

UNO SGUARDO ALL'INTERNO DEL CORPO UMANO: LA SPETTROSCOPIA OTTICA TEMPO RISOLTA PER LA DIAGNOSTICA CLINICA NON-INVASIVA

ANTONIO PIFFERI (*)

Nota presentata dal m.e. Sandro de Silvestri
(Adunanza del 4 febbraio 2021)

SUNTO. – L'ottica diffusa studia la propagazione della luce in mezzi fortemente diffondenti (es. tessuti biologici). Le tecniche tempo-risolte, che misurano la distribuzione di tempi di volo dei fotoni nel mezzo, consentono di separare il contributo dell'assorbimento (legato alla composizione chimica) dallo scattering (prodotto dalla microstruttura). Inoltre, all'aumentare del tempo di volo del fotone è possibile indagare il tessuto a profondità crescenti. Queste due proprietà, unite all'intrinseca non-invasività della tecnica, sono molto interessanti per applicazioni cliniche, quali la diagnosi del tumore al seno, la visualizzazione dell'attività cerebrale, l'analisi funzionale e metabolica dei tessuti biologici in profondità. La tecnologia ha subito uno sviluppo impressionante, passando da sistemi laser di laboratorio a dispositivi miniaturizzati indossabili. Per garantire l'affidabilità delle informazioni ricavate *in vivo* è necessaria la collaborazione internazionale per stabilire protocolli obiettivi di validazione, in vista di una sempre maggiore diffusione della metodica, dalla clinica all'uso domestico.

ABSTRACT. – Diffuse optics studies the propagation of light in highly scattering media (*e.g.* biological tissues). Time-resolved techniques – which measure the time-of-flight distribution of photons in the medium – permit to separate the contribution of absorption (linked to chemical composition) from scattering (produced by microstructure). Furthermore, for increasing photon time-of-flight, larger tissue depths are reached. These two properties, combined with the intrinsic non-invasiveness of the technique, are very interesting for clinical applications, such as diagnosis of breast cancer, imaging of brain activity, mon-

(*) Dipartimento di Fisica, Politecnico di Milano, Italy.
E-mail: antonio.pifferi@polimi.it

itoring the functional and metabolic state of biological tissues in depth. The technology has undergone impressive growth, moving from laboratory laser systems to miniature wearable devices. To grant the reliability of the information obtained *in vivo*, international collaboration is needed to set objective validation protocols, in view of a growing diffusion of the method, from clinical diagnostics to home care.

1. INTRODUZIONE

L'ottica diffusiva (Diffuse Optics – DO) è una branca della fisica che studia la propagazione della luce in mezzi fortemente diffondenti, quali ad esempio i tessuti biologici nella regione spettrale del visibile e del vicino infrarosso [1]. Questi materiali sono caratterizzati da un coefficiente di diffusione (scattering) molto maggiore rispetto al coefficiente di assorbimento, con la conseguenza che i fotoni si propagano nel materiale seguendo un percorso irregolare. L'ottica diffusiva è particolarmente interessante in ambito di diagnostica clinica in quanto tecnica totalmente non-invasiva che consente di ottenere informazioni relative alla composizione chimica (spettri di assorbimento) e alla microstruttura (spettri di scattering) a profondità di alcuni cm all'interno del corpo umano.

Esistono diverse metodiche per lo studio dell'ottica diffusiva in materiali biologici. In generale, viene iniettata della radiazione luminosa (quasi sempre prodotta da laser) in uno o più punti del mezzo, e vengono raccolti i fotoni che riemergono sulla superficie in uno o più punti ad una certa distanza dal punto di iniezione (distanza sorgente-rivelatore). La distribuzione dei fotoni riemessi può essere studiata in funzione della distanza sorgente rivelatore – Spatial Domain (SD) [2] – della frequenza di modulazione dell'intensità della sorgente laser – Frequency Domain (FD) [3] – del tempo di volo del fotone nel mezzo – Time Domain (TD) [4]. In questa Nota verrà analizzata esclusivamente la tecnica TD, che offre la migliore informazione sul mezzo (§ 2) a fronte di una maggiore complessità strumentale (es. sistemi laser impulsati, rivelazione al singolo fotone e risoluzione temporale alle decine di ps).

Nel seguito, verrà prima discussa la Fisica dell'ottica diffusa (§ 2), poi verranno mostrati alcuni esempi di applicazioni in ambito biomedicale (§ 3), in seguito sarà presentata l'evoluzione della tecnologia utilizzata per le misure e le prospettive di sviluppo (§ 4). Completeranno la Nota una discussione delle problematiche di standardizzazione a livello internazionale (§ 5) e le conclusioni finali (§ 6).

2. FISICA DELL'OTTICA DIFFUSA

I coefficienti di assorbimento (μ_a) e di scattering (μ'_s) in un mezzo fortemente diffondente possono essere interpretati, rispettivamente, come l'inverso del libero cammino medio tra due eventi di assorbimento o di scattering elastico. La descrizione della propagazione del fotone si basa sull'Equazione del Trasporto Radiativo (RTE), comune a diversi fenomeni di trasporto di particelle (*e.g.* astrofisica, ottica dell'atmosfera, fisica del reattore nucleare) [5], [6]. La RTE esprime un bilancio energetico in un piccolo elemento di volume dV riferito ad un numero n di fotoni per unità di volume che si propaga in un mezzo diffondente lungo la direzione Ω :

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -v\Omega \cdot \nabla n - v\mu_a n - v\mu_s n + v\mu_s \int_{4\pi} p(\Omega' \cdot \Omega) n d\Omega' + s \quad (1)$$

Il primo termine a destra dell'uguale rappresenta la variazione spaziale di densità di fotoni lungo la direzione Ω in uscita dal volumetto; il secondo e terzo termine la perdita di fotoni per effetto di assorbimento o scattering verso un'altra direzione; il quarto termine è il contributo dei fotoni che entrano in dV con direzione finale di propagazione Ω provenendo da una direzione diversa Ω' con probabilità di deviazione $p(\Omega' \cdot \Omega)$; s è un termine di sorgente (ad esempio fotoni iniettati in dV da una fibra ottica).

Sotto opportune ipotesi (ad esempio $\mu_a \ll \mu_s$, elevato numero di interazioni di scattering per perdere memoria della direzione di incidenza) è possibile ricavare l'Equazione della Diffusione [4], [7], [8] che congloba l'informazione sulla distribuzione degli angoli di scattering $p(\Omega' \cdot \Omega)$ nel coefficiente di scattering ridotto $\mu'_s = \mu_s (1 - g)$, ove g è il coseno medio degli angoli di scattering. Sotto queste condizioni, è possibile ricavare l'espressione della distribuzione di probabilità (Riflettanza) dei tempi di riemissione di un fotone sulla superficie di un mezzo omogeneo semi-infinito ad una distanza ρ dal punto di iniezione:

$$R(r, t) \propto \psi_B(\mu'_s, t) t^{-5/2} \exp\left(-\frac{3\rho^2 \mu'_s}{4vt}\right) \exp(-\mu_a vt) \quad (2)$$

dove t è il tempo di propagazione del fotone, v la velocità della luce nel mezzo e $\psi_B(\mu'_s, t)$ un termine che dipende dalle condizioni al contorno del mezzo in esame.

Due sono le proprietà più rilevanti della tecnica TD rispetto ad altre metodiche in uso nella DO [9]. La prima si evince direttamente dall'Eq. 2, ossia la possibilità di separare μ_a da μ_s' in base al differente effetto sulla propagazione temporale del fotone. Con riferimento alla Fig. 1, mentre lo scattering aumenta la larghezza e ritardo della curva di riflettanza risolta in tempo (destra), l'assorbimento ne influenza la pendenza asintotica (sinistra). Questa proprietà è stata mostrata nel caso omogeneo, ma anche in geometrie eterogenee, tipiche dei tessuti biologici, il differente effetto dei due parametri ottici sul tempo di volo del fotone consente di separare i due coefficienti, che sono legati, rispettivamente, alla composizione del tessuto (assorbimento) ed alla microstruttura (scattering).

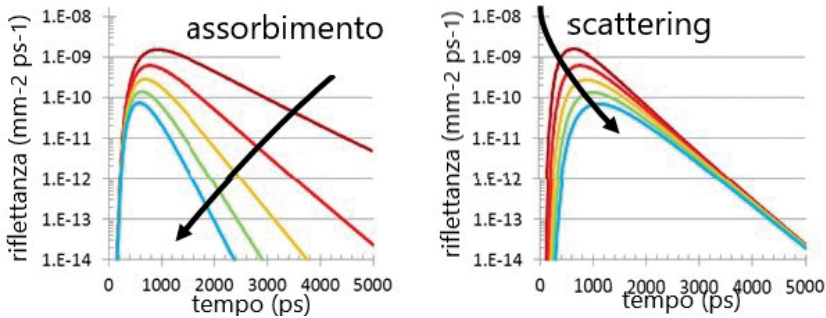


Fig. 1. Distribuzione di probabilità dei tempi di volo dei fotoni riemessi alla superficie di un mezzo diffusivo ad una certa distanza dal punto di iniezione. L'assorbimento influenza prevalentemente la coda esponenziale della distribuzione, mentre lo scattering ritarda la posizione temporale del picco.

La seconda proprietà è la capacità della misura TD-DO di individuare regioni diverse, esplorate dal fotone lungo il cammino in funzione del tempo di volo complessivo. Fotoni con un tempo di volo elevato (*late*) hanno esplorato mediamente più in profondità il tessuto rispetto ai fotoni rilevati a tempi brevi (*early*). E' possibile ipotizzare una sorta di "ecografia ottica", dove il tempo di volo del fotone codifica la profondità massima raggiunta.

3. APPLICAZIONI IN BIOMEDICINA

La grande attrattiva dell'ottica diffusa nella diagnostica clinica risiede nell'intrinseca non-invasività della luce a bassa potenza e nella

capacità di estrarre informazioni composizionali e funzionali in profondità dal tessuto biologico. Le classiche tecniche non invasive di diagnostica medica sono basate in genere su informazioni morfologiche (esempio raggi X, ultrasuoni, risonanza magnetica). Più difficile, invece, risalire ad informazioni metaboliche, funzionali o sulla composizione chimica. Nel seguito verranno analizzati tre casi paradigmatici per comprendere vantaggi e limitazioni delle tecniche ottiche.

3.1 *Diagnostica e prevenzione del tumore al seno*

Il tumore al seno è la tipologia di cancro più comune nelle donne e la seconda causa di morte dopo le malattie cardiovascolari in diversi paesi [10]. L'incidenza del tumore al seno in Europa è di circa 1 donna su 8. D'altra parte, il cancro alla mammella è tra i tipi di tumore che maggiormente possono beneficiare di diagnosi precoce e terapia. Un tumore maligno rivelato in fase precoce (nodulo <2 cm e senza coinvolgimento dei linfonodi) porta ad una quasi completa guarigione (remissione della patologia a 5 anni del 90-95%) [11]. La combinazione di tecniche chirurgiche focalizzate e di un ampio spettro di terapie personalizzate consente di aggredire il tumore in maniera molto efficace, con grande vantaggio anche per la qualità di vita della paziente.

Un primo ambito di possibile utilizzo dell'ottica diffusa riguarda la diagnosi di lesioni maligne alla mammella e la loro discriminazione rispetto a innocue lesioni benigne [12]. *Fig. 2* mostra le immagini di una mammella compressa, ottenute con l'ottica diffusa in geometria di trasmittanza a varie lunghezze d'onda, confrontate con la corrispondente immagine di mammografia X (nei riquadri in alto a sinistra). La tecnica ottica consente di stimare la composizione della lesione sospetta in termini di contenuto di emoglobina ossigenata (HbO_2) e deossigenata (Hb), acqua, lipidi e collagene. Queste informazioni sono mancanti nelle tecniche diagnostiche di primo livello (mammografia X, ultrasuoni) e possono consentire di differenziare una lesione maligna da una lesione benigna, sulla base, ad esempio, del maggior contenuto di sangue e di collagene. Per contro, la risoluzione spaziale è molto limitata (nell'ordine di mezzo cm) per effetto della diffusione della luce, e quindi la metodica ottica deve essere necessariamente affiancata ad altre tecniche classiche morfologiche per l'individuazione della lesione sospetta.

Una seconda prospettiva attraente è l'utilizzo della DO per l'individuazione di coorti di popolazione a rischio di sviluppare il tumore alla

mammella. Grazie all'enorme tasso di successo del trattamento in fase precoce, l'identificazione delle donne a maggior rischio consente di mantenerle sotto controllo con tecniche d'elezione e di intervenire tempestivamente ai primi segnali. Chiaramente queste procedure non sono sostenibili per l'intera popolazione. Studi clinici su centinaia di pazienti in collaborazione tra il Politecnico di Milano e l'Istituto Europeo di Oncologia hanno evidenziato una forte correlazione tra una opportuna combinazione di parametri ottici e la densità mammografica [13], che è un indice noto di rischio di tumore al seno (con un aumento dell'incidenza di 4-6 volte nel seno denso [14], [15]). Ancora più interessante l'osservazione, in uno studio clinico retrospettivo effettuato con le tecniche ottiche tempo risolte, che nelle mammelle con contenuto di collagene particolarmente elevato si riscontra una percentuale più elevata di lesioni maligne [16]. Se confermato su studi più estesi, questo risultato potrebbe portare ad una migliore individuazione delle classi di donne a rischio con una diagnosi personalizzata più efficace.

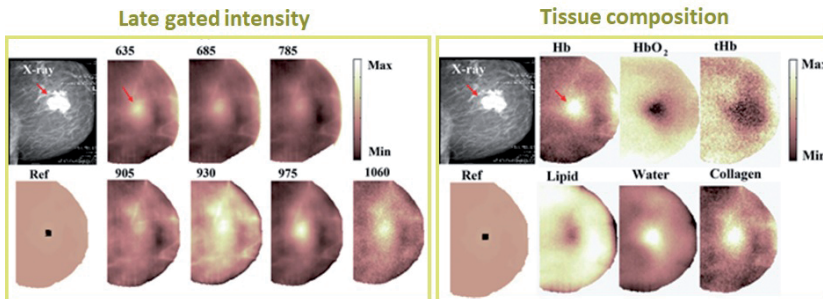


Fig. 2. Mammografie ottiche da cui si evidenzia la presenza di una lesione tumorale. L'attenuazione del segnale ad un elevato tempo di volo (pannello di sinistra - Late gated intensity) è correlato al coefficiente di assorbimento a diverse lunghezze d'onda. Dal coefficiente di assorbimento è possibile ricavare l'immagine della composizione dei principali assorbitori tissutali (emoglobina ossigenata e deossigenata, lipidi, acqua, collagene) da cui è possibile indagare la natura della lesione (pannello di destra - Tissue composition). In entrambi i pannelli è riportato, per riferimento, la corrispondente immagine mammografica a raggi X (riquadro in alto a sinistra).

Un terzo ambito di utilizzo della DO è il monitoraggio della terapia neoadiuvante del tumore alla mammella. Per migliorare l'efficacia terapeutica, le pazienti in attesa di intervento di mastectomia possono essere sottoposte a cicli di chemioterapia che hanno dimostrato portare a vantaggi in termini di riduzione delle recidive e limitazione dell'inter-

vento chirurgico. Non tutte le pazienti, però, rispondono positivamente, ed in alcuni casi il trattamento, oltre al disagio per la paziente, rende più difficoltoso il lavoro del chirurgo. Da studi iniziali è stato verificato che la DO consente di predire l'efficacia della terapia neoadiuvante, anche subito dopo le prime sedute di chemioterapia [17], [18]. Questo consentirebbe di pianificare meglio il trattamento, limitandolo ai casi di effettivo beneficio. Ancora più attraente l'ipotesi di modificare il tipo di terapia neoadiuvante in funzione della risposta della paziente monitorata dalla DO.

3.2 *Imaging dell'attività funzionale del cervello*

Quando una zona del cervello viene attivata in maniera prevalente per compiere una funzione impegnativa richiama sangue ossigenato (risposta emodinamica). Di conseguenza, localmente, aumenta la concentrazione di HbO_2 a scapito della Hb. Poiché le due forme di emoglobina presentano un differente spettro di assorbimento, operando una misura TD-DO a due lunghezze d'onda separate (es. 670 nm e 830 nm) dal coefficiente di assorbimento è possibile risalire alla diversa concentrazione delle due specie di emoglobina e quindi rilevare la variazione di ossigenazione [19]. Inoltre, si sfrutta la seconda proprietà della TD-DO (il tempo di volo del fotone codifica la profondità nel tessuto) per raggiungere in profondità la corteccia cerebrale a partire da una misura di riflettanza non-invasiva, appoggiando la coppia sorgente-rivelatore sulla cute esterna, come per l'elettroencefalogramma.

Fig. 3 mostra l'andamento temporale della concentrazione di Hb e HbO_2 ricavata tramite la misura TD-DO (pannello a destra) nella corteccia motoria in seguito ad un esercizio di *finger tapping* (il soggetto, nell'intervallo compreso tra le due barre verticali, esegue un particolare tamburellamento con le dita) [20], [21]. L'attivazione di questa area motoria durante l'esercizio produce un aumento di HbO_2 e una riduzione di Hb (linee spesse) che non si osserva in assenza di esercizio (linee sottili). La misura è confermata dalla contemporanea co-registrazione del segnale di risonanza magnetica funzionale (fMRI – immagine a sinistra) che fornisce, però, solo la traccia relativa al segnale BOLD (*Blood Oxygenation Level Dependent*) che dipende dalle proprietà diamagnetiche della Hb. Rispetto alla fMRI, la tecnica ottica (spesso indicata in analogia come fNIRS) presenta, come nel confronto con la mammografia X, una risoluzione spaziale molto peggiore. Per contro,

fornisce indicazioni anche sulla componente ossigenata dell'emoglobina e può essere utilizzata anche con strumenti indossabili, in ambienti non costretti e su soggetti (es. bambini) poco indicati per misure con risonanza magnetica.

Questa metodica può essere di grosso aiuto in studi sulla comprensione del funzionamento del cervello, per applicazioni in psicologia e pedagogia, nella riabilitazione del cervello in seguito a traumi, nella diagnostica dell'epilessia e più in generale per studi di neuroscienze. Poiché il tessuto cerebrale si danneggia quando alle cellule viene a mancare l'ossigeno per anche solo 5 minuti, l'ossigenazione cerebrale è un parametro vitale che occorre monitorare in situazioni estreme. In questo ambito, la prima proprietà della TD-DO esposta sopra (la capacità di separare assorbimento da scattering in base al differente effetto sulla distribuzione dei tempi di volo dei fotoni) consente una corretta quantificazione di m_a che è molto importante per ricavare in maniera assoluta l'ossigenazione del tessuto cerebrale. La tecnica ottica può essere impiegata, ad esempio, nei complessi interventi di cardiocirurgia, durante l'anestesia generale per verificare la corretta ossigenazione del cervello, nei bimbi nati pre-terme in cui l'immaturo sviluppo dei polmoni o una ventilazione non adeguata può produrre gravissimi danni a lungo periodo [22].

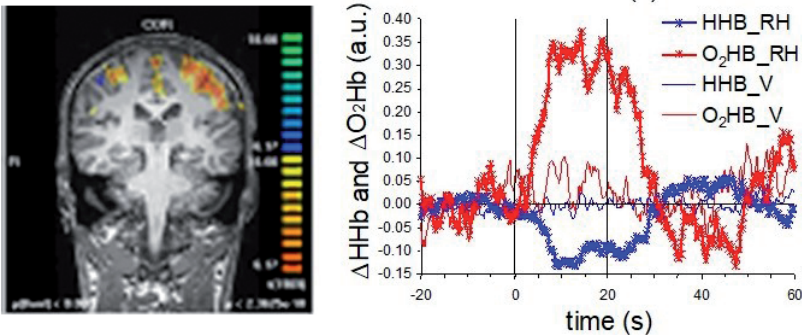


Fig. 3. Il riquadro a destra riporta l'evoluzione temporale della concentrazione di emoglobina ossigenata (O_2Hb) e deossigenata (HHb) nella corteccia cerebrale durante l'esecuzione di un esercizio motorio con le dita (linee spesse). Le due righe verticali misurano l'inizio e la fine del compito motorio. Per raffronto, sono rappresentate anche le tracce dei due componenti con il soggetto a riposo (linee sottili). Il riquadro a destra mostra l'immagine di risonanza magnetica funzionale (fMRI) coregistrata durante lo stesso esercizio che mostra l'attivazione nella regione motoria. La tecnica ottica fornisce informazioni simili alla fMRI con risoluzioni spaziali peggiori, ma con una maggiore portabilità e maneggevolezza della strumentazione.

3.3 Spettroscopia non-invasiva di tessuti biologici in vivo

Un ultimo ambito di applicazione per la tecnica TD-DO che vorremmo presentare è relativo alla spettroscopia diffusa *in vivo* sull'uomo su ampia banda spettrale. Lo spettro di assorbimento del tessuto biologico può fornire informazioni sulla composizione interna, sul metabolismo, oltre che sullo stato funzionale (come nell'esempio del cervello discusso sopra). Fig. 4 mostra gli spettri di assorbimento misurati sull'addome in volontari sani. La tecnica TD-DO consente di evidenziare differenze dovute alla diversa geometria e composizione dei tessuti [23]. Il tessuto adiposo è stato a lungo considerato come un semplice deposito di lipidi. Recentemente, invece, sta emergendo chiaramente il suo ruolo come organo, che può portare ad una ottimale gestione dell'energia e del metabolismo piuttosto che a processi infiammatori e patologici.

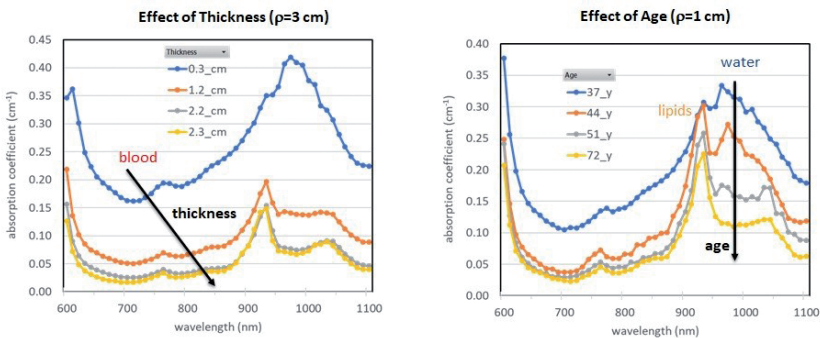


Fig. 4. Spettri di assorbimento dell'addome di volontari sani. Si evidenziano l'assorbimento dell'emoglobina deossigenata nella regione $\lambda < 700$ nm, il picco dei lipidi a 930 nm, il contributo dell'acqua nella regione attorno ai 980 nm, e il contributo dell'emoglobina ossigenata con uno spettro molto allargato nella regione 800-1000 nm, oltre alla risalita verso i 600 nm. La tecnica TD-DO consente di osservare marcate differenze tra i vari soggetti in funzione di parametri quali lo spessore dello strato adiposo (riquadro di sinistra) o l'età (riquadro di destra) e potrebbe essere utilizzata in studi sull'effetto dell'alimentazione o dello stile di vita sulla composizione e metabolismo dei tessuti.

Un campo in forte crescita è lo studio dell'impatto dell'alimentazione e dello stile di vita sull'insorgenza di patologie. Seguendo la nota massima "prevenire è meglio che curare", diverse patologie potrebbero essere evitate, o per lo meno alleviate, con uno stile di vita sano. La ricerca sta cercando di correlare molteplici informazioni (genetiche e

biochimiche, epidemiologiche, cliniche, da studi su animale) per arrivare ad una comprensione più profonda dei fattori che innescano o rallentano la degenerazione patologica e più specificamente sugli interventi comportamentali più efficaci. In questo contesto c'è la necessità di individuare metodiche totalmente non invasive che consentano di fornire informazioni sullo stato dei tessuti in studi su volontari o su pazienti sottoposti a particolari regimi alimentari o di esercizio fisico e in prospettiva per il monitoraggio domestico o ambulatoriale di parametri metabolici e tissutali. La tecnica TD-DO si presenta come ottimo candidato per fornire in maniera semplice, rapida e non invasiva parametri tissutali non facilmente ottenibili con altre metodiche.

4. EVOLUZIONE TECNOLOGICA

I sistemi di misura basati sulla tecnica della TD-DO hanno subito nel corso degli ultimi decenni un impressionante progresso in termini di riduzione degli ingombri e dei costi a fronte di un potenziamento delle prestazioni. Questa crescita è riconducibile in ultima istanza all'innovazione dei componenti (sorgenti laser, rivelatori, elettronica a singolo fotone), trainati dalla ricerca e produzione su larga scala in ambito di telecomunicazioni e sistemi per alte energie. Nel seguito verranno ripercorsi gli stadi di sviluppo della tecnologia, con conseguente abbattimento di barriere sull'utilizzo nelle applicazioni, e le prospettive future.

4.1 Prima Generazione – Sistemi di laboratorio

I primi sistemi TD-DO sviluppati negli anni '90 erano stazioni di laboratorio, spesso ospitate presso Facility Laser, che occupavano un'intera stanza [24]. La difficoltà principale consisteva nella generazione di impulsi laser di breve durata (ps) ad alto tasso di ripetizione (MHz) e con la possibilità di accordare la lunghezza d'onda di emissione. Veniva richiesto l'utilizzo di laser a Titanio in Zaffiro operanti su larga banda spettrale con mode-locking attivo (*Fig. 5*), oppure la generazione di supercontinuo in cuvetta tramite utilizzo di laser impulsati amplificati di elevata potenza. L'elettronica di rivelazioni era basata su delicati fotomoltiplicatori a *microchannel plate* piuttosto che costose *streak camera* collegate a catene elettroniche analogiche da banco per conteggio a singolo fotone correlato nel tempo (TCSPC) mutate dal-

l'elettronica per applicazioni nucleari. Con questi sistemi sono stati effettuati i primi studi sulla fisica della TD-DO e ricavati i primi spettri *in vivo* di tessuti biologici (Fig. 5) [25], [26].

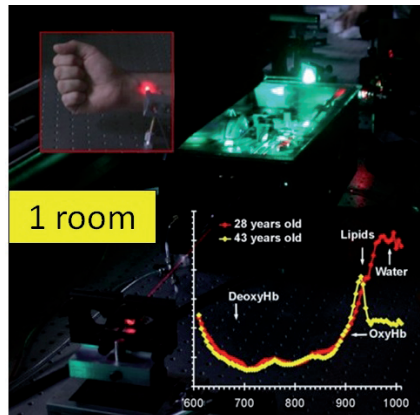


Fig. 5. Sistemi TD-DO di prima generazione, basati su sorgenti laser di laboratorio in regime di *mode-locking* e fotomoltiplicatori a *microchannel plate* con sensibilità al singolo fotone. Con questi sistemi sono stati ottenuti i primi spettri di assorbimento e scattering *in vivo* su tessuti biologici.

4.2 Seconda Generazione – Prototipi clinici

Un grosso passo avanti è stato realizzato con l'introduzione di sorgenti laser compatte a semiconduttore operanti in modalità di *gain switching* con potenze medie accettabili (alcuni mW). Questo progresso, unito alla disponibilità di rivelatori più compatti e robusti ed anche di schede integrate per TCSPC, ha consentito di realizzare prototipi per TD-DO contenuti in *rack* da 7 pollici montati su ruote che potevano essere facilmente trasportati ed utilizzati in ospedale. Questo avanzamento ha permesso di effettuare studi clinici su pazienti, quali ad esempio quelli sulla mammografia ottica (Fig. 6) che è stata tra le prime applicazioni studiate [27].

4.3 Terza Generazione – Dispositivi indossabili

Il terzo salto tecnologico è consistito nella forte riduzione degli ingombri e dei consumi, che ha portato alla realizzazione di dispositivi compatti indossabili ed alimentati a batteria. In questo caso è risultato

cruciale l'adattamento di una nuova tipologia di rivelatore, il *Silicon Photomultiplier* (SIPM) sviluppato inizialmente per la fisica delle alte energie o sistemi di *Positron Emission Tomography* (PET), per cui è stato dimostrato il funzionamento in regime di singolo fotone con ottima risoluzione temporale [28]. I nuovi dispositivi TD-DO indossabili hanno aperto l'utilizzo in ambienti aperti, su soggetti in movimento (Fig. 7) [29]. Inoltre, il costo limitato dei sistemi può prefigurare l'impiego per studi di *hyperscanning*, in cui si valuta la sincronizzazione e relazione tra le attività cerebrali di soggetti interagenti in un esercizio comune [30].

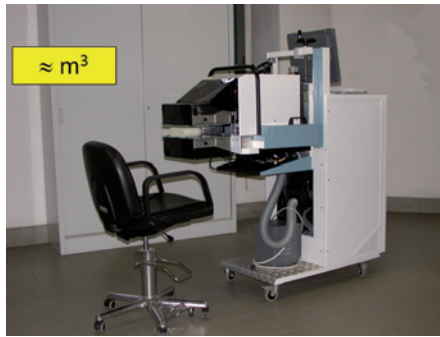


Fig. 6. Sistemi TD-DO di seconda generazione, basati su laser a semiconduttore e fotomoltiplicatori compatti. La possibilità di alloggiare tutta la strumentazione all'interno di rack montati su ruote ha consentito lo sviluppo di prototipi adatti a studi clinici (nella foto un mammografo ottico sviluppato dal Politecnico di Milano).

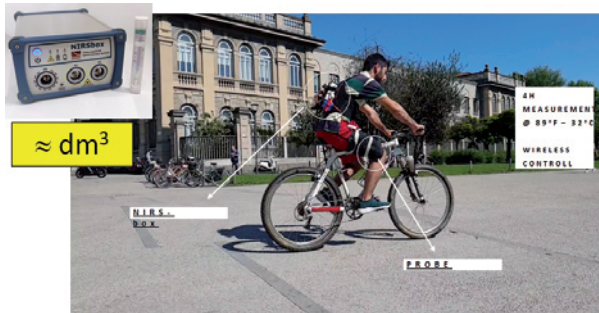


Fig. 7. Sistemi TD-DO di terza generazione, basati su diodi laser con elettronica di pilotaggio integrata e rivelatori Silicon Photomultiplier (SIPM) operanti in regime di singolo fotone. Con questi componenti innovativi è stato possibile realizzare dispositivi compatti, indossabili, wireless ed alimentati a batteria, compatibili con prove su soggetti in libero movimento.

4.4 Quarta Generazione – Moduli integrati

L'ultimo salto tecnologico consisterà nell'integrazione di tutto il sistema TD-DC in un unico blocchetto monolitico con dimensioni del cm. Il punto cruciale è la possibilità di alloggiare direttamente la sorgente e il rivelatore sul *probe* a contatto con la pelle evitando l'utilizzo di fibre ottiche o *bundle* con forte miglioramento dell'operatività e della quantità di luce raccolta. Nell'ambito del progetto europeo SOLUS (<http://www.solus-project.eu>), in fase di completamento, è stato realizzato uno *smart optode* che incorpora 8 distinte sorgenti laser, 1 rivelatore SIPM a larga area con elevatissima sensibilità e l'elettronica di TCSPC. Come prima applicazione proposta, 8 di questi nuovi optodi sono stati integrati in una sonda ecografica (Fig. 8) che consentirà la contemporanea misura dell'immagine ad ultrasuoni e della tomografia ottica dei componenti tissutali per la diagnosi del tumore al seno.

L'ulteriore sviluppo di questa tecnologia potrebbe addirittura portare a dispositivi integrati sullo *smartphone* per il monitoraggio domestico dello stato di salute o per la telemedicina.

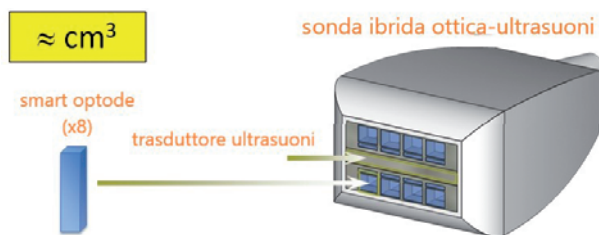


Fig. 8. Sistemi TD-DO di quarta generazione, basati su sorgenti laser e rivelatori SIPM direttamente alloggiati sulla sonda a contatto con il tessuto. Con questa tecnologia è stata realizzata nell'ambito del progetto europeo H2020 SOLUS (n.731877) una sonda ibrida ottica-ultrasuoni, che ospita un totale di 8 sistemi TD-DO indipendenti (smart optode). Il dispositivo è in grado di coregistrare l'immagine ad ultrasuoni e la tomografia ottica della concentrazione dei componenti tissutali. Verrà impiegato in uno studio clinico sulla diagnosi del tumore alla mammella presso l'ospedale San Raffaele di Milano.

5. STANDARDIZZAZIONE

La tecnica di misura TD-DO applicata in vivo per la diagnostica clinica deve confrontarsi con l'elevata variabilità biologica tra individui diversi, come pure con la fluttuazione fisiologica dei parametri ottici per effet-

to, ad esempio, della respirazione, del battito, o della variazione di pressione sanguigna. Peraltro, lo stesso strumento è affetto da un certo grado di incertezza nella misura dovuto ai componenti e alle limitazioni delle tecniche in uso. Spesso questi due fattori non sono separati, col risultato di una riduzione del significato statistico degli studi effettuati e della comprensione dei risultati.

Nell'ultimo decennio, in particolare nell'ambito di progetti di ricerca sovranazionali finanziati dalla Commissione Europea, è in corso un forte processo per quantificare le prestazioni della strumentazione al fine di separare la variabilità biologica da quella strumentale, ed indirizzare lo sviluppo tecnologico verso sistemi sempre più performanti ed accurati. E' stato elaborato un processo in sei fasi, che consistono in: 1) traduzione del problema clinico in un paradigma fisico, 2) definizione di protocolli concordati a livello internazionale per la quantificazione dei parametri rilevanti dal punto di vista clinico, 3) realizzazione di sistemi modello tessuto-equivalente (*phantom*) per riprodurre in laboratorio la problematica clinica, 4) confronto multi-laboratorio di strumenti diversi sugli stessi protocolli, 5) confronto multilaboratorio in studi clinici, 6) elaborazione di standard industriali per garantire una qualità elevata dei dispositivi medicali. Questo processo richiede certamente un forte grado di cooperazione e confronto a livello internazionale, che peraltro è sempre stato alla base dei progressi in diversi settori della fisica, quali, ad esempio, la fisica delle alte energie.

6. CONCLUSIONI

In conclusione, la tecnica di ottica diffusa nel dominio del tempo offre enormi potenzialità per indagare il corpo umano in maniera totalmente non-invasiva, fornendo informazioni composizionali, funzionali e metaboliche non facilmente ottenibili con altre metodiche cliniche non invasive. Le applicazioni più promettenti spaziano dalla diagnosi, prevenzione e cura del tumore al seno, alla visualizzazione dell'attività cerebrale, fino al monitoraggio di parametri fisiologici legati allo stile di vita e all'alimentazione per la prevenzione delle patologie. La tecnologia sta avanzando in direzione di sistemi sempre più compatti ed integrati che potrebbero prefigurare un utilizzo ambulatoriale o domiciliare dei dispositivi. Occorre però uno sforzo di collaborazione a livello internazionale per individuare e quantificare i parametri oggettivi che

individuano la prestazione dello strumento, per affrancare lo sviluppo tecnologico dall'enorme variabilità biologica che può celarne l'efficacia in tanti studi clinici. Grazie all'intrinseca non-invasività e alla ricchezza di informazioni che può veicolare dall'interno del corpo umano, la luce potrebbe diventare un efficace strumento per monitorare lo stato di salute nella nostra vita quotidiana.

7. INTERESSI CONCORRENTI

L'autore è co-fondatore della start-up PIONIRS S.r.l. che ha sviluppato l'ossimetro tissutale mostrato in *Fig. 7*.

BIBLIOGRAFIA

- [1] T. Durduran, R. Choe, W. B. Baker, and A. G. Yodh, "Diffuse optics for tissue monitoring and tomography," *Rep. Prog. Phys.*, vol. 076701, 2010.
- [2] A. Kienle, L. Lilge, M. S. Patterson, R. Hibst, R. Steiner, and B. C. Wilson, "Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue," *Appl. Opt.*, vol. 35, no. 13, p. 2304, May 1996.
- [3] J. B. Fishkin, P. T. C. So, A. E. Cerussi, S. Fantini, M. A. Franceschini, and E. Gratton, "Frequency-domain method for measuring spectral properties in multiple-scattering media: methemoglobin absorption spectrum in a tissuelike phantom," *Appl. Opt.*, vol. 34, no. 7, pp. 1143-1155, 1995.
- [4] S. L. Jacques, "Time resolved propagation of ultrashort laser pulses within turbid tissues," *Appl. Opt.*, vol. 28, no. 12, 1989.
- [5] A. Ishimaru, *Wave propagation and scattering in random media*. Wiley-IEEE Press, 1999.
- [6] J. J. Duderstadt and W. R. Martin, "Transport theory.," *trth*, 1979.
- [7] M. S. Patterson and B. W. Pogue, "Mathematical model for time-resolved and frequency-domain fluorescence spectroscopy in biological tissues.," *Appl. Opt.*, vol. 33, no. 10, pp. 1963-74, Apr. 1994.
- [8] M. S. Patterson, B. Chance, and B. C. Wilson, "Time resolved reflectance and transmittance for the non-invasive measurement of tissue optical properties.," *Appl. Opt.*, vol. 28, no. 12, pp. 2331-6, Jun. 1989.
- [9] A. Pifferi, D. Contini, A. D. Mora, A. Farina, L. Spinelli, and A. Torricelli, "New frontiers in time-domain diffuse optics, a review," *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 9, p. 091310, Jun. 2016.
- [10] P. D. Sasieni, J. Shelton, N. Ormiston-Smith, C. S. Thomson, and P. B. Silcocks, "What is the lifetime risk of developing cancer: The effect of adjusting for multiple primaries," *Br. J. Cancer*, vol. 105, no. 3, pp. 460-465, Jul. 2011.

-
- [11] R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, and A. Jemal, "Cancer Statistics, 2021," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 71, no. 1, pp. 7-33, Jan. 2021.
- [12] D. Grosenick, H. Rinneberg, R. Cubeddu, and P. Taroni, "Review of optical breast imaging and spectroscopy," *J. Biomed. Opt.*, vol. 21, no. 9, p. 091311, Jul. 2016.
- [13] P. Taroni *et al.*, "Noninvasive assessment of breast cancer risk using time-resolved diffuse optical spectroscopy," *J. Biomed. Opt.*, vol. 15, no. 6, 2010.
- [14] E. Amir, O. C. Freedman, B. Seruga, and D. G. Evans, "Assessing women at High Risk of Breast Cancer : A Review of Risk Assessment Models," *J Natl Cancer Inst*, vol. 102, pp. 680-691, 2010.
- [15] L. Yaghjian, G. Colditz, L. Collins, and *et al.*, "Mammographic breast density and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women according to tumor characteristics," *J Natl Cancer Inst*, vol. 103, no. 15, pp. 1179-1189., 2011.
- [16] P. Taroni *et al.*, "Is collagen an independent risk factor for breast cancer?," in *Optics InfoBase Conference Papers*, 2016.
- [17] A. Cerussi *et al.*, "Predicting response to breast cancer neoadjuvant chemotherapy using diffuse optical spectroscopy," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 104, no. 10, pp. 4014-4019, 2007.
- [18] D. Roblyer *et al.*, "Optical imaging of breast cancer oxyhemoglobin flare correlates with neoadjuvant chemotherapy response one day after starting treatment," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 108, no. 35, pp. 14626-14631, Aug. 2011.
- [19] F. F. Jöbsis, "Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters," *Science (80-)*, vol. 198, no. 4323, pp. 1264-1266, Dec. 1977.
- [20] A. Torricelli *et al.*, "Simultaneous acquisition of time-domain fNIRS and fMRI during motor activity," in *Optics InfoBase Conference Papers*, 2007.
- [21] A. Torricelli *et al.*, "Time domain functional NIRS imaging for human brain mapping," *Neuroimage*, vol. 85 Pt 1, pp. 28-50, Jan. 2014.
- [22] A. M. Plomgaard *et al.*, "The SafeBoosC II randomized trial: Treatment guided by near-infrared spectroscopy reduces cerebral hypoxia without changing early biomarkers of brain injury," *Pediatr. Res.*, vol. 79, no. 4, pp. 528-535, 2016.
- [23] P. Lanka *et al.*, "Non-invasive investigation of adipose tissue by time domain diffuse optical spectroscopy," *Biomed. Opt. Express*, vol. 11, no. 5, p. 2779, May 2020.
- [24] S. Andersson-Engels, R. Berg, A. Persson, and S. Svanberg, "Multispectral tissue characterization with time-resolved detection of diffusely scattered white light," *Opt. Lett.*, vol. 18, no. 20, pp. 1697-1699, Oct. 1993.
- [25] R. Cubeddu, A. Pifferi, P. Taroni, A. Torricelli, and G. Valentini, "Noninvasive absorption and scattering spectroscopy of bulk diffusive media: An application to the optical characterization of human breast," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 74, no. 6, 1999.
- [26] A. Pifferi, A. Torricelli, P. Taroni, D. Comelli, A. Bassi, and R. Cubeddu, "Fully automated time domain spectrometer for the absorption and scattering characterization of diffusive media," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 78, no. 5, 2007.
- [27] A. Pifferi, P. Taroni, A. Torricelli, F. Messina, R. Cubeddu, and G. Danesini,

- “Four-wavelength time-resolved optical mammography in the 680-980-nm range,” *Opt. Lett.*, vol. 28, no. 13, 2003.
- [28] E. Martinenghi *et al.*, “Spectrally Resolved Single-Photon Timing of Silicon Photomultipliers for Time-Domain Diffuse Spectroscopy,” *IEEE Photonics J.*, vol. 7, no. 4, Aug. 2015.
- [29] M. Lacerenza *et al.*, “Wearable and wireless time-domain near-infrared spectroscopy system for brain and muscle hemodynamic monitoring,” *Biomed. Opt. Express*, vol. 11, no. 10, 2020.
- [30] T. Nozawa, Y. Sasaki, K. Sakaki, R. Yokoyama, and R. Kawashima, “Interpersonal frontopolar neural synchronization in group communication: An exploration toward fNIRS hyperscanning of natural interactions,” *Neuroimage*, vol. 133, pp. 484-497, Jun. 2016.

