics, che vengono inseriti in un capillare di vetro in modo da poter associare alla variazione del picco di riflessione il solo cambiamento di temperatura ed escludere il contributo dello strain. Tutti e quattro i reticoli vengono fissati con il Pt_{100} ad una piastra di alluminio che funziona da inerzia termica (Fig. 8.1). Così facendo, le variazioni di temperatura registrate dai sensori seguono le variazioni termiche della piastra e in questo modo si riescono a filtrare le oscillazioni di temperatura indotte dalla camera climatica e si ha una misura più stabile. Il prezzo da pagare, però, è l'aumento del tempo di acquisizione per ogni step termico, dal momento che i sensori possono stabilizzarsi solamente dopo che l'intera piastra ha esaurito il transitorio termico. Si sono caratterizzati alcune tipologie di reticoli presenti nel laboratorio di Misure, in particolare :

- Reticolo uniforme (CH 1 del MicronOptics)
- Array di tre reticoli *PS* (CH 2 del MicronOptics)
- Reticolo uniforme *A1* (CH 3 del MicronOptics)
- Reticolo uniforme *2* (CH 4 del MicronOptics)

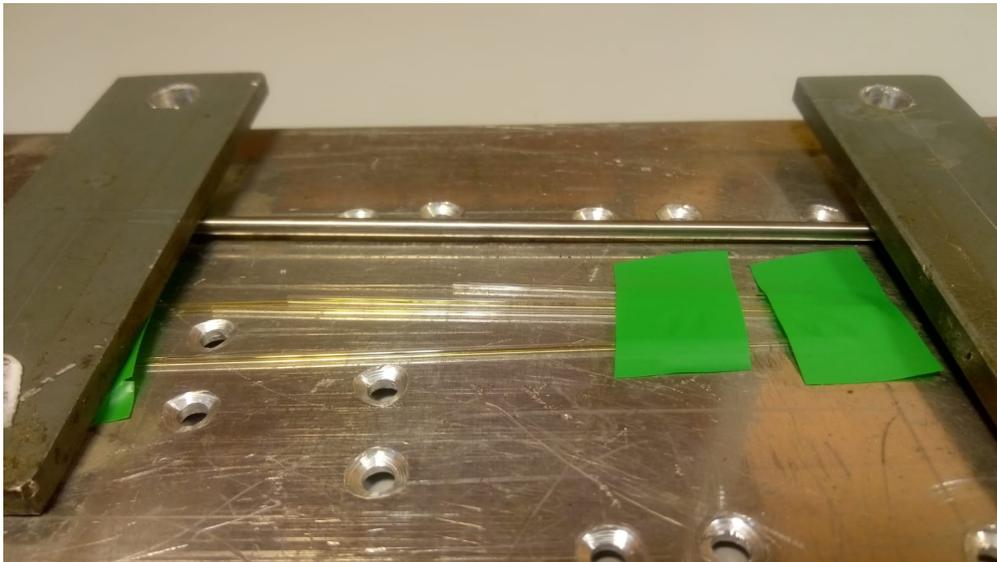


Figura 8.1: Quattro reticoli di Bragg inseriti nei capillari di vetro, con affianco il sensore di riferimento Pt_{100} , fissati alla piastra metallica che funziona da inerzia termica.

Nelle figure 8.2-8.5 si trovano i loro spettri di riflessione acquisiti a temperatura ambiente e senza alcuna sollecitazione.

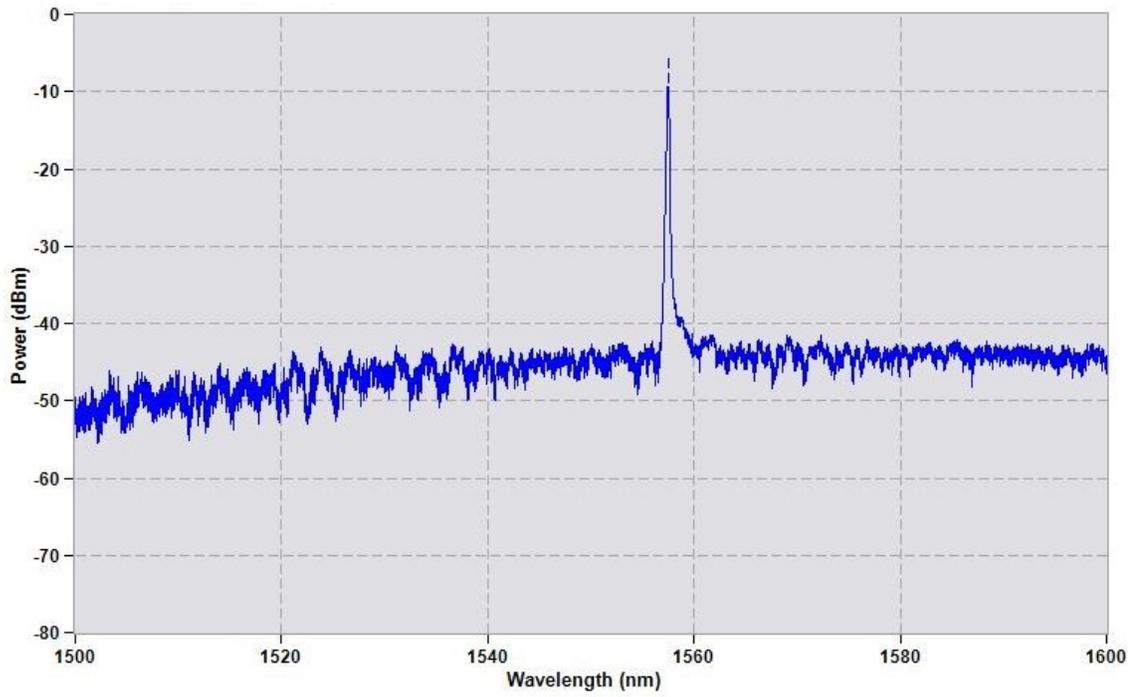


Figura 8.2: Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 1

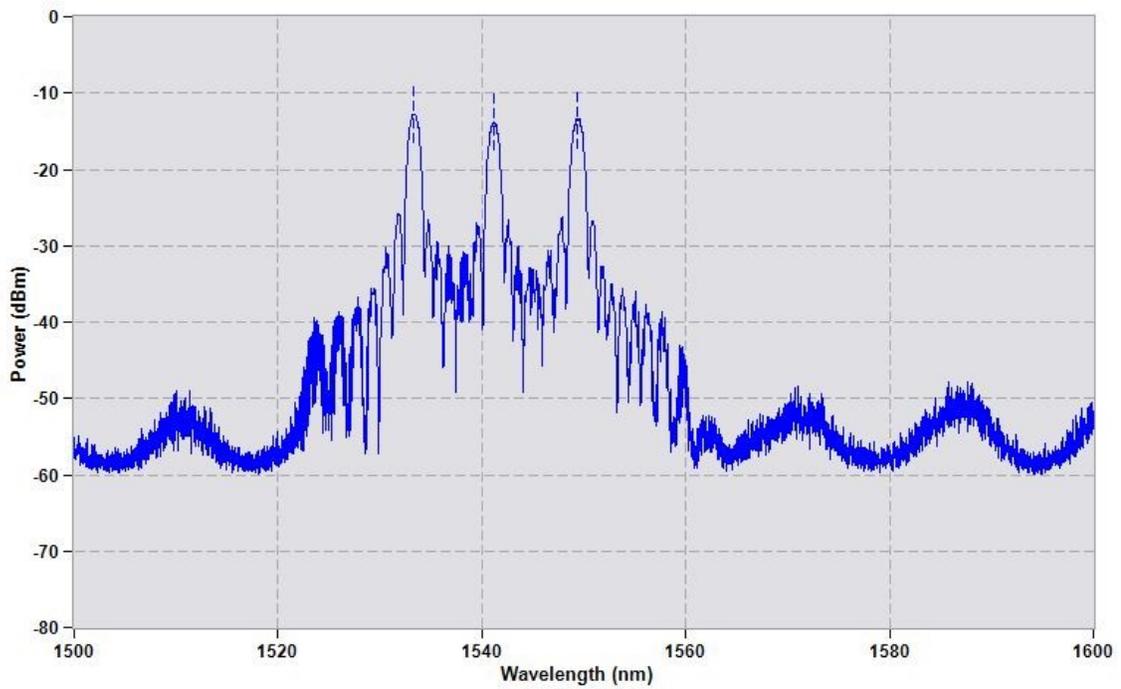


Figura 8.3: Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 2

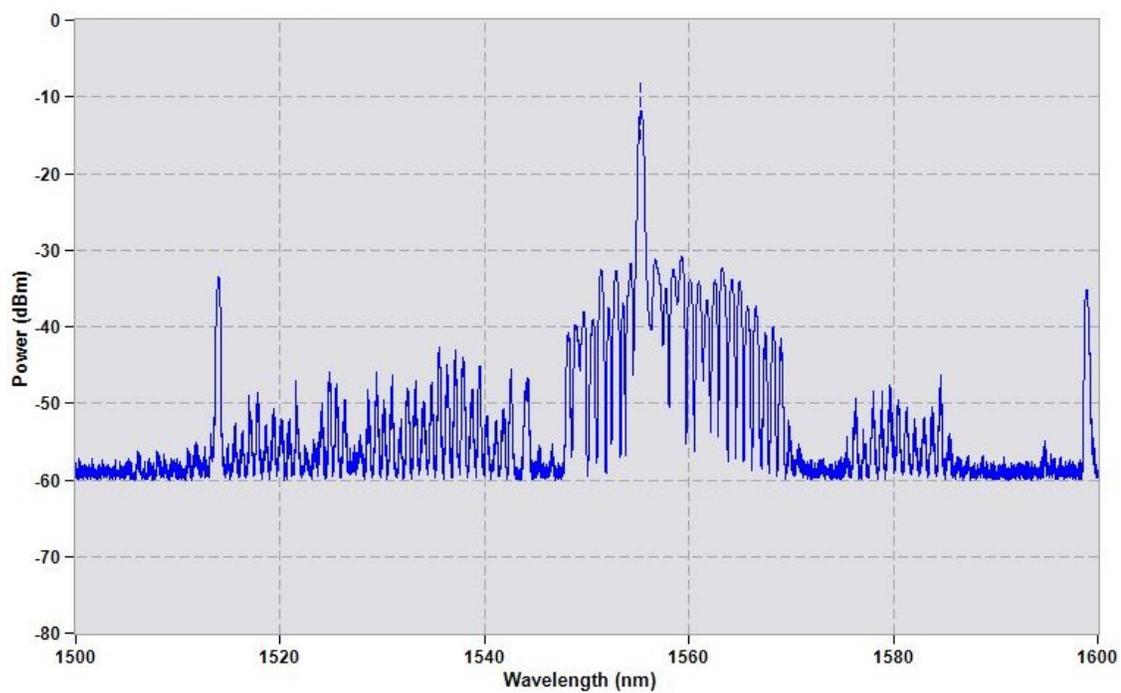


Figura 8.4: Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 3

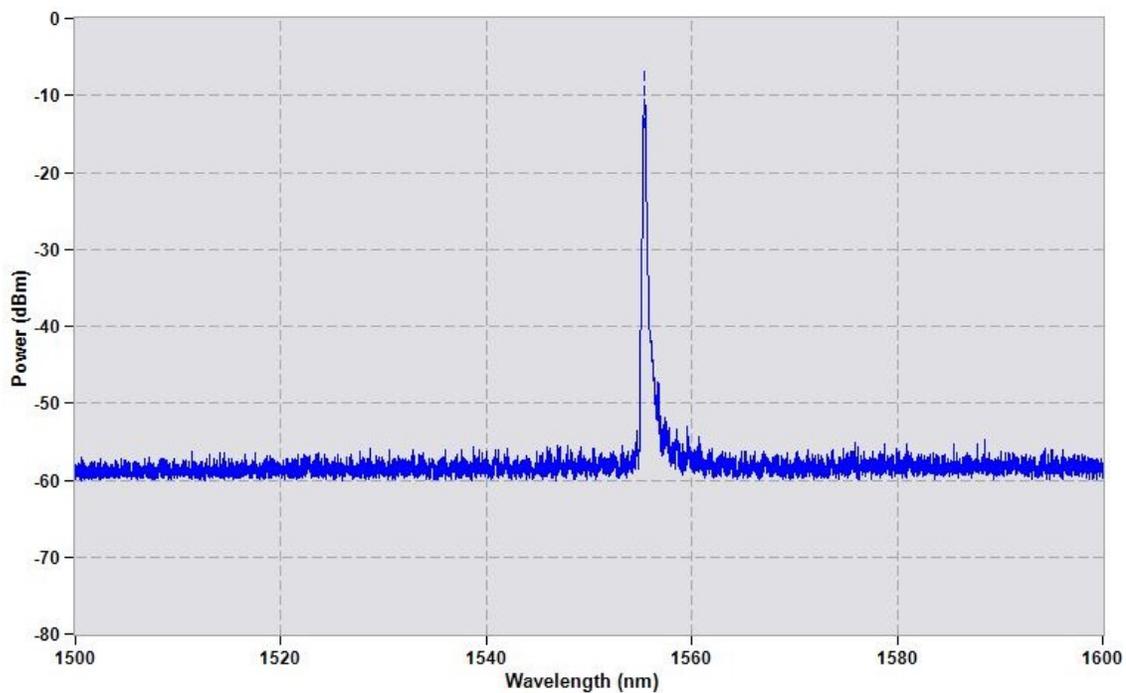


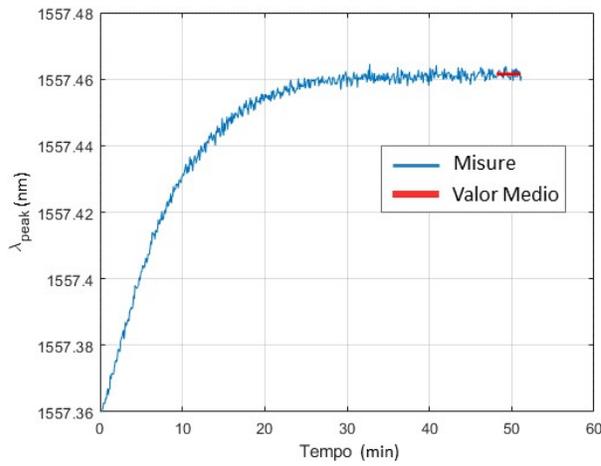
Figura 8.5: Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 4

Durante le prove in camera climatica i valori di resistenza del Pt_{100} e i picchi detettati dei reticoli vengono monitorati e acquisiti rispettivamente con il Multimetro HP Agilent 34401a e il MicronOptics si155. L'acquisizione e il salvataggio dei dati avviene in modo contemporaneo e con una frequenza di campionamento pari a 0.2 Hz e i dati vengono successivamente elaborati in Matlab. In particolare, per ogni step termico, raggiunta la stabilità si registra il valor medio della temperatura e della lunghezza d'onda riflessa da ogni reticolo, mediando trentasei campioni registrati su un lasso temporale pari a tre minuti (Fig 8.7, 8.6). Come già anticipato, l'utilizzo della piastra metallica come inerzia termica aumenta considerevolmente i tempi del transitorio termico, richiedendo quasi un'ora per ogni gradino termico di dieci gradi centigradi. Questo procedimento viene ripetuto per tutti gli step termici monitorati in queste prove di caratterizzazione, in particolare si sono eseguiti, nel medesimo ordine, gli step riportati in tabella 8.1. L'ultimo passaggio, prevede infine di ricercare la retta interpolante i valori medi delle lunghezze d'onda dei picchi di riflessione con i valori di temperatura di riferimento misurati con il Pt_{100} , da cui si ricava l'equazione di caratterizzazione 8.1.

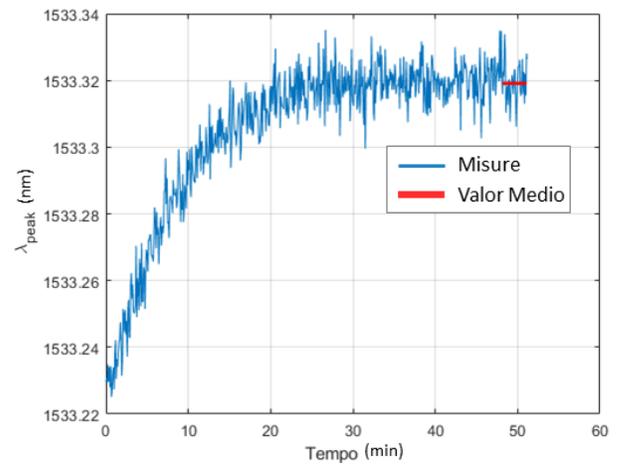
Step termici										
[°C]	+10	+20	+30	+40	+50	+60	+70	+80	+10	+20
[°C]	-20	-10	0	+10	+20	+30	+40	+80	+20	

Tabella 8.1: Step termici analizzati per la caratterizzazione dei reticoli di Bragg

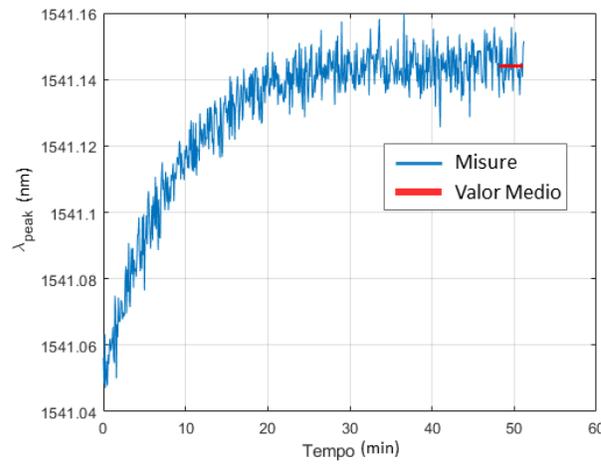
8.1. Caratterizzazione dei reticoli



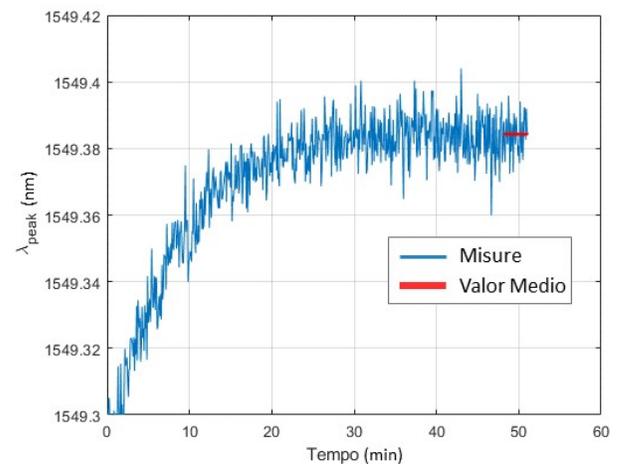
(a) $\lambda_{peak} CH1 : STD=0.0012nm \equiv 0.1110^{\circ}C$



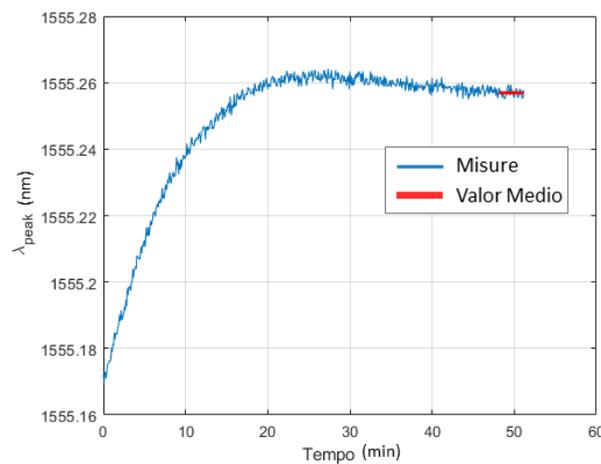
(b) $\lambda_{peak(1)} CH2 : STD=0.0059nm \equiv 0.5854^{\circ}C$



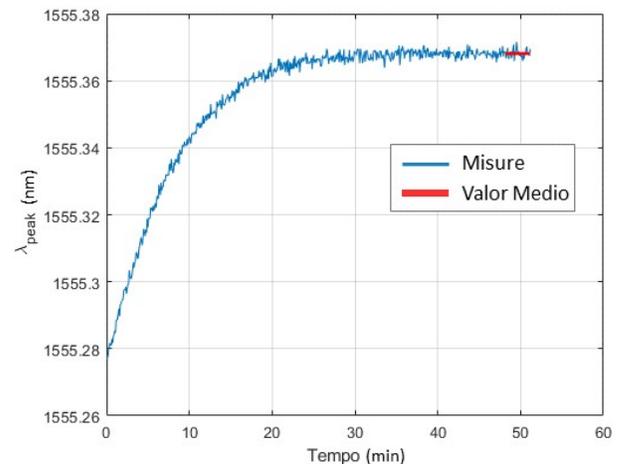
(c) $\lambda_{peak(2)} CH2 : STD=0.0054nm \equiv 0.5315^{\circ}C$



(d) $\lambda_{peak(3)} CH2 : STD=0.0059nm \equiv 0.5860^{\circ}C$



(e) $\lambda_{peak} CH3 : STD=0.0012nm \equiv 0.1218^{\circ}C$



(f) $\lambda_{peak} CH4 : STD=0.0013nm \equiv 0.1279^{\circ}C$

Figura 8.6: Monitoraggio dei picchi di riflessione dei reticoli di Bragg caratterizzati. Qui viene riportato lo step termico registrato nel passaggio dai 10°C ai 20°C, evidenziando in rosso il valor medio calcolato nell'intervallo di stabilità.

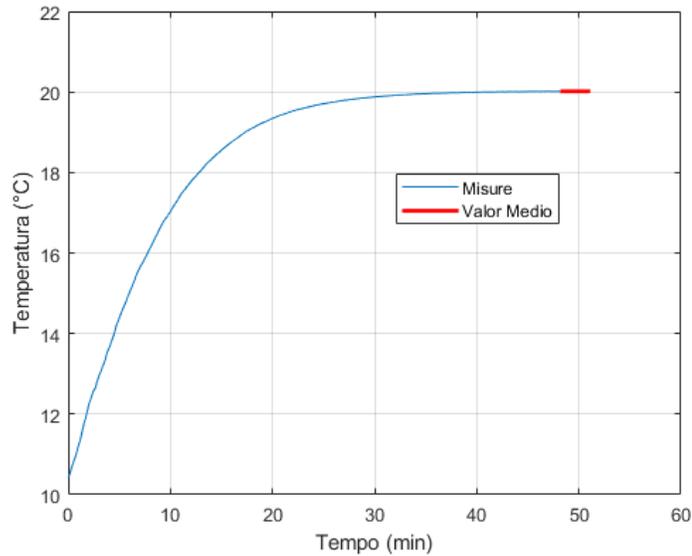


Figura 8.7: ,

Monitoraggio della temperatura con il Pt_{100} . Qui viene riportato lo step termico registrato nel passaggio dai 10°C ai 20°C , evidenziando in rosso il valor medio calcolato nell'intervallo di stabilità

Risultati della calibrazione

Di seguito si riportano i risultati grafici e le rette di caratterizzazione trovate per ogni reticolo. Come ci si aspettava, la sensibilità di tutti i reticoli non si discosta molto da $10 \text{ } \mu\text{m}/^{\circ}\text{C}$, dal momento che questa caratteristica dipende solamente dal materiale di cui è fatta la fibra in cui il reticolo viene scritto e dalla lunghezza d'onda con cui questo viene interrogato. Viene anche riportato lo scarto massimo delle misure rispetto alla retta interpolante; per calcolarlo si trova la massima distanza dal punto ricavato dalle misurazioni fatte in camera climatica alla retta interpolante ottenendo lo scarto espresso in nanometri. Questo valore viene poi diviso per la sensibilità K_T , ovvero il coefficiente angolare della retta, trovando così lo scarto espresso in gradi centigradi. Come si vede dai dati qui riportati, in pochi casi questo valore supera i due gradi centigradi, ritenendo quindi accettabile sia la caratterizzazione effettuata che il loro possibile utilizzo per il monitoraggio termico in processi termo-ablativi.

8.1. Caratterizzazione dei reticoli

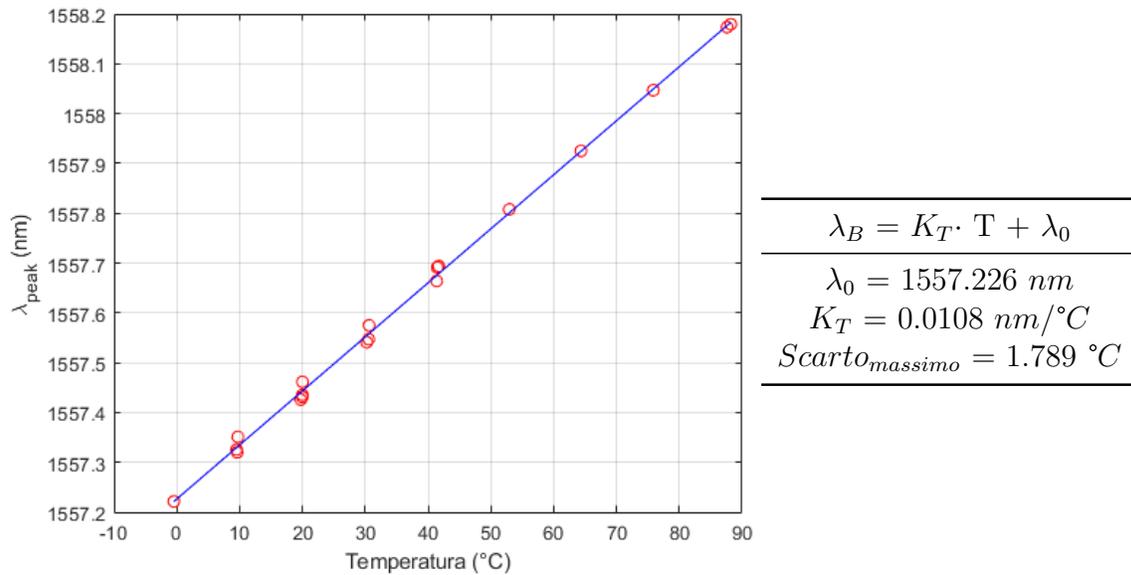


Figura 8.8: Retta di caratterizzazione del Reticolo uniforme (CH 1 del MicronOptics)

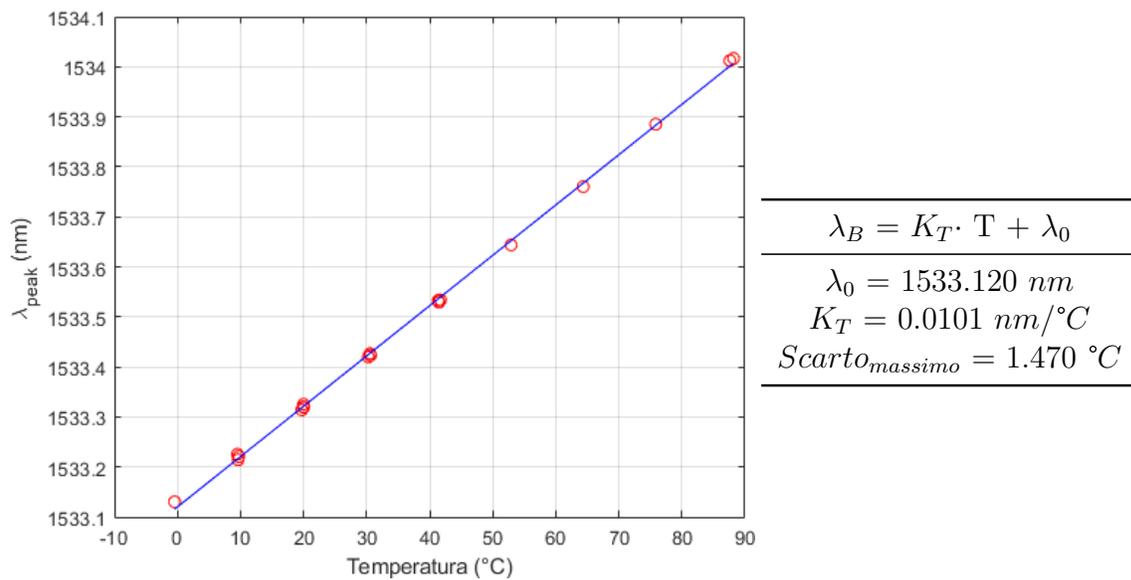


Figura 8.9: Retta di caratterizzazione del reticolo n.1 dell'array di reticoli *PS* (CH 2 del MicronOptics)

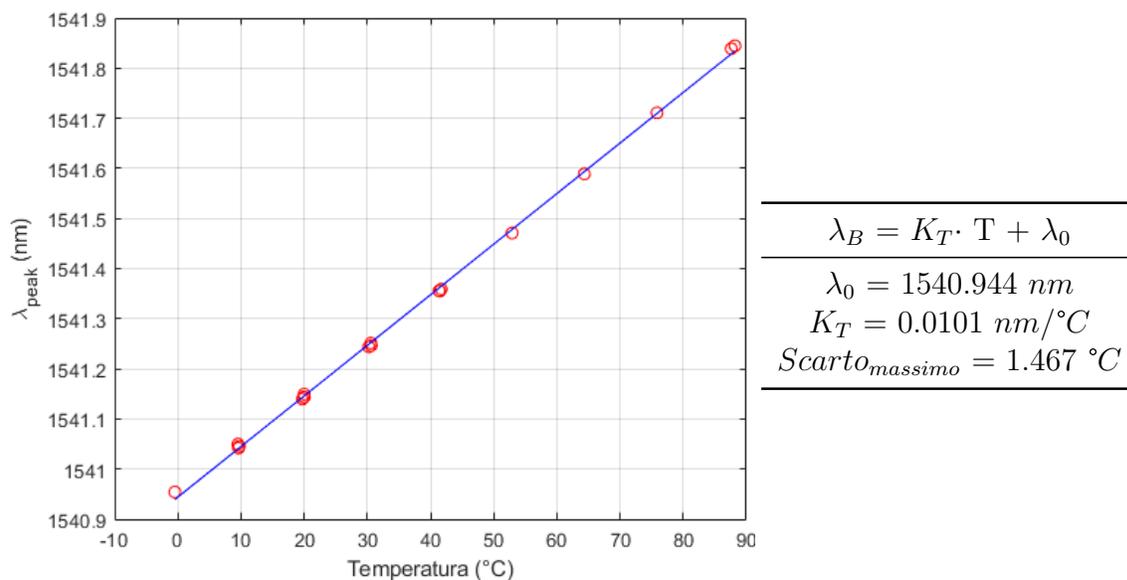


Figura 8.10: Retta di caratterizzazione del reticolo n.2 dell'array di reticoli *PS* (CH 2 del MicronOptics)

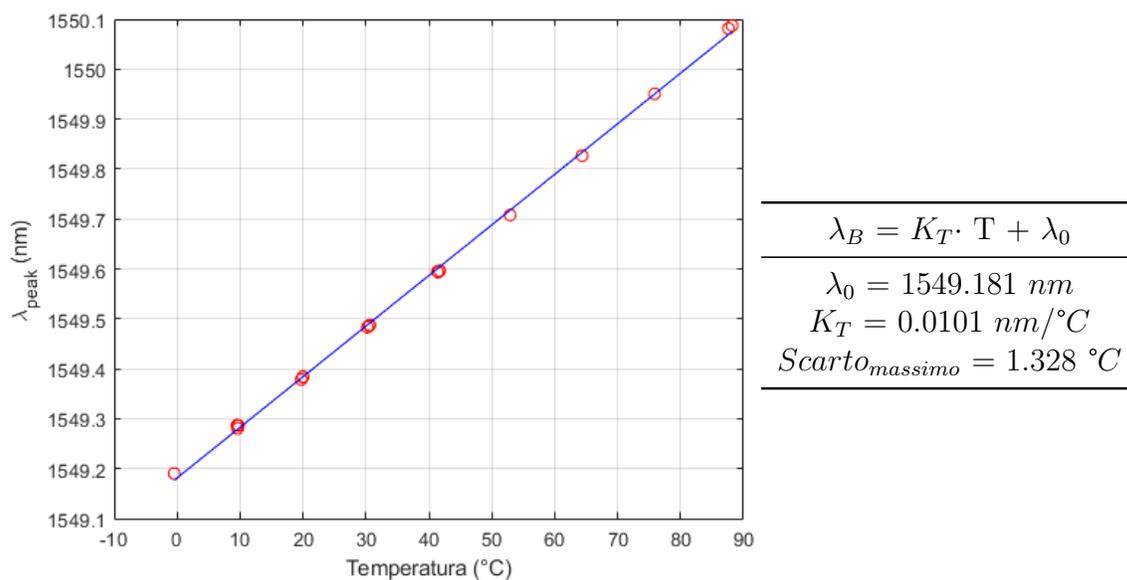


Figura 8.11: Retta di caratterizzazione del reticolo n.3 dell'array di reticoli *PS* (CH 2 del MicronOptics)

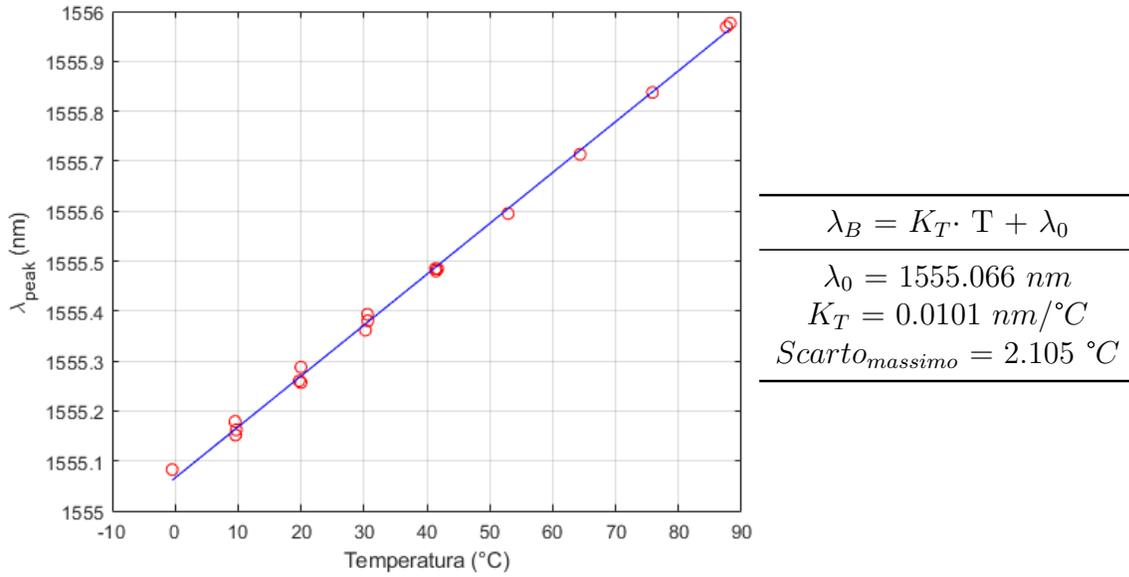


Figura 8.12: Retta di caratterizzazione del Reticolo uniforme A1 (CH 3 del MicronOptics)

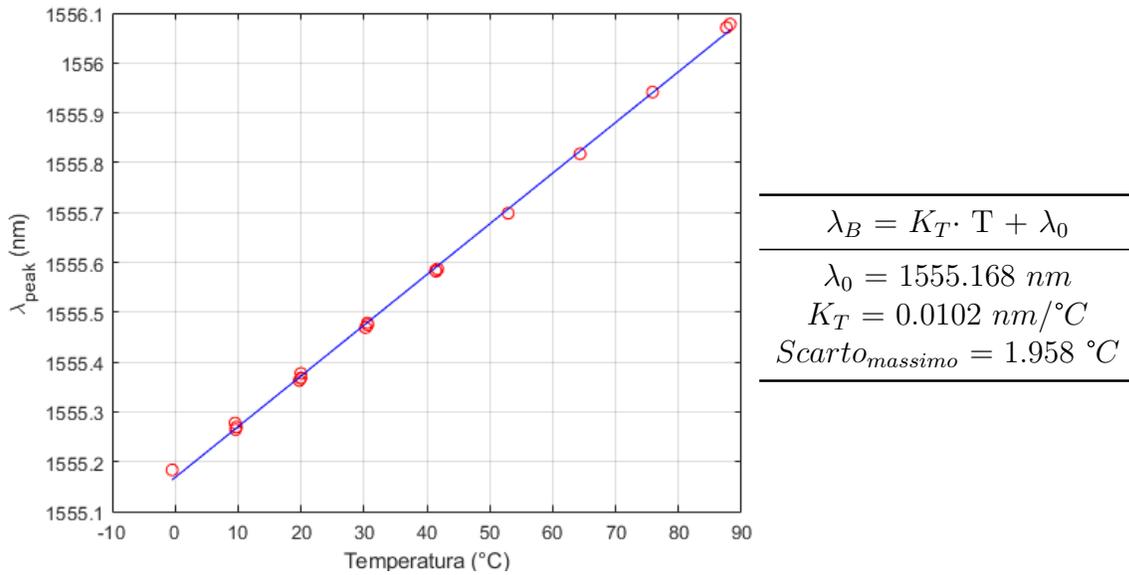


Figura 8.13: Retta di caratterizzazione del Reticolo uniforme 2 (CH 4 del MicronOptics)

8.1.2 Sensori commerciali in protezioni metalliche e plastiche

La medesima procedura seguita per la caratterizzazione dei reticoli inseriti manualmente nei capillari di vetro, viene ripetuta per la taratura di due reticoli di Bragg già incapsulati dal produttore in protezioni, una di metallo e una di plastica (Fig.8.17). Questi rivestimenti circondano l'intero reticolo e svolgono la medesima funzione del capillare di vetro in cui i sensori di prima erano stati manualmente inseriti, con la sola differenza che non possono essere rimossi dall'operatore. Dal momento che questi sono sensori già caratterizzati e di cui le specifiche sono note a priori, non vengono ancorati alla piastra metallica precedentemente utilizzata come inerzia termica, ma vengono fissati al sensore di riferimento Pt_{100} , velocizzando così le misurazioni a poco più di mezz'ora l'una. I reticoli caratterizzati sono i seguenti, e nelle figure 8.14 e 8.15 si trovano i loro spettri di riflessione acquisiti a temperatura ambiente e senza alcuna sollecitazione.

- Metal cage
- Plastic cage

Esattamente come per i reticoli precedenti, durante le prove in camera climatica i valori di resistenza del Pt_{100} e i picchi detettati dei reticoli vengono monitorati e acquisiti rispettivamente con il Multimetro (HP Agilent 34401a) e il MicronOptics si155. L'acquisizione e il salvataggio dei dati avviene in modo contemporaneo e con una frequenza di campionamento pari a 0.2 Hz e i dati vengono poi elaborati in Matlab. In particolare, per ogni step termico, raggiunta la stabilità si registra il valor medio della temperatura e della lunghezza d'onda riflessa da ogni reticolo, mediando trentasei campioni registrati su un lasso temporale pari a tre minuti. Nella figura 8.16 viene mostrato il monitoraggio e il calcolo della media di questi valori e come chiaramente visibile dalla figura, gli step termici esplorati sono stati eseguiti, nel medesimo ordine, di quelli riportati in tabella 8.2. Infine, come ultimo passaggio, si ricerca la retta interpolante i valori medi delle lunghezze d'onda dei picchi di riflessione con i valori di temperatura di riferimento misurati con il Pt_{100} , e se ne ricava l'equazione di caratterizzazione 8.1.

Step termici							
[°C]	+10	+20	+30	+40	+50	+10	+20

Tabella 8.2: Step termici analizzati per la caratterizzazione dei reticoli di Bragg commerciali

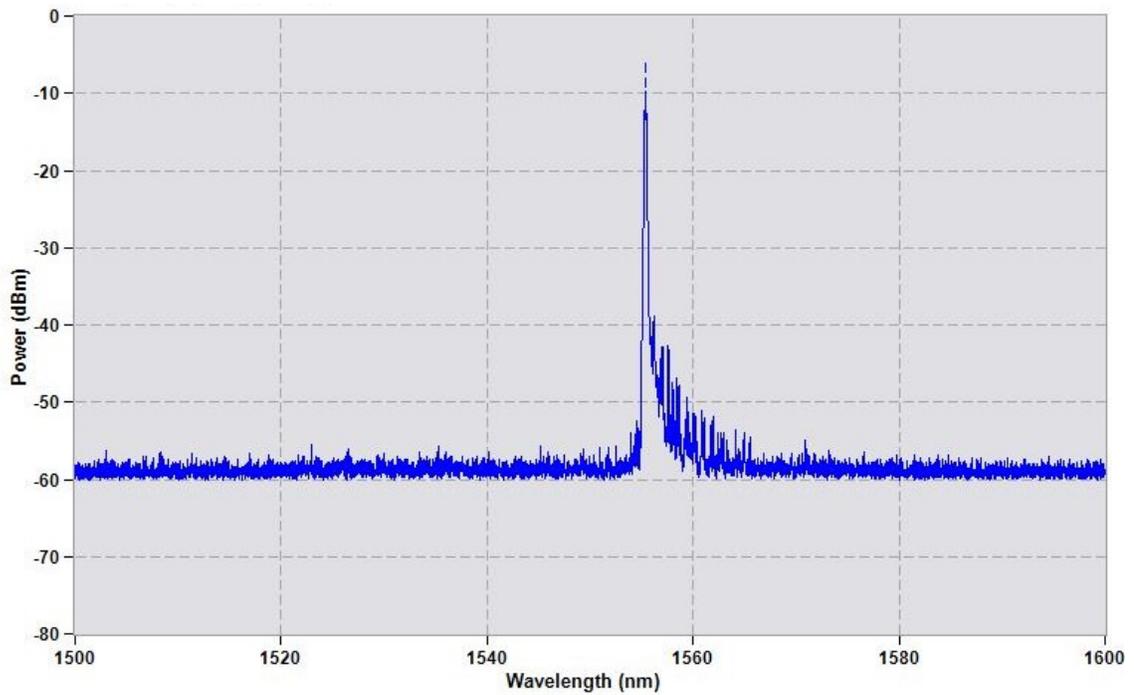


Figura 8.14: Spettro in riflessione del reticolo commerciale di Bragg incapsulato in un involucro metallico

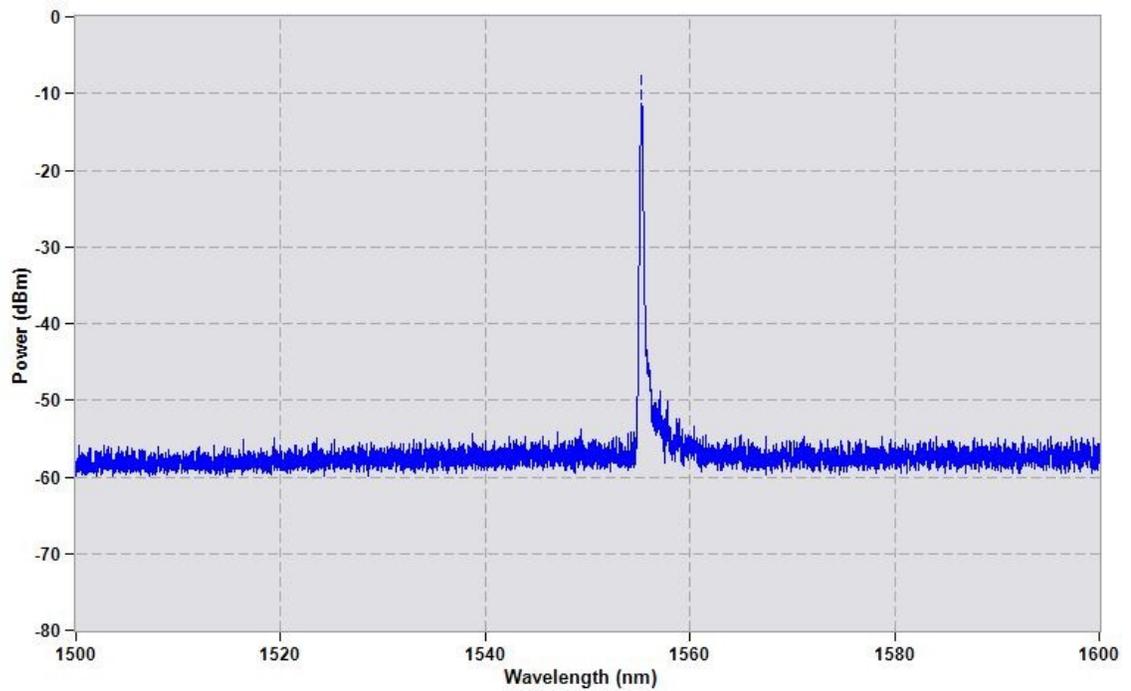
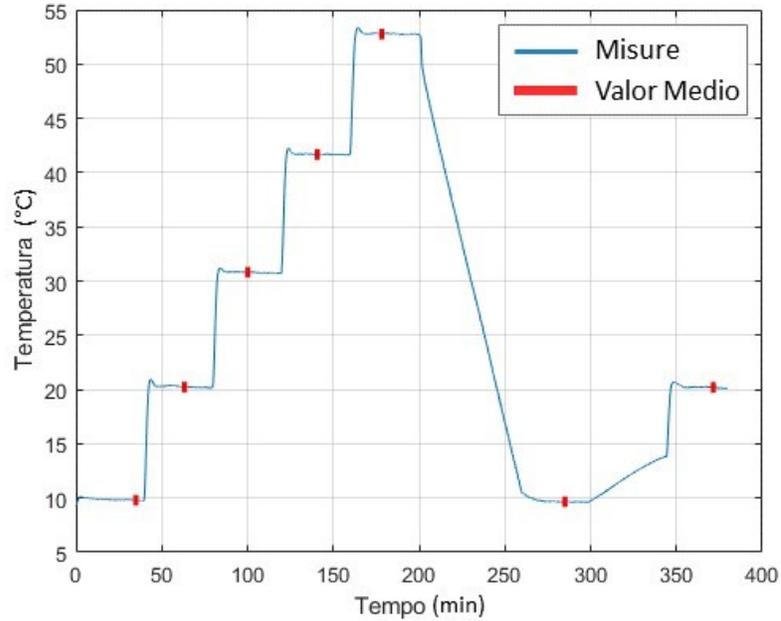
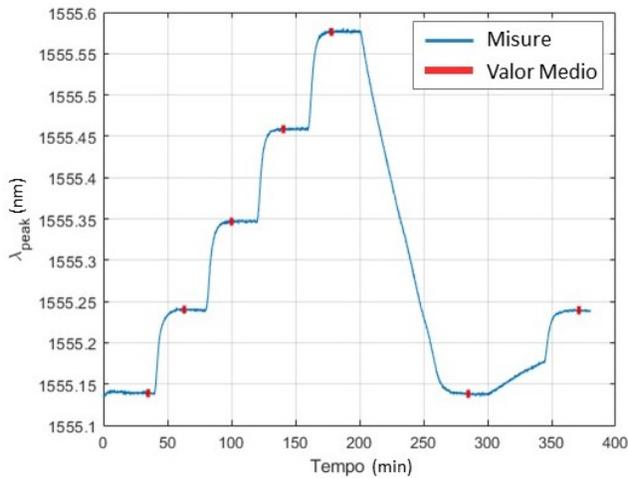


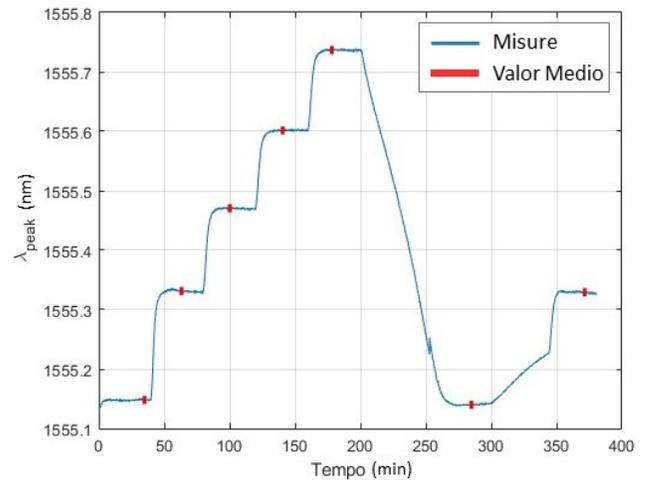
Figura 8.15: Spettro in riflessione del reticolo commerciale di Bragg incapsulato in un involucro di plastica



(a) Monitoraggio della temperatura Pt₁₀₀



(b) PLASTIC FBG : $STD=0.0010nm \equiv 0.0982^{\circ}C$



(c) METALLIC FBG : $STD=0.0012nm \equiv 0.0908^{\circ}C$

Figura 8.16: Monitoraggio dei picchi di riflessione dei reticoli di Bragg commerciali caratterizzati. Qui vengono riportati tutti gli step termici registrati, evidenziando in rosso il valor medio calcolato negli intervalli di stabilità.

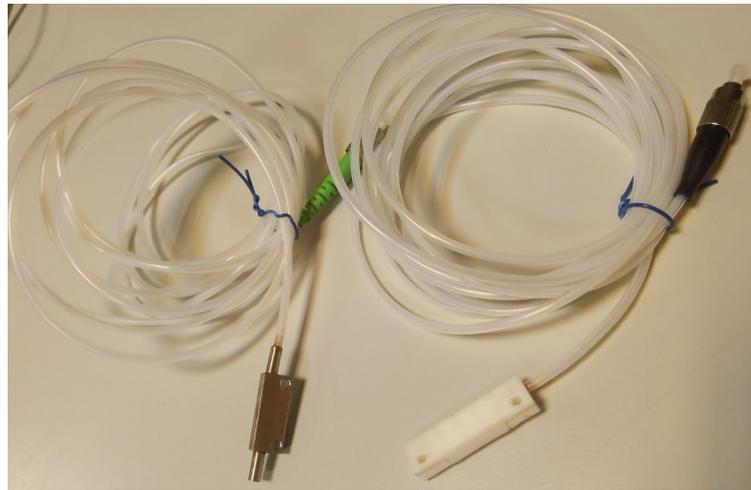


Figura 8.17: Sensori commerciali protetti da un case metallico e da un case in plastica

Risultati della calibrazione

Di seguito si riportano i risultati grafici e le rette di caratterizzazioni trovate per ogni reticolo. Analogamente ai reticoli precedentemente analizzati anche la sensibilità di questi sensori è pari a $10 \text{ } \mu\text{m}/^\circ\text{C}$ e ancora una volta lo scarto massimo delle misure rispetto alla retta interpolante non supera i due gradi centigradi, anzi, nel reticolo incapsulato nel contenitore plastico questo è ben inferiore all'unità. Tutte queste considerazioni ci portano ad affermare che le caratterizzazioni effettuate sono accettabili, ma a differenza dei reticoli protetti dai capillari di vetro, però, l'applicabilità di questi ultimi due sensori non può essere estesa al processo termoablattivo. Infatti, prima di tutto il case di protezione risulta avere dimensioni molto più considerevoli del capillare in vetro e quindi non potrebbe essere utilizzato per il monitoraggio termico minimamente invasivo. Non solo, ma anche la composizione del materiale con cui è fatto il loro rivestimento è ragionevolmente inutilizzabile per questo trattamento termico. La plastica, infatti, è un materiale termolabile che non può essere utilizzato in ambienti a temperatura elevata come quelli che si verrebbero a creare durante il trattamento. Il metallo, invece, è caratterizzato da una conducibilità termica nettamente maggiore rispetto a qualunque tessuto biologico, e questo porterebbe a falsare la temperatura.

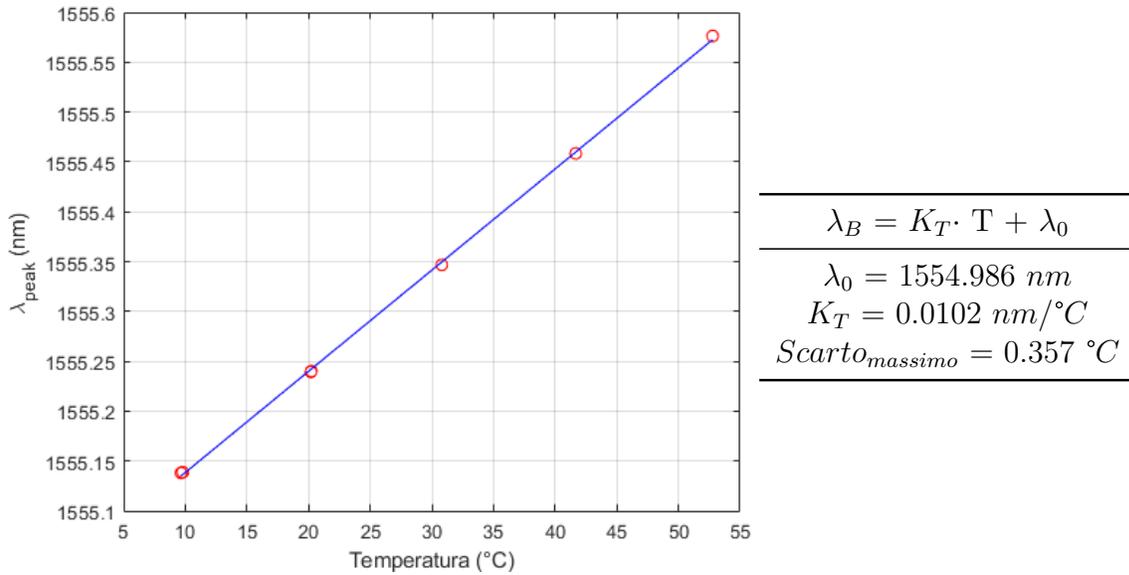


Figura 8.18: Retta di caratterizzazione del reticolo incapsulato nella protezione plastica

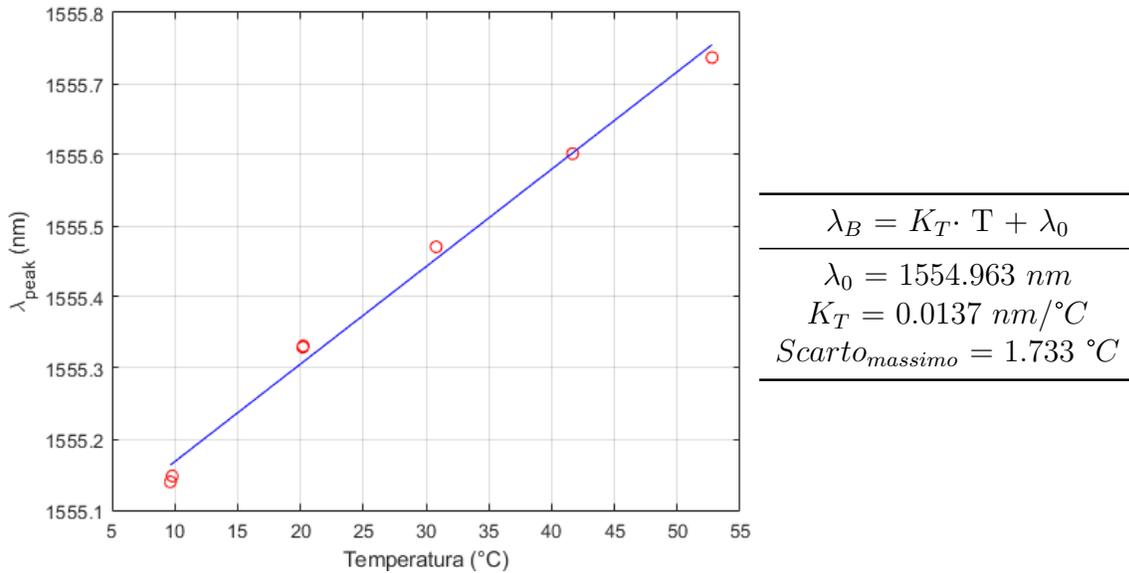


Figura 8.19: Retta di caratterizzazione del incapsulato nella protezione metallica

8.2 Utilizzo dei sensori senza capillari di vetro

Durante tutte le prove di caratterizzazione precedentemente descritte, tutti i reticoli di Bragg sono stati protetti da appositi involucri che li isolassero da deformazioni meccaniche, impedendo così la variazione del picco riflesso a causa dello strain. Assunte tali equazioni come corrette, la prova successiva è stata quella di valutare quanto le misure di temperatura potessero peggiorare qualora i sensori non siano protetti da capillari in vetro. Questa prova risulta particolarmente utile per valutare l'applicabilità di tali reticoli come sensori di temperatura in fantocci a base di agar per simulazioni di trattamenti termici in opportuni distretti corporei. Infatti l'utilizzo di un capillare in vetro, o in qualsiasi altro materiale, facilita le misurazioni escludendo lo strain, ma può risultare più ingombrante rispetto alla sola fibra e quindi più invasivo e soprattutto non sempre facilita l'inserimento del reticolo all'interno del tessuto da monitorare. Questo vale soprattutto per quelli in vetro che risultano essere molto fragili e delicati, e per questo l'inserimento deve essere fatto con molta attenzione. Inoltre, non bisogna dimenticare che per la realizzazione della protezione della fibra, occorre trovare un materiale caratterizzato da una conducibilità termica simile a quella del mezzo in cui viene inserito, altrimenti si rischia di introdurre errori misuristici.

Per poter quindi valutare l'applicabilità dei reticoli senza protezioni in condizioni controllate, si effettuano delle misurazioni di temperatura in camera climatica posizionando i reticoli all'interno di un fantoccio a base di agar. Attraverso il monitoraggio del loro picco di riflessione e utilizzando le rette di caratterizzazione precedentemente ricavate, si ricava la temperatura da essi misurata e la si confronta con quella di riferimento monitorata dal Pt_{100} .

8.2.1 Setup di misura

Per svolgere tali prove, si è utilizzata la seguente strumentazione:

- *Sensore di temperatura di riferimento Pt_{100}* : termoelemento campione certificato ACCREDIA
- *Multimetro HP Agilent 34401A* : utilizzato per il monitoraggio della resistenza del sensore Pt_{100} a quattro terminali. Lo strumento viene comandato in remoto attraverso un codice LabVIEW
- *Reticoli di Bragg* precedentemente caratterizzati : dei quattro reticoli caratterizzati, solamente tre possono essere utilizzati per tale esperienza dal momento che il reticolo uniforme (CH 1 del MicronOptics) è stato resinato al capillare di vetro per applicazioni che non interessano questo progetto, ma per questo motivo non può essere qui adoperato. Si utilizzano quindi:
 - Reticolo uniforme *A1* (CH1 del MicronOptics)
 - Array di tre reticoli *PS* (CH 2 del MicronOptics)
 - Reticolo uniforme *2* (CH 3 del MicronOptics)

- *Micron Optics si155* : interrogatore ottico per il monitoraggio del picco di riflessione dei reticoli di Bragg
- *Fantoccio a base di agar* (5% in peso)
- *Camera climatica Vötsch VC 4018* : permette di ricreare ambienti a temperatura e umidità controllata

Per prima cosa si è preparato un fantoccio a base di Agar, ovvero un polimero colloidale che svolge la funzione di gelificante e solidifica una soluzione acquosa. Analogamente ai passaggi seguiti per la preparazione dei fantocci analizzati otticamente, viene portato ad ebollizione un volume di acqua pari al volume del fantoccio che si vuole realizzare, raggiunti i 100°C si aggiunge una quantità di polvere di agar arbitraria, in questo caso pari al 5% del peso totale del fantoccio. Dopodiché questa soluzione viene colata per metà, all'interno di un contenitore, in questo caso un recipiente rettangolare realizzato con la stampante 3D, che sul lato minore mostra tre fori che permettono appunto di inserire e di sostenere le fibre dei reticoli. Successivamente due reticoli, in particolare il reticolo uniforme *A1* (CH1 del MicronOptics) e l'Array di tre reticoli *PS* (CH 2 del MicronOptics) vengono manualmente inseriti nel contenitore e appoggiati sulla superficie della soluzione acquosa e in seguito vengono coperti dalla seconda metà del composto a base agar e il tutto viene lasciato raffreddare e quindi indurire. Una volta solidificato, si inserisce il terzo reticolo, reticolo uniforme *2* (CH 3 del MicronOptics), attraverso l'utilizzo di un ago guida (Fig. 8.20). Per farlo la fibra viene innanzitutto inserita nell'ago, naturalmente di calibro maggiore rispetto al suo diametro, il quale viene poi utilizzato per forare il fantoccio di agar e in secondo momento viene poi retratto in modo da lasciare la fibra all'interno del mezzo oramai indurito (Fig. 8.21). In questo modo si valuta se una delle due modalità di inserimento può nuocere o incidere negativamente sulla misurazione di temperatura.

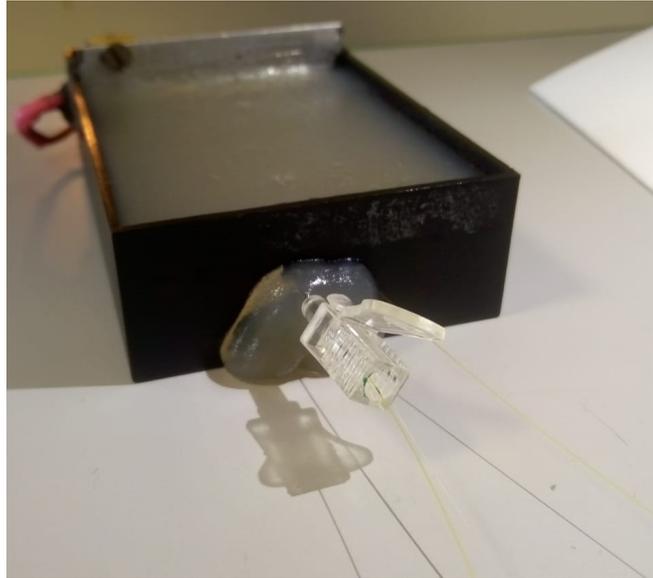


Figura 8.20: Reticoli di Bragg inseriti nel fantoccio a base di agar senza il capillare di vetro. In figura si notano le due fibre inserite durante la colatura della soluzione gelificante e quello inserito dopo l'indurimento del fantoccio per mezzo di un ago guida, ancora presente nella fotografia

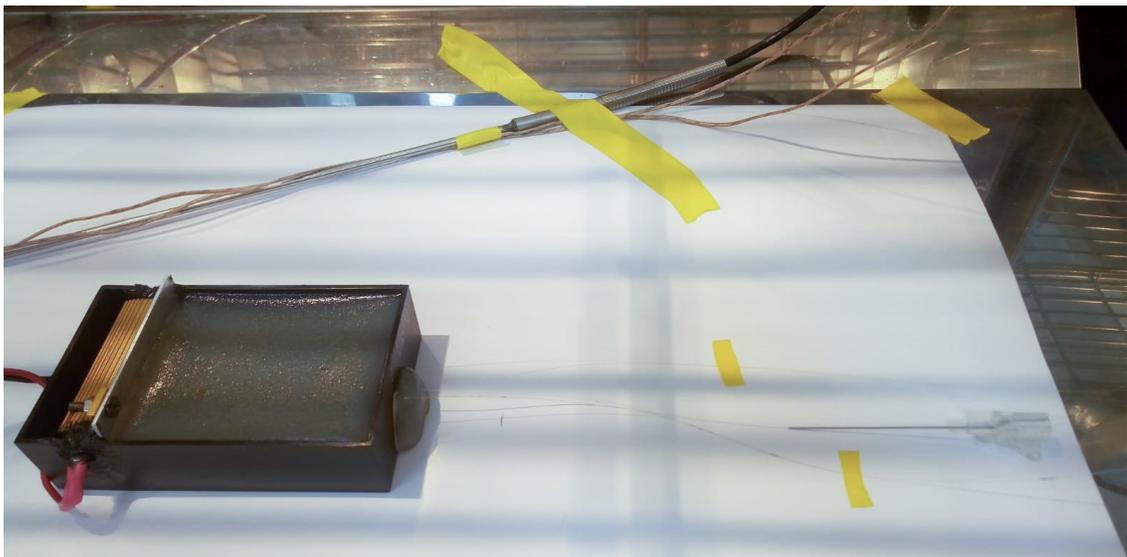


Figura 8.21: Reticoli di Bragg inseriti nel fantoccio a base di agar e il sensore Pt_{100} all'interno della camera climatica. I reticoli sono posizionati nel mezzo a base di agar senza il capillare di vetro. In figura si nota l'ago guida represso dopo l'inserimento di uno dei tre reticoli di Bragg

8.2. Utilizzo dei sensori senza capillari di vetro

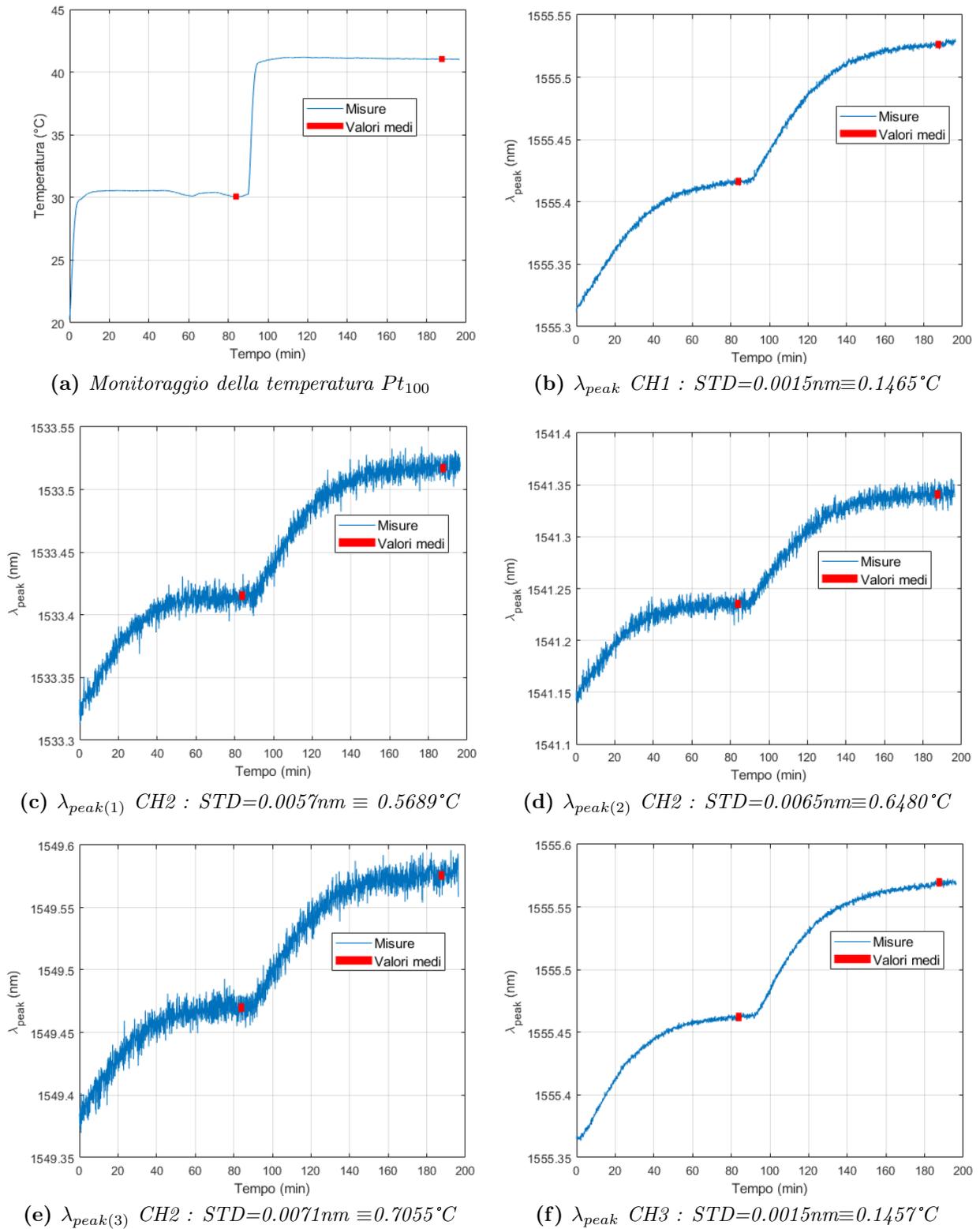


Figura 8.22: Monitoraggio della temperatura e dei picchi di riflessione dei reticoli all'interno del fantoccio a base di agar in due step termici (30 °C e 40 °C), evidenziando in rosso il valor medio calcolato negli intervallo di stabilità.

Acquisizione dati

Esattamente come fatto per la caratterizzazione, durante le prove in camera climatica i valori di resistenza del Pt_{100} e i picchi detettati dei reticoli vengono monitorati e acquisiti rispettivamente con il Multimetro HP Agilent 34401a e il MicronOptics si155. L'acquisizione e il salvataggio dei dati avviene in modo contemporaneo e con una frequenza di campionamento pari a 0.2 Hz e i dati vengono poi elaborati in Matlab. In particolare, per ogni step termico, raggiunta la stabilità si registra il valor medio della temperatura e della lunghezza d'onda riflessa da ogni reticolo, mediando trentasei campioni registrati su un lasso temporale pari a tre minuti. Nella figura 8.22 viene mostrato il monitoraggio e il calcolo della media di questi valori. Questo procedimento viene ripetuto per tutti gli step termici monitorati. A differenza della caratterizzazione il range di temperatura è limitato tra 20 °C e 40°C, dal momento che temperature estremamente calde possono decomporre il fantoccio o se troppo basse possono indurirlo inducendo fenomeni di strain e quindi falsare le misure di temperatura. In particolare gli step climatici esplorati sono stati eseguiti, nel medesimo ordine, di quelli riportati in tabella 8.3

Step termici				
[°C]	+20	+30	+40	+20

Tabella 8.3: Step termici analizzati per il test dei reticoli di Bragg inseriti nel fantoccio a base di agar senza la protezione del capillare in vetro

Risultati

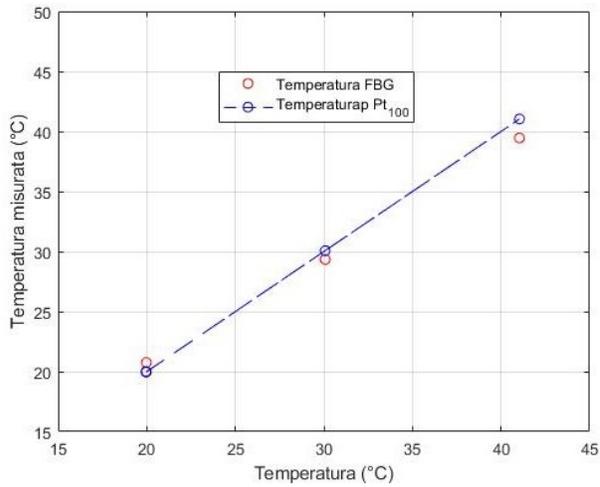
Utilizzando quindi i coefficienti di caratterizzazione precedentemente ricavati, si confronta la temperatura misurata con i reticoli posizionati in Agar senza capillare, con quella rilevata dal Pt_{100} (Fig. 8.23 e 8.24).

Considerando l'errore di misura, calcolato come la differenza tra la temperatura misurata dai reticoli e quella di riferimento del Pt_{100} , si può notare che in generale non si ha un aumento drastico dell'errore qualora i reticoli non siano protetti dal capillare in vetro. Valutando le due modalità provate per l'inserimento dei sensori nel fantoccio, si può affermare che a livello di errore, nessuna delle due presenta anomalie particolari. Questo è possibile affermarlo confrontando gli errori rilevati dalle misurazioni dell'array di reticoli (CH2) e quelli del reticolo uniforme 2 (CH3), che sono stati inseriti con due modalità differenti: l'array di reticoli è infatti stato posizionato su uno strato ancora fluido di agar e poi subito dopo ricoperto da un ulteriore strato di soluzione gelificante; invece il reticolo uniforme 2 è stato posizionato per mezzo di un ago guida che ha permesso di forare il fantoccio dopo il suo completo indurimento. Entrambi i sensori, e quindi entrambe le modalità di inserimento, presentano errori confrontabili e caratterizzati dal medesimo comportamento di isteresi, che ci fa quindi confermare la possibilità di inserire i sensori nelle due modalità ed ottenere le medesime prestazioni. Gli errori, in questi sensori, non superano quasi mai i due gradi centigradi, il che getta delle

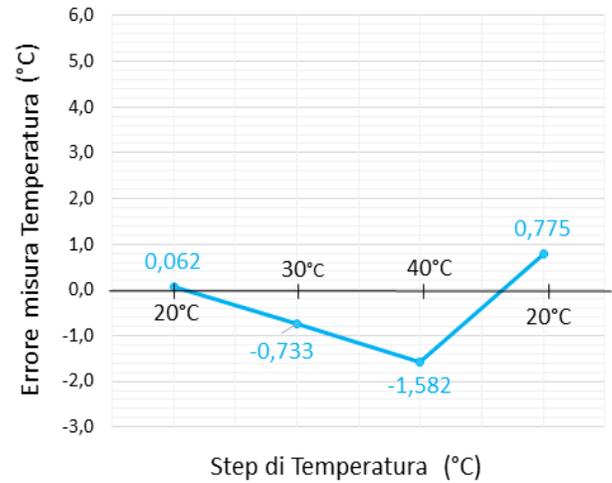
buone basi per la possibilità di utilizzarli anche senza protezioni. Naturalmente la variabilità dell'errore che si evidenzia in tutto il ciclo termico analizzato sottolinea comunque il limitato intervallo termico che è possibile indagare in queste modalità di misura. Infatti una possibile spiegazione della variazione dell'errore di misura a seconda della temperatura monitorata, è la modifica strutturale in cui incorre l'agar quando è soggetto a variazioni di temperatura sostanziali. Infatti, sebbene il range termico indagato sia già stato limitato a qualche decina di gradi per evitare la degradazione del composto, al variare della temperatura, internamente l'assetto molecolare della sostanza si modifica e questo viene percepito dai reticoli, data la loro elevata sensibilità allo strain. Particolarmente interessante è l'errore distintamente più elevato che si è riscontrato dal reticolo uniforme A1 (CH1), che evidenzia chiaramente un problema di cui è necessario tenere conto in tutte le eventuali misure effettuate in queste condizioni. Oltre al fenomeno oramai consolidato dell'isteresi, dalle misure di questo reticolo prevale nettamente la presenza di un offset che falsa le misure di 4°C, qualunque step termico si analizzi. Questo errore sistematico può essere dovuto ad un fallimento nel posizionamento del reticolo, che una volta appoggiato sullo strato fluido di agar può esservi affondato. Questo può aver quindi causato una flessione della fibra che concretizzandosi in una deformazione costante, ha introdotto un errore stazionario di misura di temperatura. Questo aspetto conferma la necessità di effettuare sempre una prima misurazione sul fantoccio con un sensore di temperatura di riferimento in modo da poter sottrarre in partenza eventuali offset dovuti al mal posizionamento dei sensori.

In conclusione si può affermare che, a seconda delle precisioni richieste dalle prove, nei fantocci a base di agar è possibile ottenere risultati abbastanza attendibili anche qualora i reticoli non siano protetti dai capillari. Certo è che, per limitare gli errori e dare un peso attendibile alle misurazioni, occorrono comunque diverse attenzioni nella predisposizione del setup. Prime tra tutte è la necessità di, all'inizio di ogni prova, verificare e rimuovere eventuali offset d'errore misurando la temperatura del fantoccio con un sensore di riferimento. La non linearità dell'errore, invece, risulta essere imprevedibile e quindi non è possibile effettuare una correzione sistematica come per gli errori indotti dal bending iniziale nel posizionamento della fibra. L'unica possibilità di limitare questo difetto è esplorare range termici non troppo elevati in modo da limitare le variazioni strutturali del fantoccio.

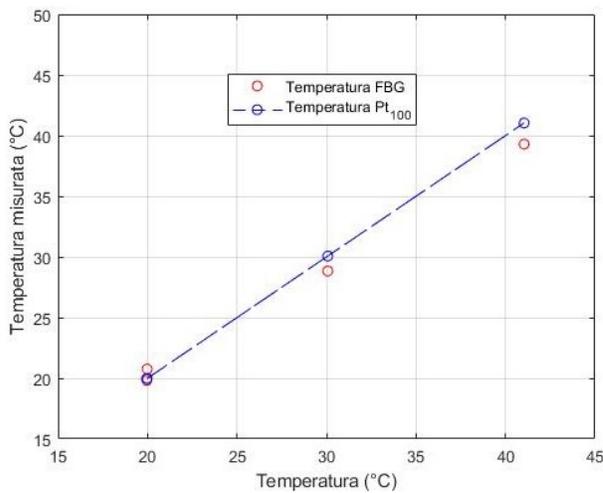
8.2. Utilizzo dei sensori senza capillari di vetro



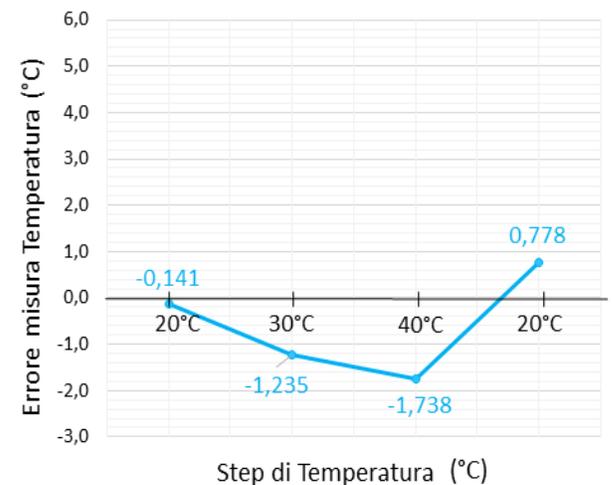
(a) Misure reticolo N.1 dell'array PS (CH2)



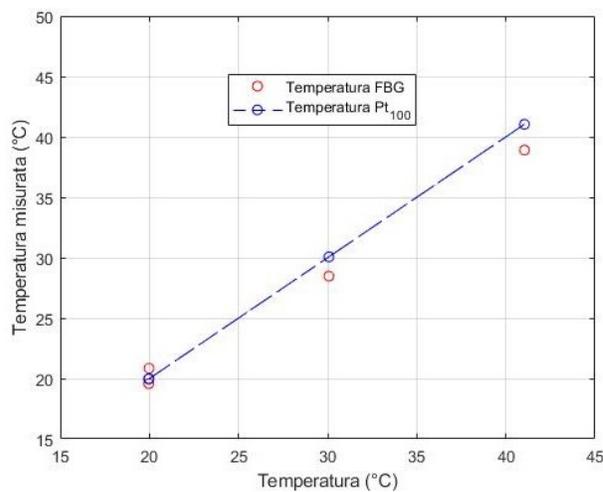
(b) Errore misure reticolo N.1 dell'array PS (CH2)



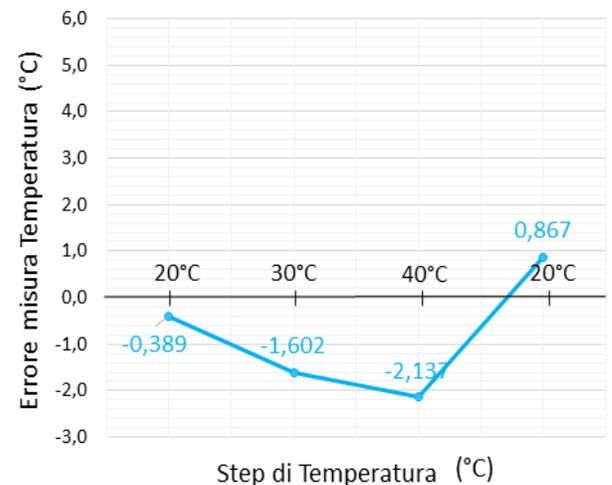
(c) Misure reticolo N.2 dell'array PS (CH2)



(d) Errore misure reticolo N.2 dell'array PS (CH2)



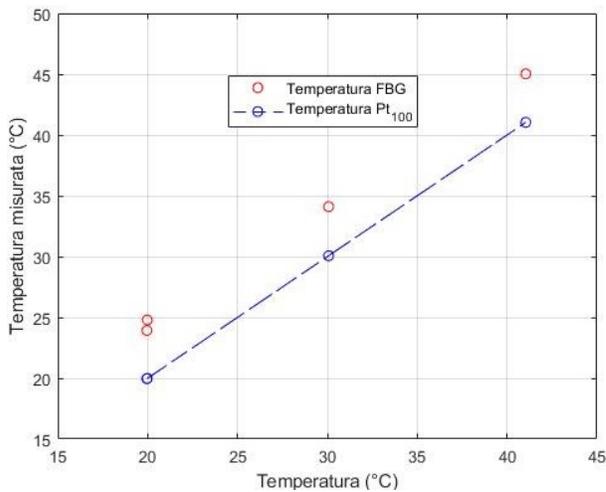
(e) Misure reticolo N.3 dell'array PS (CH2)



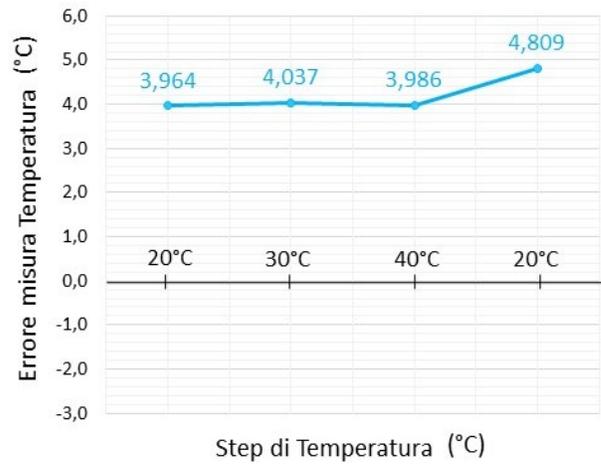
(f) Errore misure reticolo N.3 dell'array PS (CH2)

Figura 8.23: Risultati misure dell'array di reticoli di Bragg nel fantoccio a base agar. Con la linea tratteggiata si indica l'andamento reale di temperatura, con i cerchi rossi le temperatura misurata dai reticoli. L'errore di misura è pari alla differenza tra la temperatura misurata e quella di riferimento (Pt_{100})

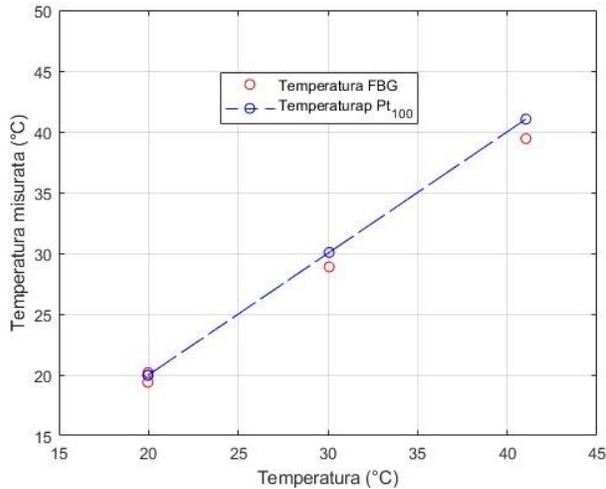
8.2. Utilizzo dei sensori senza capillari di vetro



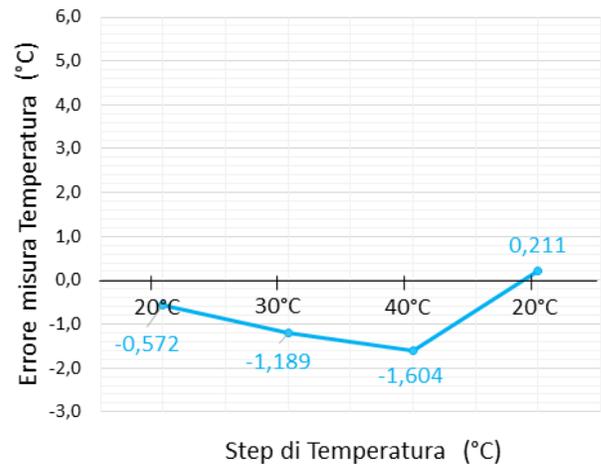
(a) Misure reticolo uniforme A1 (CH1)



(b) Errore misure reticolo uniforme A1 (CH1)



(c) Misure reticolo uniforme 2 (CH3)



(d) Errore reticolo uniforme 2 (CH3)

Figura 8.24: Risultati misure dei reticoli di Bragg nel fantoccio a base agar. Con la linea tratteggiata si indica l'andamento reale di temperatura, con i cerchi rossi le temperatura realmente misurata dai reticoli. L'errore di misura è pari alla differenza tra la temperatura misurata e quella di riferimento (Pt_{100})

Capitolo 9

Conclusioni

In questo lavoro di tesi sono stati studiati alcuni aspetti dell'ablazione laser, focalizzando l'attenzione su applicazioni percutanee per il trattamento di neoplasie epatiche. In particolare, partendo dalla misura dei parametri che caratterizzano la propagazione di un fascio ottico in un tessuto biologico, si sono sviluppati dei programmi per studiare dapprima la distribuzione dell'intensità della luce laser all'interno della massa tumorale e poi dell'evoluzione termica indotta, indice dell'efficacia del trattamento. Infine, si sono caratterizzati alcuni reticoli di Bragg come sensori di temperatura e se ne è valutato l'errore di misura qualora non vengano protetti dalle deformazioni meccaniche durante le misure in fantocci a base di agar.

La realizzazione del banco di misura per caratterizzare otticamente i tessuti biologici ha permesso di misurare sperimentalmente i parametri che definiscono la propagazione della luce all'interno del tessuto, trovando dei risultati che sono in linea con quelli riportati in letteratura. La caratterizzazione dei fantocci realizzati ad-hoc in laboratorio è risultata particolarmente utile a effettuare misure in condizioni più controllate, ovviando a tutte le difficoltà necessarie a reperire e trattare campioni biologici ex-vivo. Uno dei vantaggi di questo approccio è la possibilità di simulare qualunque tipo di tessuto biologico, combinando opportunamente un cromoforo (inchiostro di china nel caso considerato) con un agente scatterante (soluzione intralipidica) all'interno di un gel (ottenuto con agar). Naturalmente questo tipo di misurazioni non può sostituire quelle effettuabili su campioni biologici reali, ma ha permesso di analizzare il fenomeno più nel dettaglio. Infatti l'analisi di mezzi biologici, anche se ex-vivo, cela intrinsecamente una variabilità misuristica davvero difficile da controllare e che in questo studio, come nel resto della letteratura, limita la validità generale dei risultati ottenuti. Il setup realizzato permette quindi di ricavare in modo valido i coefficienti ottici dei mezzi studiati, ma non risolve il problema della variabilità dei tessuti analizzabili e quindi della significatività dei valori ottenibili. Per tale motivo studi futuri di approfondimento potrebbero utilizzarlo per dare una maggiore valenza statistica alle misurazioni effettuando prove sui tessuti ex-vivo in diverse condizioni. Analizzando un maggior numero di campioni, distinguendo condizioni fisiologiche dalle patologiche e cercando di ridurre i tempi che intercorrono tra il prelievo del campione e la sua analisi, si potrebbe così realizzare un data-base che permetta di avvicinarsi sempre di più alle condizioni di un fegato in-vivo. Un'altra interessante applicazione del setup realizzato potrebbe essere quella di utilizzarlo per caratterizzare il tessuto epatico nelle varie

fasi di ablazione in modo da valutare sperimentalmente quanto i coefficienti ottici cambino durante il trattamento.

Il modello termo-ottico realizzato si è rivelato essere una solida base di partenza verso la realizzazione di uno strumento per la progettazione di un applicatore laser e per la pianificazione di un intervento di ablazione, ottimizzando la procedura in base alla tipologia e alla forma di tumore. Sebbene il modello realizzato non sia ancora sufficientemente accurato da poter simulare condizioni reali del trattamento effettuabile in-vivo, permette già di valutare qualitativamente l'efficacia del trattamento andando a identificare l'estensione spaziale delle zone in cui termicamente si raggiunge un livello citotossico. Tale modellazione numerica consente quindi di effettuare numerosi studi e previsioni prima di procedere a nuove misure o applicazioni reali. Sicuramente, però, per poter trarre da queste simulazioni informazioni utili a livello progettistico, sarà prima di tutto necessario approfondire e specializzare tale modello superando le semplificazioni adottate in questa prima fase di sviluppo. Infatti, qualora si voglia simulare il comportamento in-vivo, sarà necessario considerare innanzitutto l'effetto della dissipazione termica indotta dai vasi sanguigni e, per una maggiore validità dei risultati, occorrerà inoltre valutare la variazione dei coefficienti sia ottici che termici del tessuto durante il trattamento.

Infine la parte finale di questo studio si è focalizzata sull'analisi dei sensori in fibra ottica per il monitoraggio termico effettuabile durante questo tipo di trattamento, portando risultati molto promettenti. La caratterizzazione dei reticoli di Bragg ha infatti trovato sempre errori inferiori ai 2°C, del tutto accettabili in questo tipo di controllo termico e confermandone l'applicabilità durante il trattamento di ablazione laser. L'aspetto più critico rimane tuttora la modalità di protezione dalle deformazioni meccaniche durante la loro attività di misura. Di tutti i rivestimenti presentati il più promettente è il capillare di vetro, trasparente alla radiazione laser, con una conducibilità termica non troppo differente da quella del fegato e con una buona resistenza alle temperature elevate. Sulla base degli errori misurati e analizzati durante le prove termiche effettuate sul fantoccio a base di agar, l'utilizzo di questi sensori senza protezioni rigide non permette di garantire sempre misure corrette e valide. Questo perché alcuni aspetti come il corretto posizionamento dei reticoli o il riassetto molecolare del campione soggetto a variazioni termiche non sono prevedibili o standardizzabili. Inoltre, pensando all'applicabilità di questi sensori per il monitoraggio termico durante il trattamento in-vivo, è assolutamente necessario considerare di incapsularli per proteggerli dalle deformazioni meccaniche. Per questo motivo, sarebbe utile studiare e ricercare nuovi materiali o nuove metodologie per isolare meccanicamente questi sensori senza però peggiorarne le prestazioni.

In conclusione, è possibile affermare che il banco di misura realizzato, il modello di previsione implementato e le misure sensoristiche effettuate hanno permesso di valutare nella sua totalità tutti gli aspetti di questa terapia: dalla modalità con cui questa interagisce con il tessuto, l'effetto termico che ne consegue, fino al suo monitoraggio in tempo reale. In tutti questi aspetti si sono trovati risultati promettenti che potranno essere utilizzati come punti di partenza per ricerche future volte ad approfondire maggiormente questa tipologia di trattamento al fine di migliorarla e estenderne l'utilizzo.

Capitolo 10

Codici

10.1 Elaborazione dati interazione luce-materia Matlab

```
1 close all
2 clear all
3 clc
4
5 % PARAMETRI ACQUISIZIONE:
6 % - Frequenza sorgente sinusoidale
7 fsin=313; %[Hz]
8 % - N sample acquisiti DAQ
9 N_samp=10000;
10 % - Frequenza di campionamento
11 fc=10000;
12 % - Dinamica DAQ
13 dinamica_DAQ=0.2; %[V]
14
15 % Caricamento dati: Tensione e Distanze esplorate
16 i=7; %Numero della prova
17 Cstr_tab = textread(['test_IL_',num2str(i),'.lvm'], '%s', '
    delimiter', '\t');
18 Cstr_tab_d = textread(['test_IL_C_',num2str(i),'.lvm'], '%s', '
    delimiter', '\t');
19 A = char(Cstr_tab);
20 B = char(Cstr_tab_d);
21
22 % Rimozione dell'intestazione file .txt
23 A=A(45:end,:);
24 B=B(44:end,:);
25
```

```

26 % Selezione colonne dei dati e conversione da stringhe a numeri
27 temp=A(1:2:end,:);
28 temp(temp==' ','') = '.';
29 valori=A(2:2:end,:);
30 valori(valori==' ','') = '.';
31 valori_d=B(:,:);
32 tempo=str2num(temp);
33 tensione=str2num(valori);
34 distanza=str2num(valori_d);
35
36 % Suddivisione degli step spaziali per colonne
37 tensione=reshape(tensione ,N_samp ,length(tensione)/N_samp);
38
39 % Controllo saturazione DAQ - 0.2 V
40 massimi=max(tensione);
41 if sum(massimi >=0.2) > 0
42     indici_u=find(massimi==dinamica_DAQ);
43     indici_m=find(massimi > dinamica_DAQ);
44     if ~isempty(indici_u)
45         indici_uguali=sprintf('%d ', indici_u);
46         fprintf('\nATTENZIONE DAQ in SATURAZIONE:\n')
47         fprintf('Raggiungono valori UGUALE al limite le
         Acquisizioni con Indici = %s\n', indici_uguali);
48         pause
49     end
50     if ~isempty(indici_m)
51         indici_maggiori=sprintf('%d ', indici_m);
52         fprintf('\nATTENZIONE DAQ in SATURAZIONE:\n')
53         fprintf('Raggiungono valori MAGGIORE al limite le
         Acquisizioni con Indici = %s\n', indici_maggiori);
54         pause
55     end
56 end
57 %% CURVA INTENSITA'-SPESSORE
58
59 V=2*abs(fft(tensione)/size(tensione,1));
60 % Selezione della componente in frequenza della sorgente luminosa
61 Ampiezza_sorgente=(V(fsin+1,:));
62 % Normalizzazione rispetto al valore massimo
63 Ampiezza_sorgente=Ampiezza_sorgente/(max(Ampiezza_sorgente));
64
65 figure()

```

```

66 plot(distanza , abs(Ampiezza_sorgente)) , title( 'Andamento Ampiezza' ) ,
    xlabel( 'Spessore tessuto [mm]' ) , ylabel( 'Ampiezza [V]' ) , grid on
67 figure ()
68 semilogy(distanza , abs(Ampiezza_sorgente)) , title( 'Andamento
    Semilogaritmico dell ''Ampiezza' ) , xlabel( 'Spessore tessuto [mm]' )
    , ylabel( 'Ampiezza [V]' ) , grid on
69
70
71 %% Fitting Lineare
72
73 %Scelta dei punti di interpolazione
74 logaritmico=log(Ampiezza_sorgente);
75 figure ()
76 plot(distanza , logaritmico) , title( 'Andamento Semilogaritmico dell ''
    Ampiezza' ) , xlabel( 'distanza' ) , ylabel( 'Ampiezza [V]' ) , grid on
77 hold on
78 indici_r1=find(distanza >=0 & distanza <0.48);
79 indici_r2=find(distanza >1.02 & distanza <7.42);
80 plot(distanza(indici_r1) , logaritmico(indici_r1) , 'r' , 'MarkerSize'
    ,8) , hold on
81 plot(distanza(indici_r2) , logaritmico(indici_r2) , 'b' , 'MarkerSize'
    ,8) , hold on
82 title( 'Controllo punti selezionati per interpolazione' ) , legend( '
    log(dati)' , 'Punti retta 1' , 'Punti retta 2' )
83
84 %Interpolazione
85 %Retta 1
86 p1 = polyfit(distanza(indici_r1) , logaritmico(indici_r1) ,1);
87 B_retta=p1(1);
88 x_r1=linspace(distanza(indici_r1(1)) , distanza(indici_r1(end)));
89 y_r1=polyval(p1 , x_r1);
90 %Retta 2
91 p2 = polyfit(distanza(indici_r2) , logaritmico(indici_r2) ,1);
92 D_retta=p2(1);
93 x_r2=linspace(distanza(indici_r2(1)) , distanza(indici_r2(end)));
94 y_r2=polyval(p2 , x_r2);
95 figure ()
96 plot(distanza , logaritmico , 'LineWidth' ,1.5) , title( 'Andamento
    Semilogaritmico dell ''Ampiezza' ) , xlabel( 'Spessore tessuto [mm]' )
    , ylabel( 'Ampiezza [V]' ) , grid on , hold on
97 plot(x_r1 , y_r1 , 'r' , 'LineWidth' ,1) , hold on , plot(x_r2 , y_r2 , 'r' , '
    LineWidth' ,1) , legend( 'log(Dati misurati)' , 'Retta interpolata 1' ,
    'Retta interpolata 2' )

```

```

98
99 %% Fitting della curva con funzione doppio esponenziale
100
101 f2 = fit(distanza ,abs(Ampiezza_sorgente ') , 'exp2 ')
102 figure ()
103 plot(f2 ,distanza ,abs(Ampiezza_sorgente ') ) , xlabel('Spessore tessuto
      [mm] ') , ylabel('Ampiezza [V] ')
104 %Estrazione dei coefficienti
105 %      f(x) = a*exp(b*x) + c*exp(d*x)
106 %      coef(1)=a
107 %      coef(2)=b —> sigma1=-1/b
108 %      coef(3)=c
109 %      coef(4)=d —> sigma2=-1/d
110 coeff=coeffvalues(f2);
111 sigma1=-1/(coeff(2));
112 sigma1_retta=-1/(B_retta);
113 sigma2=-1/(coeff(4));
114 sigma2_retta=-1/(D_retta);
115
116 % Calcolo parametri ottici
117 g=0.7;
118 n_phantom=1.33; %circa uguale acqua
119 NA=0.39;
120 teta_accettazione=asin(NA/n_phantom);
121 %M_S
122 mu_s=(1/sigma1)/(1-exp((g-1)/(teta_accettazione*g)))
123 %M'_S
124 mu_sp=(mu_s*(1-g));
125 %M_A
126 mu_a = roots([3*sigma2^2 +3*mu_sp*sigma2^2 -1])

```

10.2 Controllo movimentazione fibra - Block Diagram LabVIEW

10.2. Controllo movimentazione fibra - Block Diagram LabVIEW

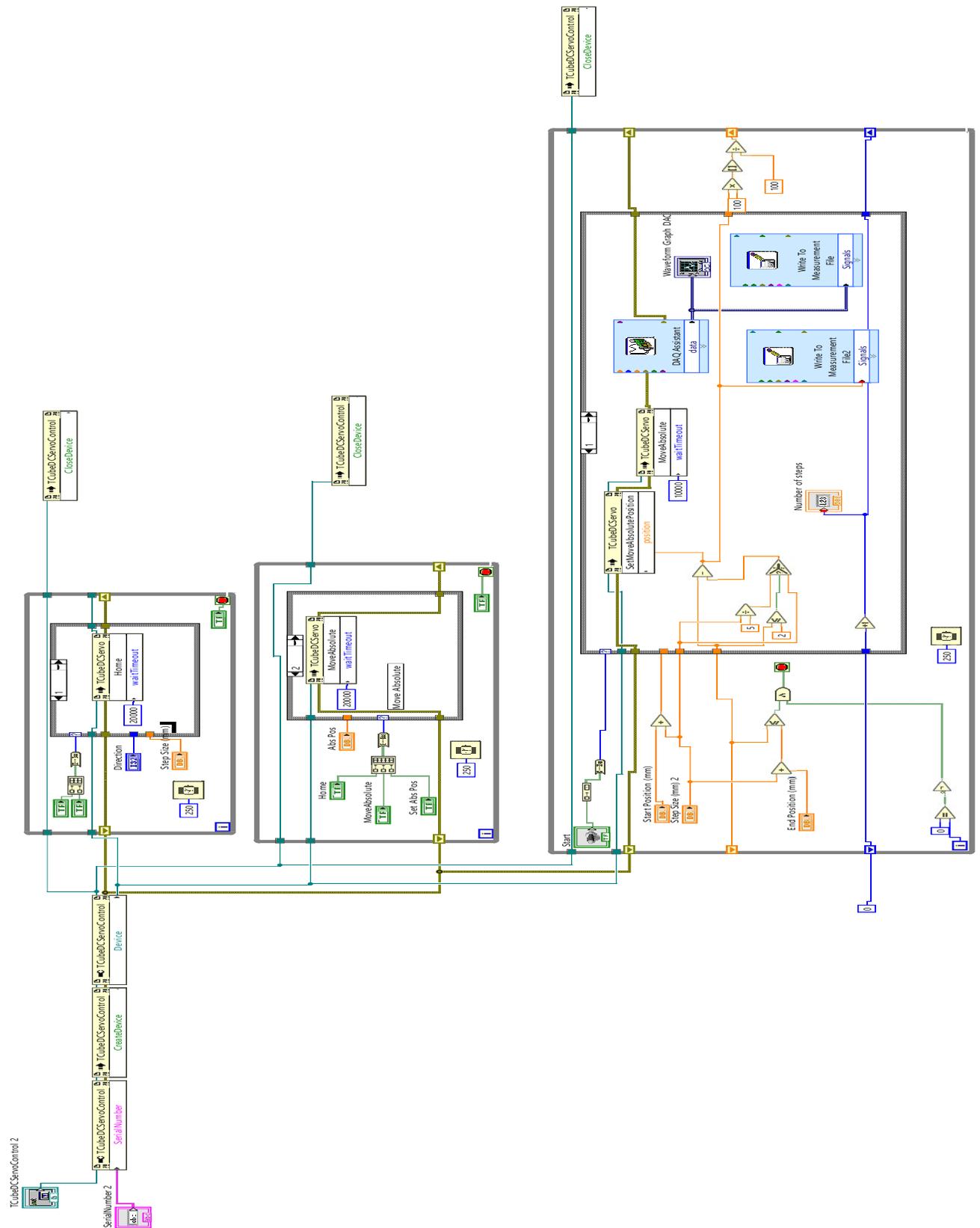


Figura 10.1: Block Diagram del programma LabVIEW utilizzato per controllare la movimentazione della fibra ottica

Elenco delle figure

1.1	Previsione mondiale dell'incidenza delle neoplasie previste per il XXI secolo	1
1.2	Raccolta statistica delle principali forme tumorali privisi per l'anno 2019	2
2.1	Schema trattamento termoablattivo	5
2.2	Schema sonda multielettrodo per termoablazione a radiofrequenza	6
3.1	Scattering e assorbimento della luce che attraversa un mezzo biologico	10
3.2	Cross-section assorbimento	10
3.3	Rayleigh e Mie	12
3.4	Cross-section Scattering	12
3.5	Fattore di anisotropia g	13
3.6	Schema generale dei setup di misura della componente di retrodiffusione	14
3.7	Schema generale dei setup di misura della componente di trasmissione	15
4.1	Misurazione intensità luminosa attraverso il campione	19
4.2	Fibra ottica e fotodiode incapsulato	19
4.3	Interfaccia grafica per il controllo della movimentazione della fibra ottica	21
4.4	Setup di misura realizzato	21
4.5	Interpolazione rettilinea per il calcolo dei parametri ottici	24
4.6	Fantoccio a base di china	27
4.7	Fantoccio a base di Intralipid [®]	28
4.8	Passaggi per la preparazione del fantoccio a base di Intralipid [®]	29
4.9	Curva intensità-spessore fantoccio a base di Intralipid [®] analizzato con luce bianca	31
4.10	Interpolazione dei dati delle misurazioni fatte sul fantoccio a base di Intralipid [®]	31
4.11	Curve medie di intensità-spessore dei fantocci a base di inchiostro di china analizzati con luce bianca	33
4.12	Curva intensità-spessore fantoccio a base di Intralipid [®] analizzato nel campo dell'infrarosso	35
4.13	Curva intensità-spessore fantoccio a base di Intralipid [®] e China analizzato nel campo dell'infrarosso	38
4.14	Interpolazione dei dati delle misurazioni fatte sul fantoccio a base di Intralipid [®] e Inchiostro di China	38
4.15	Campione di fegato bovino	42

4.16	Curva intensità-spessore del campione di fegato bovino analizzato nel campo dell'infrarosso	42
4.17	Confronto tra curva intensità-spessore del campione di fegato bovino e attenuazione libera in aria	44
4.18	Interpolazione dei dati delle misurazioni fatte sul campione di fegato bovino	44
5.1	Volume cilindrico analizzato in MCML	48
5.2	Distribuzione spaziale assorbimento luminoso nel fegato	51
5.3	Costruzione della geometria in COMSOL Multiphysics®	53
5.4	Condizioni al contorno imposte in COMSOL Multiphysics®	54
5.5	Previsione dell'evoluzione termica del trattamento ablativo del fegato	55
5.6	Schematizzazione della linea lungo la quale si studia l'evoluzione termica nel modello Comsol®	56
5.7	Previsione dell'evoluzione termica del trattamento ablativo del fegato lungo l'asse della fibra	56
5.8	Confronto tra le sorgenti termiche dovute all'assorbimento luminoso o ad un riscaldatore localizzato	60
5.9	Confronto tra le previsioni termiche : sorgente luminosa e puntiforme	61
5.10	Confronto tra l'evoluzione termica lungo l'asse della fibra : sorgente luminosa estesa e sorgente localizzata	61
7.1	Schema fibra ottica	68
7.2	Raggio riflesso e raggio rifratto all'interfaccia tra due mezzi differenti	69
7.3	Angolo di accettazione e angolo critico di una generica fibra ottica	69
7.4	Struttura di un reticolo di Bragg	71
7.5	Principio di funzionamento reticolo di Bragg	71
7.6	Tipologie di reticoli di Bragg	73
7.7	Tipologie di variazioni dell'indice di rifrazione dei reticoli di Bragg	73
7.8	Schema interrogatore a laser tunabile	75
7.9	Micron Optics si 155	76
7.10	Interfaccia ENLIGHT Sensing Analysis Software	76
7.11	Peak detection	77
8.1	Caratterizzazione di reticoli di Bragg in capillari di vetro	80
8.2	Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 1	81
8.3	Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 2	81
8.4	Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 3	82
8.5	Spettro in riflessione del reticolo di Bragg CH 4	82
8.6	Monitoraggio dei picchi di riflessione dei reticoli di Bragg caratterizzati . . .	84
8.7	Monitoraggio della temperatura Pt_{100}	85
8.8	Retta di caratterizzazione del Reticolo uniforme (CH 1 del MicronOptics) . .	86
8.9	Retta di caratterizzazione del reticolo n.1 dell'array di reticoli PS (CH 2 del MicronOptics)	86

8.10	Retta di caratterizzazione del reticolo n.2 dell'array di reticoli <i>PS</i> (CH 2 del MicronOptics)	87
8.11	Retta di caratterizzazione del reticolo n.3 dell'array di reticoli <i>PS</i> (CH 2 del MicronOptics)	87
8.12	Retta di caratterizzazione del Reticolo uniforme <i>A1</i> (CH 3 del MicronOptics)	88
8.13	Retta di caratterizzazione del Reticolo uniforme <i>2</i> (CH 4 del MicronOptics)	88
8.14	Spettro in riflessione del reticolo commerciale di Bragg incapsulato in un involucro metallico	90
8.15	Spettro in riflessione del reticolo commerciale di Bragg incapsulato in un involucro di plastica	90
8.16	Monitoraggio dei picchi di riflessione dei reticoli commerciali di Bragg caratterizzati	91
8.17	Sensori commerciali	92
8.18	Retta di caratterizzazione del reticolo incapsulato nella protezione plastica .	93
8.19	Retta di caratterizzazione del incapsulato nella protezione metallica	93
8.20	Reticoli di Bragg inseriti nel fantoccio a base di agar senza il capillare di vetro	96
8.21	Reticoli di Bragg inseriti nel fantoccio a base di agar e il sensore <i>Pt₁₀₀</i> all'interno della camera climatica	96
8.22	Monitoraggio della temperatura e dei picchi di riflessione dei reticoli all'interno del fantoccio a base di agar	97
8.23	Risultati misure dell'array di reticoli di Bragg nel fantoccio a base agar . . .	100
8.24	Risultati misure dei reticoli di Bragg nel fantoccio a base agar	101
10.1	Block Diagram LabVIEW per la movimentazione della fibra ottica	108

Elenco delle tabelle

4.1	Coefficienti σ_1 e σ_2 del fantoccio a base di Intralipid [®] analizzato con luce infrarossa	36
4.2	Coefficienti di riferimento σ_1 e σ_2 del fantoccio a base di Intralipid [®]	36
4.3	Coefficienti σ_1 e σ_2 del fantoccio a base di Intralipid [®] e China analizzato con luce infrarossa	39
4.4	Coefficienti di riferimento σ_1 e σ_2 del fantoccio a base di Intralipid [®]	39
4.5	Coefficienti μ_a e μ_s del fantoccio a base di Intralipid [®] e China analizzato con luce infrarossa	40
4.6	Parametri ottici μ_a e μ_s di riferimento del fantoccio a base di Intralipid [®]	40
4.7	Coefficienti σ_1 , σ_2 , μ_a e μ_s del campione di fegato bovino	45
4.8	Confronto parametri ottici fegato	45
8.1	Step termici analizzati per la caratterizzazione dei reticoli di Bragg	83
8.2	Step termici analizzati per la caratterizzazione dei reticoli di Bragg commerciali	89
8.3	Step termici analizzati per il test dei reticoli di Bragg inseriti nel fantoccio a base di agar senza la protezione del capillare in vetro	98

Bibliografia

- [1] Freddie Bray et al. «Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries». In: *CA: a cancer journal for clinicians* 68.6 (2018), pp. 394–424.
- [2] Rebecca L Siegel, Kimberly D Miller e Ahmedin Jemal. «Cancer statistics, 2019». In: *CA: a cancer journal for clinicians* 69.1 (2019), pp. 7–34.
- [3] Chris Brace. «Thermal tumor ablation in clinical use». In: *IEEE pulse* 2.5 (2011), pp. 28–38.
- [4] Emiliano Schena et al. «Fiber optic sensors for temperature monitoring during thermal treatments: an overview». In: *Sensors* 16.7 (2016), p. 1144.
- [5] Katrina F Chu e Damian E Dupuy. «Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy». In: *Nature Reviews Cancer* 14.3 (2014), p. 199.
- [6] Il'ya Viktorovich Turchin. «Methods of biomedical optical imaging: from subcellular structures to tissues and organs». In: *Physics-Uspexhi* 59.5 (2016), p. 487.
- [7] Sergio Fantini et al. «Assessment of the size, position, and optical properties of breast tumors in vivo by noninvasive optical methods». In: *Applied optics* 37.10 (1998), pp. 1982–1989.
- [8] D Hawkins, N Houreld e H Abrahamse. «Low level laser therapy (LLLT) as an effective therapeutic modality for delayed wound healing». In: *Annals of the New York Academy of Sciences* 1056.1 (2005), pp. 486–493.
- [9] Steven L Jacques. «Optical properties of biological tissues: a review». In: *Physics in Medicine & Biology* 58.11 (2013), R37.
- [10] G Jagajothi e Singaravelu Raghavan. «Estimation and measurement of biological tissues using optical simulation method». In: *Optical Interactions with Tissue and Cells XX*. Vol. 7175. International Society for Optics e Photonics. 2009, p. 717503.
- [11] Alwin Kienle et al. «Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue». In: *Applied optics* 35.13 (1996), pp. 2304–2314.
- [12] Masatsugu Niwayama et al. «Noncontact measurement of deep tissue absorption coefficient using Spatially Resolved Near-Infrared Spectroscopy». In: *IEEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering* 2.4 (2007), pp. 485–487.

-
- [13] A Danilov et al. «Simultaneous Determination of Extinction and Scattering Coefficients of Highly Dispersive Biological Medium Using Continuous Laser Emission». In: *Biomedical Engineering* 44 (ott. 2010), pp. 104–107. DOI: 10.1007/s10527-010-9162-0.
- [14] Anthony J Costantino et al. «Determining the light scattering and absorption parameters from forward-directed flux measurements in cardiac tissue». In: *Journal of biomedical optics* 22.7 (2017), p. 076009.
- [15] Jean-Yves Le Pommellec et al. «Assessment of the effective attenuation coefficient of scattering media illuminated by a LED array: Effect of the beam size». In: *European Conference on Biomedical Optics*. Optical Society of America. 2015, p. 954213.
- [16] Frank P Bolin et al. «Refractive index of some mammalian tissues using a fiber optic cladding method». In: *Applied optics* 28.12 (1989), pp. 2297–2303.
- [17] Puxiang Lai, Xiao Xu e Lihong V Wang. «Dependence of optical scattering from Intralipid in gelatin-gel based tissue-mimicking phantoms on mixing temperature and time». In: *Journal of biomedical optics* 19.3 (2014), p. 035002.
- [18] Chulhong Kim et al. «Optical phantoms for ultrasound-modulated optical tomography». In: *Design and Performance Validation of Phantoms Used in Conjunction with Optical Measurements of Tissue*. Vol. 6870. International Society for Optics e Photonics. 2008, p. 68700M.
- [19] Georges Wagnières et al. «An optical phantom with tissue-like properties in the visible for use in PDT and fluorescence spectroscopy». In: *Physics in Medicine & Biology* 42.7 (1997), p. 1415.
- [20] Hugo J Van Staveren et al. «Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm». In: *Applied optics* 30.31 (1991), pp. 4507–4514.
- [21] Joerg-P Ritz et al. «Optical properties of native and coagulated porcine liver tissue between 400 and 2400 nm». In: *Lasers in Surgery and Medicine: The Official Journal of the American Society for Laser Medicine and Surgery* 29.3 (2001), pp. 205–212.
- [22] Parwane Parsa, Steven L Jacques e Norman S Nishioka. «Optical properties of rat liver between 350 and 2200 nm». In: *Applied optics* 28.12 (1989), pp. 2325–2330.
- [23] A Bhattacharya e RL Mahajan. «Temperature dependence of thermal conductivity of biological tissues». In: *Physiological measurement* 24.3 (2003), p. 769.
- [24] Dieter Haemmerich et al. «In vitro measurements of temperature-dependent specific heat of liver tissue». In: *Medical engineering & physics* 28.2 (2006), pp. 194–197.
- [25] SM Niehues et al. «Liver volume measurement: reason of the difference between in vivo CT-volumetry and intraoperative ex vivo determination and how to cope it». In: *European journal of medical research* 15.8 (2010), p. 345.
- [26] R Correia et al. «Biomedical application of optical fibre sensors». In: *Journal of Optics* 20.7 (2018), p. 073003.

- [27] Marcelo M Werneck et al. «A guide to fiber Bragg grating sensors». In: *Current Trends in Short-and Long-Period Fibre Gratings; InTech: Rijeka, Croatia* (2013), pp. 1–24.
- [28] Ingemar Petermann. *Fibre Bragg gratings: Realization, characterization and simulation*. Vol. 68. 04. 2007.
- [29] Xia Fang, CR Liao e DN Wang. «Femtosecond laser fabricated fiber Bragg grating in microfiber for refractive index sensing». In: *Optics letters* 35.7 (2010), pp. 1007–1009.