

INDICE

Tecniche per la diagnosi precoce del tumore al seno tramite sistemi elettronici a microonde

CAPITOLO 1: Introduzione generale

- *Introduzione* p. 2
 - *Tecnologia Ultra WideBand* p. 3
 - *Riassunto capitoli* p. 3
-

CAPITOLO 2: Proprietà dielettriche dei tessuti normali, benigni e maligni alle microonde UWB

- *Introduzione* p. 5
 - *Procedure sperimentali* p. 6
 - *Metodo di analisi statistica* p. 8
 - *Risultati e conclusioni* p. 9
-

CAPITOLO 3: Modello Debye per lo studio delle proprietà dielettriche dei tessuti

- *Introduzione* p. 17
 - *Metodologia* p. 18
 - *Risultati e conclusioni* p. 19
-

CAPITOLO 4: Microwave Imaging via Space-Time

- *Introduzione* p. 21
 - *Raggi X e Introduzione al MIST* p. 21
 - *Tomografia e tecniche UWB radar* p. 22
 - *Rimozione degli artefatti* p. 23
 - *MIST Beamforming* p. 24
 - *FIR Filter Design* p. 27
 - *Window Design* p. 29
 - *2D Space-Time Beamformer* p. 30
 - *Conclusioni* p. 32
-

CAPITOLO 5: Conclusioni finali

- *Conclusioni finali* p. 33
-

RIFERIMENTI: Riferimenti Bibliografici nel Testo

- *Riferimenti Bibliografici* p. 35

CAPITOLO 1

Introduzione generale

Introduzione

Le neoplasie della mammella (o tumori al seno) rappresentano le lesioni più importanti in grado di colpire tale organo (sebbene non le più frequenti). Esse possono assumere caratteristiche macroscopiche o microscopiche a seconda dei tessuti colpiti. E' possibile suddividere tutte le neoplasie mammarie secondo il seguente schema:

- Neoplasie Stromali (benigne o maligne);
- Neoplasie Epiteliali (benigne o maligne);

Tra le neoplasie epiteliali maligne vi sono i *carcinomi* che rappresentano la forma più diffusa di tumore al seno. Tale tipologia di lesione ha avuto un notevole aumento specialmente negli anni settanta dello scorso secolo. Ciò probabilmente può essere stato causato dal cambiamento radicale nello stile di vita nel mondo occidentale. Attualmente si può dire che il tumore al seno è il tipo di cancro più diffuso a causa dell'elevato tasso di incidenza e della prognosi relativamente buona. Ciò viene confermato dalle statistiche ^[1]:

- Ogni anno vi sono oltre 1.1 milioni di donne alle quali viene diagnosticata per la prima volta questo tipo di patologia. Ciò rappresenta il 10% di tutti i nuovi casi di cancro e il 23% di tutte le forme neoplastiche delle donne;
- Con oltre 410.000 decessi ogni anno, il tumore al seno rappresenta circa il 14% di tutte le morti per cancro nelle donne e l'1,6% di tutte le morti di donne nel mondo;
- I tassi di incidenza aumentano anche del 5% annuo nei paesi con carenza di risorse;
- Un terzo delle donne colpite da tumore al seno incorre in una ricaduta. La metà di tali recidive si manifesta dopo cinque anni dall'intervento chirurgico ^[2];

Da ciò non stupisce il fatto che da sempre si è ricercata una cura per tale tipologia di tumore. A tal proposito, nella storia della chirurgia sono state attraversate 4 differenti fasi ^[3]:

1. Impiego della chirurgia esclusivamente locale, ossia primordi del trattamento chirurgico;
2. Primi tentativi di una chirurgia loco-regionale, ossia primordi della chirurgia radicale;
3. Sviluppo delle basi intellettuali e delle applicazioni pratiche della chirurgia radicale;
4. Trattamento chirurgico nell'ambito di una strategia terapeutica più complessa;

Allo stesso modo sono state sviluppate le tecniche di diagnosi del tumore al seno in modo da poter essere in grado d'intervenire con la dovuta tempestività. Attualmente una tra le modalità più comuni riguarda l'uso di Raggi X (come spiegato nel capitolo 4). Scopo dei capitoli seguenti è quello di esporre alcuni studi svoltisi in questi ultimi anni i quali hanno come finalità la diagnosi precoce delle lesioni tumorali tramite l'uso di microonde Ultra WideBand.

Tecnologia Ultra WideBand ^[3]

Con il termine Ultra WideBand (letteralmente “*banda ultra larga*”), abbreviato con UWB, si intende una tecnologia sviluppata per trasmettere e ricevere segnali mediante l'utilizzo di impulsi di energia in radiofrequenza di durata estremamente ridotta (da poche decine di picosecondi a qualche nanosecondo). Questi impulsi sono rappresentati da pochi cicli d'onda di una portante in radiofrequenza e quindi lo spettro associato a questa forma d'onda è estremamente ampio (da cui il nome). La brevità dell'impulso trasmesso rende l'UWB poco sensibile alle interferenze dovute alle riflessioni dell'onda stessa. Invece la larghezza della banda fa sì che la densità spettrale di potenza sia molto ridotta in modo da garantire un consumo energetico ridotto.

Nonostante le apparenze, tale tipo di tecnologia non è recente. Infatti già attorno al 1970 venne dimostrata la possibilità di utilizzare forme d'onda UWB per la trasmissione di segnali.

Riassunto capitoli

Come già accennato, di seguito verranno esposti degli studi atti a diagnosticare preventivamente i tumori alla mammella. Nel complesso presenteremo tre diverse ricerche. Scopo principale per la diagnosi è la misurazione delle proprietà dielettriche dei tessuti della mammella quando questi vengono esposti a microonde UWB. Infatti, analizzando tali proprietà, è possibile discriminare i casi di tumori (benigni e maligni) dai casi sani:

A. *CAPITOLO 2: Studio sulle proprietà dielettriche dei tessuti normali, benigni e maligni* ^[4]

Prima di cominciare a descrivere i metodi utilizzati per la diagnosi del tumore al seno è necessario creare un database completo che raccolga tutte le caratteristiche dielettriche dei tessuti che dovranno essere analizzati in modo da poter stabilire con chiarezza se si è in presenza di un tumore benigno, di un tumore maligno o di semplice tessuto sano. Per questo verrà trattata una ricerca eseguita presso l'università del Wisconsin-Madison (USA) e l'università di Calgary (Canada) alcuni anni fa. Per prima cosa sono state determinate sperimentalmente tutte le proprietà dielettriche dei tessuti esposti alle microonde UWB. Successivamente sono stati catalogati tutti i dati derivanti da questo studio comprendenti le proprietà dielettriche del tessuto sano (adiposo, ghiandolare e fibroconnettivo), del tessuto benigno (fibroadenomi e cisti) e del tessuto maligno (carcinoma invasivo e non-invasivo duttale e lobulare) ottenendo i campioni dagli interventi di riduzione e dagli interventi per l'eliminazione di carcinomi. Da tale ricerca è stato rilevato che il contrasto alle microonde tra il tessuto maligno e il tessuto adiposo sano è considerevole. Invece tale contrasto non è altrettanto apprezzabile tra il tessuto ghiandolare/fibroconnettivo normale e i corrispettivi tessuti maligni (non supera il 10%).

B. *CAPITOLO 3: Modello Debye per lo studio delle proprietà dielettriche dei tessuti* ^[5]

Una volta costruito un database che raccoglie tutti i dati dovuti alle misurazioni delle proprietà dielettriche dei campioni di tessuti mammario è necessario studiare i risultati così ottenuti. Una possibile soluzione a tal problema è data dall'uso del metodo FDTD (Finite Difference Time

Domain) il quale è usato ampiamente come uno strumento per lo sviluppo, la convalida e l'ottimizzazione delle emergenti tecniche di identificazione del cancro al seno. Esprimendo i risultati attraverso il modello Debye o Cole-Cole le proprietà dielettriche dei tessuti sotto analisi possono essere efficientemente incorporate nel codice FDTD.

Dallo studio riassunto precedentemente, le proprietà dielettriche dei tessuti sani, benigni e maligni del seno sono state caratterizzate sperimentalmente per microonde che vanno da 0.5 a 20 GHz. Tutti i dati così raccolti sono stati riassunti usando un modello Cole-Cole a polo singolo il quale è stato adattato rigorosamente alla media delle proprietà dielettriche dei tre gruppi di tessuto sano e al singolo gruppo di tessuto maligno. Tale modello risulta però essere notevolmente complesso. Per questo motivo nel capitolo 3 verrà presentata una nuova ricerca svoltasi sempre presso le università del Wisconsin-Madison (USA) e Calgary (Canada) per lo studio del modello Debay (a polo singolo o doppio) il quale conserva una precisione analoga a quella del modello Cole-Cole. Tale modello Debay fornisce i mezzi necessari per la creazione computazionale di un efficiente modello FDTD e quindi per studiare i risultati esposti nel capitolo 2.

C. *CAPITOLO 4: Microwave Imaging via Space-Time (MIST)* ^[6]

Una volta che si è in grado di discriminare se le proprietà dielettriche misurate derivano da tessuti tumorali o da tessuti sani è possibile cominciare a sviluppare delle tecniche d'indagine che possano sostituire gli attuali strumenti di diagnosi. In tale capitolo verrà presentato il MIST (Microwave Imaging via Space-Time) il quale è una tecnologia sviluppata presso l'Università del Wisconsin-Madison e che si propone come scopo la diagnosi tempestiva del cancro al seno. Vicino alla superficie della mammella vengono posizionate una serie di antenne le quali inviano sequenzialmente dei segnali UWB. I segnali retro diffusi verranno quindi passati attraverso uno "space-time beamformer" il quale è progettato per calcolare l'energia del segnale ricevuto. Grazie alle conoscenze acquisite sulle differenti proprietà dielettriche tra il tessuto sano e il tessuto maligno è possibile diagnosticare con precisione la presenza o meno di un tumore. Un problema però può sorgere dalla presenza di artefatti (disturbi sul segnale ricevuto) i quali vengono eliminati grazie ad un algoritmo apposito. In questo modo anche la presenza di tumori molto piccoli (2 mm) possono essere rilevati.

CAPITOLO 2

Proprietà dielettriche dei tessuti normali, benigni e maligni alle microonde UWB ^[4]

Introduzione

Come visto precedentemente, statisticamente si può dedurre che il cancro al seno è la tipologia di tumore più diagnosticata per le donne ed è una delle principali cause di morte femminile. Per questo non stupisce il fatto che recentemente si siano sviluppati sempre più studi per contrastare tempestivamente questa malattia.

Una parte di questi studi riguarda l'utilizzo di radiazioni ad energia non ionizzante nella gamma delle frequenze a microonde. Infatti per radiazioni ionizzanti si intendono tutte quelle radiazioni dotate di sufficiente energia da poter ionizzare gli atomi o le molecole con le quali vengono a contatto (questo fenomeno risulta tanto più pericoloso per l'uomo quanto più la radiazione si addentra nei tessuti biologici) ^[3]. Generalmente si considerano ionizzanti tutte quelle radiazioni con frequenza maggiore di 3×10^{15} Hertz.

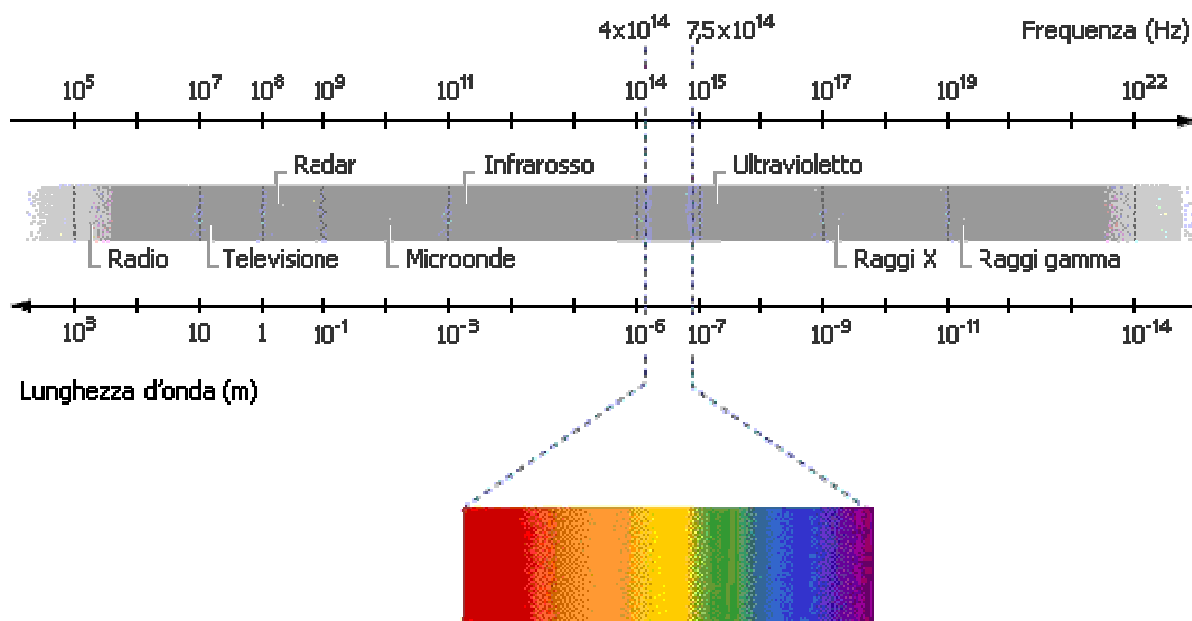


Fig. 2.1 - spettro delle radiazioni elettromagnetiche;

La banda delle frequenze non ionizzanti risulta molto utile per gli scopi da noi prefissati in quanto possiede il giusto equilibrio tra:

- 1) Penetrazione attraverso i tessuti biologici;
- 2) Risoluzione spaziale per l'identificazione e il trattamento delle lesioni tumorali

Gli studi per lo sviluppo di tali tecniche svoltisi dalla fine degli anni '90 fino alla seconda metà dell'attuale decennio risultano molto discrepanti fra loro in quanto coinvolgono una piccola parte della popolazione malata (escludendo quindi molte tipologie di tumore) e di rado hanno superato i 3.2 GHz nel trattamento. Di seguito invece ci si basa su un ampio studio svoltosi presso alcune università americane e canadesi con l'intento di caratterizzare le proprietà dielettriche dei tessuti quando questi vengono esposti alle radiazioni a banda ultralarga dai 0.5 ai 20 GHz. Tale studio è stato suddiviso in due parti:

- 1) Nella prima parte venivano presentati i risultati del primo stadio d'analisi atto a caratterizzare le proprietà dielettriche di tutti i tessuti sani umani *ex vivo*. I risultati di questa prima parte dello studio hanno rivelato due cose:
 - Le proprietà dielettriche del seno normale coprono una gamma di valori più ampia di quella riportata in ogni altra ricerca precedente;
 - Le proprietà dielettriche del seno normale sono principalmente determinate dal contenuto adiposo nei tessuti;

- 2) La seconda parte dello studio è invece presentata più ampiamente in questo capitolo. In questo stadio della ricerca infatti vengono presentate le proprietà dielettriche dei tessuti normali, maligni e benigni ottenuti dai campioni reperiti dalle operazioni chirurgiche. I dati ottenuti da questa ricerca si sono in seguito rivelati assai utili per la caratterizzazione delle proprietà dei tessuti del seno e, quindi, per la diagnosi preventiva della malattia. E' stato anche confermata l'importanza critica della misurazione del contenuto adiposo nella mammella, sia nel caso di un campione sano e sia nel caso di un campione maligno, per la determinazione esatta delle proprietà dielettriche finali.

Procedure Sperimentali

Di seguito verrà presentato il protocollo usato per ottenere i campioni dei tessuti e per la misurazione e acquisizione dei dati.

A. Raccolta dei Campioni Tessutali

Per eseguire la ricerca delle proprietà dielettriche dei tessuti sono stati analizzati 319 campioni ottenuti dall'asportazione di tessuti da 196 pazienti (vedi la tabella 2.1 nella prossima pagina) ricavati dalle operazioni chirurgiche eseguite presso l'*University of Wisconsin Hospital* e l'*University of Calgary Hospital*.

In seguito i tessuti così ottenuti sono stati portati dall'ospedale al dipartimento di patologia per la misurazione delle proprietà (l'analisi dei tessuti sani è stata condotta considerando solo le zone marginali dei campioni, allontanandosi quindi il più possibile dalle zone lesionate).

Dati dei campioni analizzati	
Numero totale di pazienti	196
Numero totale di campioni	319
Età dei pazienti	35-87 (UW) 19-90 (UC)
Tempo trascorso dall'asportazione alla misurazione	20-221 min (UW) 11-240 min (UC)
Temperatura tessutale durante le misurazioni	18.0-25.7 °C (UW) 19.9-27.2 °C (UC)

Tab. 2.1 – dettagli sulla collezione di campioni. Con UW si intendono i campioni raccolti presso l'University of Wisconsin Hospital mentre con UC si intendono i campioni raccolti presso L'University of Calgary Hospital;

B. Microwave dielectric spectroscopy

Sui campioni da analizzare è stata eseguita una spettroscopia dielettrica a microonde con lo scopo d'identificarne le proprietà. Tale è composta da una sonda in acciaio inossidabile e vetro borosilicato sigillata ermeticamente. Il piccolo diametro della sonda assicura un eccellente contatto tra il tessuto e l'apertura dello strumento. Il sigillo ermetico offre invece protezione contro i fluidi dispersi attorno all'apertura della sonda stessa ed, inoltre, assicura anche una costanza nelle performance dello strumento nel tempo.

La profondità di rilevamento della sonda è di circa 1-3 mm in modo da garantire un coinvolgimento di volume tessutale piccolo.

L'incertezza aspettabile da questa tecnica non supera il 10%. Per assicurare una performance costante nel tempo è però necessario provvedere ad una periodica verifica dell'accuratezza dell'apparecchio con dei liquidi di riferimento.

C. Analisi istologica della composizione dei tessuti

A questo punto è necessario conoscere esattamente la composizione tessutale dei campioni per interpretare i risultati. Il sito esatto misurato dalla sonda viene quindi marcato ad inchiostro per definire il volume di sensibilità dello strumento. Successivamente vengono raccolte delle immagini digitali delle zone da esaminare in modo che queste possano essere visionate da un patologo.

- 1) Per prima cosa viene diagnosticata la presenza o meno di un tumore (maligno o benigno).
- 2) I campioni vengono catalogati a seconda della composizione del tessuto.
- 3) Dato che la misura delle proprietà dielettriche dipende dalla tipologia di tessuto immediatamente sottostante la sonda, il patologo determina la tipologia tessutale predominante segnata dall'inchiostro.

Alla fine viene applicato un criterio (detto “*criterio di esclusione*”) in modo da migliorare i risultati e eliminare l'incertezza sulle misure.

Metodi di Analisi Statistica

Dopo l'acquisizione dei dati tratti dai campioni di tessuto questi vengono analizzati e catalogati in modo da poter essere facilmente studiati e, quindi, interpretati. Il tutto si svolge a stadi successivi:

- A) Fonti di Variabilità: Vengono analizzate le variabilità dei dati nelle proprietà dielettriche a 5, 10 e 15 GHz. Le variazioni tra paziente e paziente e le variazioni tra campione e campione vengono studiate tramite l'ANOVA (A Nested Analysis Of Variance);
- B) Cause Esterni: Vengono studiati gli effetti dovuti a cause esterne sui campioni tessutali normali o tumorali. Entrando nel dettaglio si cercano di capire gli effetti della temperatura, età del paziente e tempo trascorso dall'asportazione alla misurazione sui risultati finali delle proprietà dielettriche del tessuto;
- C) Seconda Analisi: Viene eseguita una seconda analisi a posteriori per verificare la correttezza dei risultati forniti dai patologi dei 2 ospedali coinvolti nella ricerca. Il risultato di questa analisi si traduce in un valore kappa:
- $Kappa < 0$ (non c'è accordo fra i risultati)
 - $Kappa = 1$ (pieno accordo fra i risultati)
- D) Confronto delle proprietà dielettriche dei tessuti sani: I campioni di tessuto sano vengono e suddivisi in tre grandi gruppi a seconda della percentuale di tessuto adiposo presente (tali suddivisioni vengono scelte in modo da massimizzare le differenze fra i 3 gruppi e, allo stesso tempo, minimizzare le differenze fra i campioni di uno stesso gruppo);
- E) Confronto delle proprietà dielettriche fra tessuto sano e malato: L'ultimo stadio dell'analisi prevede il confronto fra le proprietà dielettriche del tessuto sano e del tessuto tumorale esponendo i campioni a segnali da 5, 10 e 15 GHz. Tale operazione viene eseguita in diverse fasi successive;

Risultati e Conclusioni

A. Istologia

Per poter trarre le adeguate conclusioni dai dati ottenuti è necessario capire esattamente la composizione dei campioni analizzati in quanto ciò può far variare notevolmente le proprietà dielettriche misurate. Di seguito quindi presentiamo alcuni istogrammi indicativi per questo tipo d'analisi.

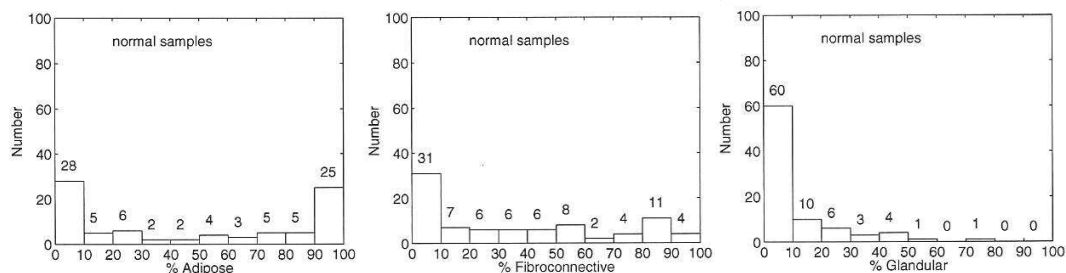


Fig. 2.2 – Istogrammi sulla distribuzione percentuale di tessuto adiposo, fibroconnettivo e ghiandolare all'interno del database di tessuti normali;

Nella figura 2.2 vengono mostrati gli istogrammi delle distribuzioni tessutali (adiposo, fibroconnettivo e ghiandolare) dei campioni sani. La composizione dei tessuti normali risulta assai variegata in quanto sono presenti sia campioni a basso contenuto liquido (tessuti adiposi puri) che campioni ad alto contenuto liquido (tessuti ghiandolari e/o fibroconnettivi).

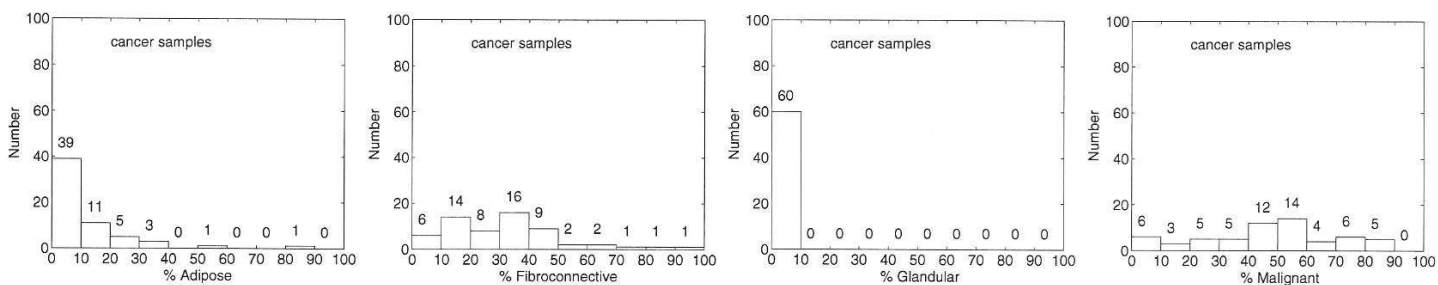


Fig. 2.3 – Istogrammi della distribuzione percentuale di tessuto adiposo, fibroconnettivo, ghiandolare e maligno all'interno del database di tessuti malati;

Nella figura 2.3 vengono invece mostrati gli istogrammi delle distribuzioni dei tessuti (adiposo, fibroconnettivo, ghiandolare e maligno) dei campioni tumorali. Va subito specificato che per tessuti “tumoral” si intendono tutti i tipi di cancro.

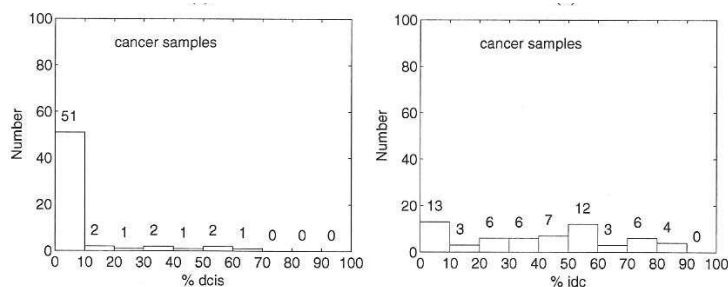


Fig. 2.4 – Istogrammi delle distribuzioni percentuali dei tumori DCIS (sinistra) e IDC (destra) all'interno del database di tessuti tumorali studiati;

Nella figura 2.4 infine viene mostrata la distribuzione dei due principali tumori al seno:

- **IDC**: Carcinoma Duttale Invasivo
- **DCIS**: Carcinoma Duttale in Situ

Dalle immagini sopra descritte si possono dedurre numerose caratteristiche dei campioni analizzati.

- 1) I campioni adiposi e ghiandolari contenenti un tumore sono molto pochi. Questo perché nella scelta dei campioni sono stati privilegiati i carcinomi nati all'interno della regione ghiandolare;
- 2) I campioni contenenti una quantità apprezzabile di tessuto tumorale che non sia IDC sono molto pochi. Questo perché, come detto precedentemente, il tumore IDC è il più diffuso tra i tumori al seno;

B. Data fitting

In figura 2.5 vengono rappresentate le curve delle misurazioni eseguite (*cerchi*) assieme alle curve del modello Cole-Cole. Le figure 2.5 (a) e (b) rappresentano i tessuti sani mentre le figure 2.5 (c) e (d) rappresentano i tessuti tumorali.

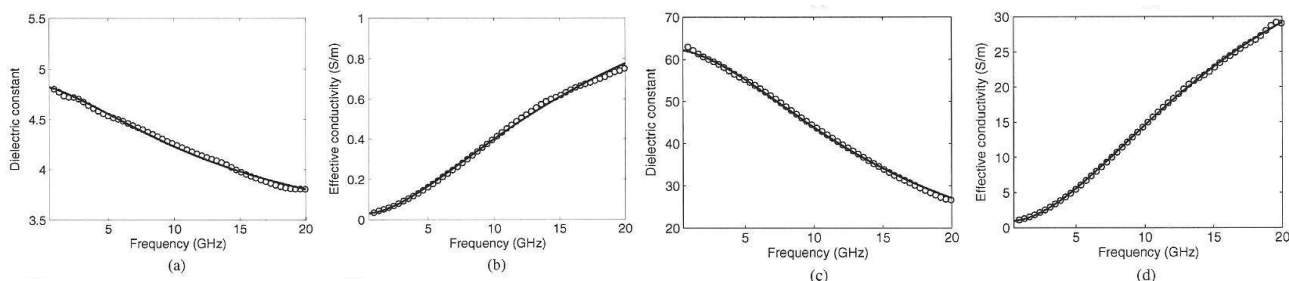


Fig. 2.5 – Grafici ottenuti tramite il modello Cole-Cole per la rappresentazione delle proprietà dielettriche dei tessuti analizzati in funzione della frequenza. (a) e (b) si riferiscono ai tessuti sani mentre (c) e (d) si riferiscono ai tessuti tumorali;

La figura 2.6 invece mostra le curve Cole-Cole a polo singolo di alcuni campioni di tessuto sano (grafici di sinistra) e di altrettanti campioni di tessuti tumorali (grafici di destra).

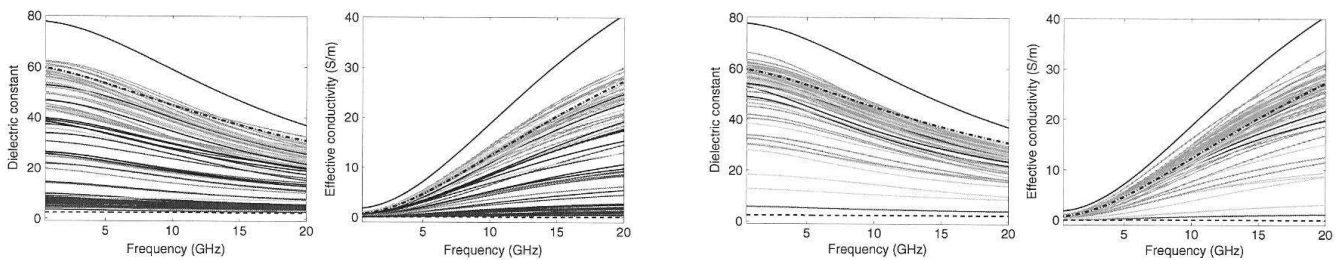


Fig. 2.6 – Grafici ottenuti tramite il modello Cole-Cole a polo singolo. I primi due a sinistra si riferiscono ai tessuti sani mentre i due a destra si riferiscono ai tessuti tumorali;

Dai grafici appena riportati possiamo dedurre due fondamentali conclusioni:

- 1) Le proprietà dielettriche di tutti i tessuti sono delimitate dal “basso” dalle proprietà dielettriche dei tessuti lipidici;
- 2) Le proprietà dielettriche di tutti i tessuti sono delimitate dall’ “alto” dalle proprietà dielettriche saline;

Allo stesso modo si osserva che le proprietà dielettriche del sangue si avvicinano al limite superiore del range appena descritto.

Per quanto riguarda i tessuti sani possiamo notare che le proprietà dielettriche abbracciano un intervallo molto ampio. Ciò era prevedibile dato che i campioni variano da un contenuto liquido molto basso (tessuto adiposo puro) ad un contenuto liquido molto alto (tessuto ghiandolare e/o fibroconnettivo). Viceversa, per quanto riguarda i tessuti tumorali, notiamo dai due grafici a destra della figura 2.6 che questi tendono al limite superiore in quanto contengono un basso tasso di tessuto adiposo.

C. Analisi delle Fonti di Variabilità

Dai dati raccolti non sono state notate significative differenze di risultati fra campioni raccolti da pazienti diversi oppure campioni raccolti all’interno di uno stesso paziente. Nella tabella 2.2 vengono mostrate le deviazioni standard per le costanti dielettriche a 5 GHz.

Deviazioni Standard	
Dev. Standard tra paziente e paziente	10.57
Dev. Standard tra campione e campione	10.77

Tab. 2.2 – Deviazioni standard ottenute dall’analisi a 5 GHz tra campioni prelevati da pazienti diversi e tra campioni differenti ma prelevati da uno stesso paziente;

D. Analisi degli effetti dovuti all'età del paziente, temperatura del campione e tempo tra asportazione e misurazione

Sono stati considerati, come possibili fattori in grado di far variare le proprietà dielettriche dei campioni, l'età del paziente, la temperatura del campione e il tempo trascorso tra l'asportazione e la misurazione. Tutto sommato questi fattori non condizionano notevolmente le conclusioni finali ad eccezione per la temperatura. A tal proposito possiamo tuttavia dire che il range di temperature dei campioni raccolti non è molto ampio. Inoltre, le variazioni delle proprietà dielettriche all'interno di questo intervallo non sono significative. Per questi motivi è possibile concludere che, nella ricerca qui esposta, non sono state considerate rilevanti le variazioni dovute da tali fattori.

E. Proprietà dielettriche dei campioni di tessuto sano

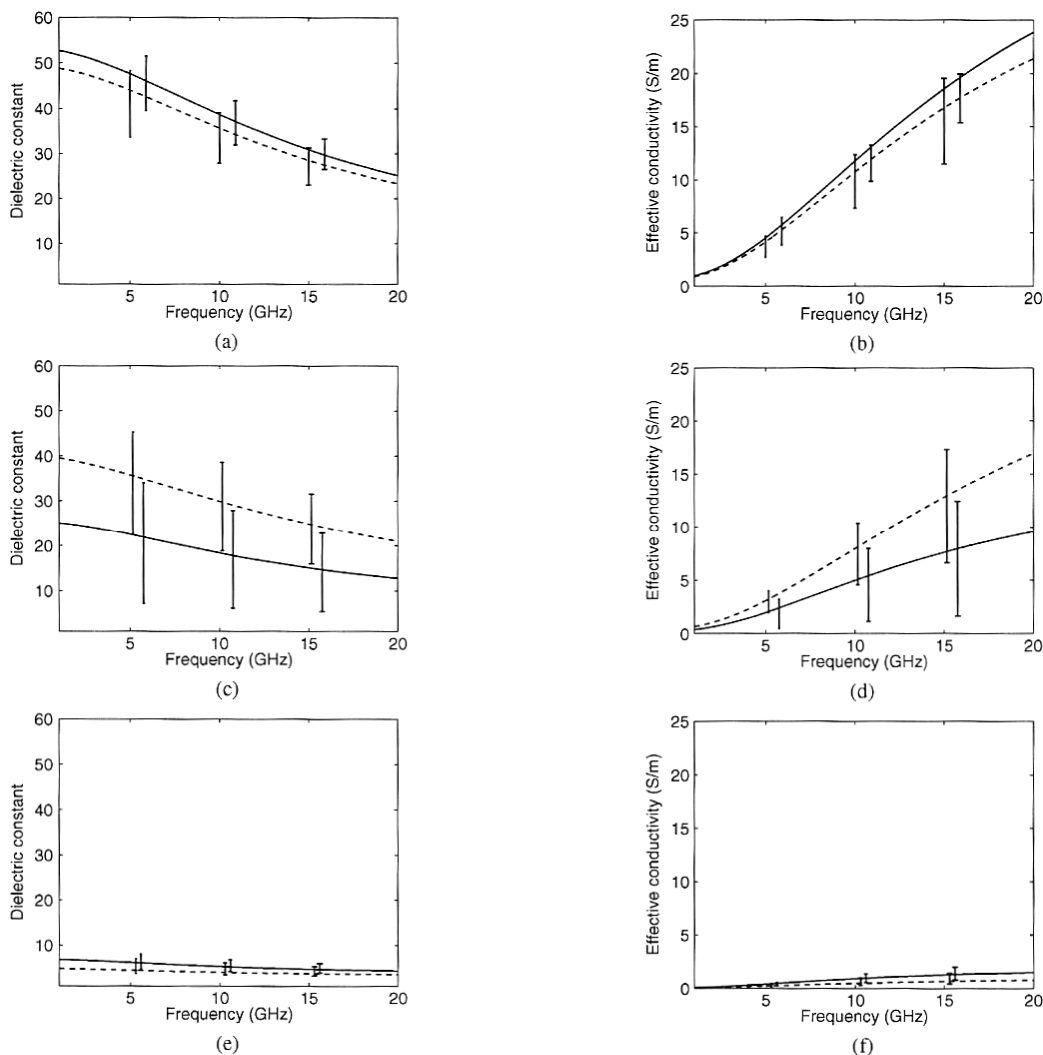


Fig. 2.7 – Curve Cole-Cole delle proprietà dielettriche medie. (a) e (b) si riferiscono al 1° gruppo dei tessuti normali, (c) e (d) si riferiscono al 2° gruppo mentre (e) e (f) si riferiscono all'ultimo gruppo;

In figura 2.7 (pagina precedente) sono mostrate le curve rappresentanti le proprietà dielettriche medie dei tessuti sani:

- 2.7 (a) e (b) – tessuti sani appartenenti al primo gruppo
- 2.7 (c) e (d) – tessuti sani appartenenti al secondo gruppo
- 2.7 (e) e (f) – tessuti sani appartenenti al terzo gruppo

Si è notata una variabilità più o meno significativa nelle proprietà dielettriche per tutti e tre i gruppi fra i campioni ottenuti da operazioni di riduzione (linee tratteggiate) e campioni ottenuti da operazioni per la rimozione di tumori (linee continue) come è mostra più esplicitamente dalle seguenti tabelle (proprietà a 5 GHz):

Gruppo	Costante dielettrica media per operazioni di riduzione	Costante dielettrica media per operazioni d'asportazione del cancro
1	44.2	47.5
2	35.9	22.4
3	4.45	6.19

Gruppo	Conducibilità media per operazioni di riduzione (S/m)	Conducibilità media per operazioni d'asportazione del cancro (S/m)
1	4.15	4.50
2	3.12	1.99
3	0.21	0.40

Tab 2.3 – Proprietà dielettriche misurate dei tessuti normali di tutti e tre i gruppi a 5 GHz dividendo i risultati fra campioni ottenuti da operazioni di riduzione e campioni ottenuti da operazioni d'asportazione di carcinomi;

Le altre frequenze mostrano degli andamenti simili a quelli qui sopra mostrati. Inoltre, rivolgendosi nuovamente ai grafici di figura 2.7, si possono fare due ulteriori osservazioni complementari fra loro:

- 1) Nel gruppo 1 e 3, le differenze delle proprietà dielettriche fra i tessuti ottenuti da operazioni di riduzione e i tessuti ottenuti da operazioni d'asportazione di tumori sono molto ridotte;
- 2) Nel gruppo 2, le differenze delle proprietà dielettriche fra i tessuti ottenuti da operazioni di riduzione e i tessuti ottenuti da operazioni d'asportazione di tumori sono molto rilevanti;

F. Confronto delle proprietà dielettriche fra tessuto sano e tessuto maligno

In figura 2.8 sono mostrate le curve riguardanti tessuti con il 30% o più di massa maligna (linee tratteggiate) o tessuti con il 50% o più di massa maligna (punto-linee) oppure tessuti con il 70% o più di massa maligna (linee continue).

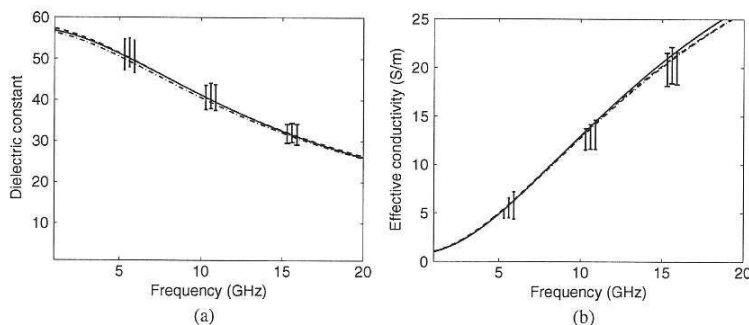


Fig. 2.8 – Curve Cole-Cole per la costante dielettrica (a) e per la conducibilità (b) misurate nei campioni tumorali con una quantità di tessuto maligno superiore al 30% (curve tratteggiate), 50% (curve punto-linea) o 70% (curve continue);

A prima vista è possibile notare che le curve riguardanti i campioni con più alto tasso di tessuto maligno (50% e 70%) sono virtualmente indistinguibili dai campioni con basso tasso di tessuto tumorale (30%).

Di seguito invece presentiamo i risultati del confronto delle proprietà dielettriche utilizzando tre differenti tecniche d'analisi:

- 1) Regolazione per il contenuto adiposo;
- 2) Regolazione per il contenuto adiposo e fibroconnettivo;
- 3) Non regolazione per il contenuto adiposo e fibroconnettivo;

F.1. Regolazione per il contenuto adiposo

Considerando campioni a contenuto adiposo minore del 10% si possono riscontrare differenze statistiche significative tra le proprietà dielettriche dei tessuti sani e le proprietà dielettriche dei tessuti tumorali a frequenze che vanno dai 0.5 ai 20 GHz. In questo caso, quindi, i campioni inclusi nell'analisi sono così composti:

- 1) Campioni sani: vengono inclusi i campioni composti principalmente da tessuti ghiandolari e/o fibroconnettivi sani;
- 2) Campioni tumorali: vengono inclusi i campioni composti principalmente da tessuti ghiandolari maligni e tessuti fibroconnettivi sani;

Dall'analisi di questi campioni risultano evidenti le differenze fra le proprietà dielettriche come mostrato nella tabella 2.4 nella prossima pagina (proprietà a 5 GHz):

	Campioni Sani	Campioni Tumorali	Differenza Percentuale
Costante dielettrica media	46.13	49.78	7.9%
Conducibilità media (S/m)	4.39	4.83	10.0%

Tab. 2.4 – Differenze percentuali fra le proprietà dielettriche misurate a 5 GHz da campioni sani e le proprietà dielettriche ottenute da campioni tumorali;

Per le altre frequenze si notano degli andamenti molto simili a quelli esposti anche se, in tutti i casi, non viene mai superata una differenza percentuale dell'11-12%.

Tutto questo dimostra che i tessuti maligni incrementano le proprietà dielettriche misurabili. Ciò è dovuto principalmente all'angiogenesi (sviluppo di nuovi vasi sanguigni a partire da altri già esistenti).

F.2. Regolazione per il contenuto adiposo e fibroconnettivo

Considerando campioni a contenuto adiposo minore del 10% e regolando i risultati anche per il contenuto di tessuto fibroconnettivo non si possono riscontrare differenze statistiche significative tra le proprietà dielettriche dei tessuti sani e le proprietà dielettriche dei tessuti tumorali. In questo caso infatti si vanno a confrontare direttamente le proprietà dielettriche tra i tessuti ghiandolari normali e i tessuti ghiandolari tumorali.

F.3. Non regolazione per il contenuto adiposo e fibroconnettivo

Non effettuando nessuna regolazione per quanto riguarda la presenza di tessuto adiposo o di tessuto fibroconnettivo si riscontrano differenze statistiche marcate come mostrato nella seguente tabella (proprietà a 5 GHz):

	Campioni Sani	Campioni Tumorali	Differenza Percentuale
Costante dielettrica media	33.84	48.98	44.7%
Conducibilità media (S/m)	3.19	4.75	48.9%

Tab. 2.5 – Differenze percentuali fra le proprietà dielettriche misurate a 5 GHz da campioni sani e le proprietà dielettriche ottenute da campioni tumorali non effettuando nessuna regolazione sul tessuto adiposo o fibroconnettivo;

Andamenti simili vengono visualizzati anche per tutte le altre frequenze con un incremento delle proprietà nei tessuti tumorali compreso tra il 40 e il 50%.

In ogni caso i dati riscontrati da quest'ultimo tipo di analisi possono essere fuorvianti in quanto le proprietà dielettriche medie sono fortemente influenzate dalle proprietà dielettriche del tessuto adiposo.

G. Variazione della composizione tessutale con le proprietà dielettriche

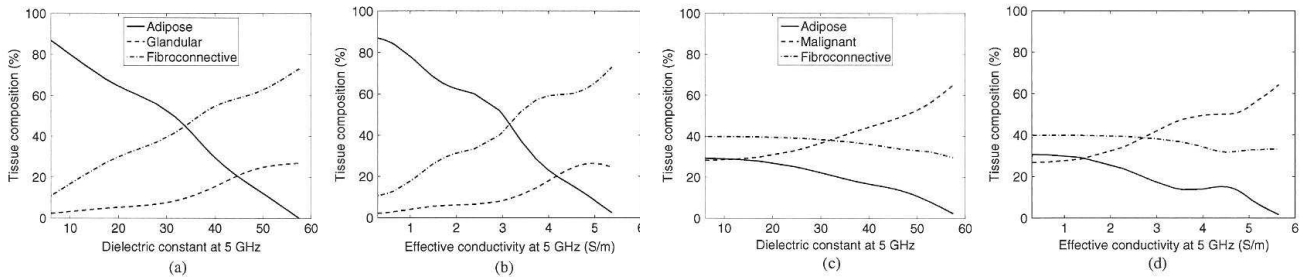


Fig. 2.9 – *Variazione della composizione tessutale dei campioni analizzati in funzione delle proprietà dielettriche misurate a 5 GHz. (a) e (b) si riferiscono a tessuti sani mentre (c) e (d) si riferiscono a tessuti tumorali;*

Per concludere viene mostrato in figura 2.9 come la composizione dei tessuti varia con le proprietà dielettriche rilevate a 5 GHz (in ogni caso andamenti simili si riscontrano anche per le altre frequenze). I grafici (a) e (b) si riferiscono a campioni sani mentre i grafici (c) e (d) si riferiscono a campioni tumorali.

I primi due grafici mostrano che la composizione tessutale dei campioni varia similmente con il variare delle proprietà dielettriche (a prescindere dal fatto che i campioni siano ottenuti da operazioni di riduzione o operazioni per l'asportazione di tumori).

Inoltre, i grafici (c) e (d) mostrano che in generale con l'aumento delle proprietà dielettriche si ha anche un aumento della percentuale di tessuto maligno nel campione mentre la percentuale di tessuto adiposo diminuisce. Questo andamento è facilmente spiegabile dato che il tessuto adiposo, essendo a basso contenuto liquido, ha basse proprietà dielettriche mentre il tessuto maligno, essendo ad alto contenuto liquido, ha proprietà dielettriche più marcate.

CAPITOLO 3

Modello Debye per lo studio delle proprietà dielettriche dei tessuti ^[5]

Introduzione

Nel capitolo precedente è stata presentata la ricerca eseguita tra Stati Uniti e Canada per la caratterizzazione delle proprietà dielettriche dei tessuti della mammella quando questi vengono esposti a radiazioni non ionizzanti. Le proprietà dielettriche dei tessuti maligni, benigni e sani sono state caratterizzate sperimentalmente usando microonde da 0.5 a 20 GHz e adattando il modello Cole-Cole a polo singolo per ogni dato acquisito. Una volta raccolto l'enorme database di dati sulle proprietà misurate è necessario studiare i risultati per poter raggiungere le conclusioni adeguate. Per far ciò si può utilizzare il metodo FDTD (Finite-Difference Time-Domain) ^[7] il quale è una delle tecniche di maggior interesse sviluppata negli ultimi anni con l'intento di diagnosticare preventivamente i tumori al seno. Esso è usato per l'indagine computazionale dei dati acquisiti tramite microonde UWB. L'FDTD è stato sviluppato per incorporare in se modelli computazionali di diversa complessità che vanno dal modello Debye a polo singolo o doppio al modello Cole-Cole (quest'ultimo risulta più complesso rispetto al primo).

Come descritto precedentemente, anche nello studio che andiamo ora ad esporre vengono considerati diversi campioni tessutali ottenuti tramite operazioni chirurgiche di riduzione e d'asportazione di materiale tumorale. La composizione dei tessuti dei campioni sani analizzati è quantificata in termini di percentuale della massa adiposa, fibroconnettiva e ghiandolare (vedi tabella 3.1). Viceversa, la composizione dei tessuti tumorali viene quantificata in termini percentuali di carcinomi duttali e lobulari invasivi e non-invasivi.

Gruppo	Percentuale adiposa
1	0% - 30%
2	31% - 84%
3	85% - 100%

Tab. 3.1 – Quantità percentuale di tessuto adiposo nei tre gruppi di che raccolgono i tessuti sani analizzati;

Inoltre i campioni tumorali vengono raccolti in un unico gruppo contenete solo coloro che possiedono il 30% o più di massa tumorale.

Il modello Cole-Cole a polo singolo è un modo eccellente per studiare tutti i gruppi così formati però, a causa della complessità dell'incorporamento della dispersione Cole-Cole nel modello FDTD, per investigare la dipendenza tra le proprietà dielettriche dei tessuti e la frequenza viene di seguito presentato l'adattamento del modello Debye nei dati del modello Cole-Cole come esposto nella ricerca eseguita alcuni anni fa presso l'Università del Wisconsin-Madison.

Metodologia

Il modello Cole-Cole e il modello Debye sono definiti rispettivamente nelle formule (1) e (2) a pagina seguente.

$$(1) \quad \begin{aligned} \hat{\epsilon}_c(\omega) &= \epsilon'_c(\omega) - j\epsilon''_c(\omega) \\ &= \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon_c}{1 + (j\omega\tau_c)^{1-\alpha}} + \frac{\sigma_s}{j\omega\epsilon_0} \end{aligned}$$

$$(2) \quad \begin{aligned} \hat{\epsilon}_d(\omega) &= \epsilon'_d(\omega) - j\epsilon''_d(\omega) \\ &= \epsilon_\infty + \sum_{n=1}^N \frac{\Delta\epsilon_{dn}}{1 + j\omega\tau_{dn}} + \frac{\sigma_s}{j\omega\epsilon_0} \end{aligned}$$

Dove si ha:

- $\epsilon'_d(\omega)$ è la dipendenza alla frequenza della costante dielettrica;
- $\epsilon''_d(\omega)$ è la dipendenza alla frequenza della perdita dielettrica (la quale è convertibile come conducività);
- ϵ_∞ è un parametro;
- $\Delta\epsilon_c$ è un parametro;
- σ_s è un parametro;
- α è un parametro;
- N è il numero di poli utilizzato;

il pedice c fa riferimento al modello Cole-Cole mentre il pedice d fa riferimento al modello “Debye”. Da notare che $\Delta\epsilon_{dn}$ e τ_{dn} possono variare fra (1) e (2) mentre σ_s e ϵ_∞ rimangono invariate. Successivamente viene definita una funzione d’errore come segue:

$$(3) \quad e = \frac{\sum_{i=1}^M \left(\frac{\epsilon'_{i,c}(\omega) - \epsilon'_{i,d}(\omega)}{\text{median}[\epsilon'_d(\bar{\omega})]} \right)^2 + \sum_{i=1}^M \left(\frac{\epsilon''_{i,c}(\omega) - \epsilon''_{i,d}(\omega)}{\text{median}[\epsilon''_d(\bar{\omega})]} \right)^2}{M}$$

Dove $\bar{\omega}$ è il vettore di tutte le frequenze di misurazione. Infine l’errore della parte reale ed immaginaria della permittività è:

$$(4) \quad \begin{aligned} e_r(\omega) &= \epsilon'_c(\omega) - \epsilon'_d(\omega), \\ e_i(\omega) &= \epsilon''_c(\omega) - \epsilon''_d(\omega). \end{aligned}$$

Risultati e Conclusioni

A questo punto è necessario ricercare il miglior adattamento del modello Debye al modello Cole-Cole attraverso la determinazione dei vari parametri. Per questo ci può venire in aiuto l'errore totale e (formula 3) che, essendo una funzione di N , ci può dare un'idea per capire il numero di poli necessario per adattare al meglio un modello all'altro. Nella figura 3.1 vengono mostrate le proprietà dielettriche ottenute da un modello Debye ad 1 o 2 poli ($N=1$ oppure $N=2$) insieme con le curve originali ottenute dal modello Cole-Cole.

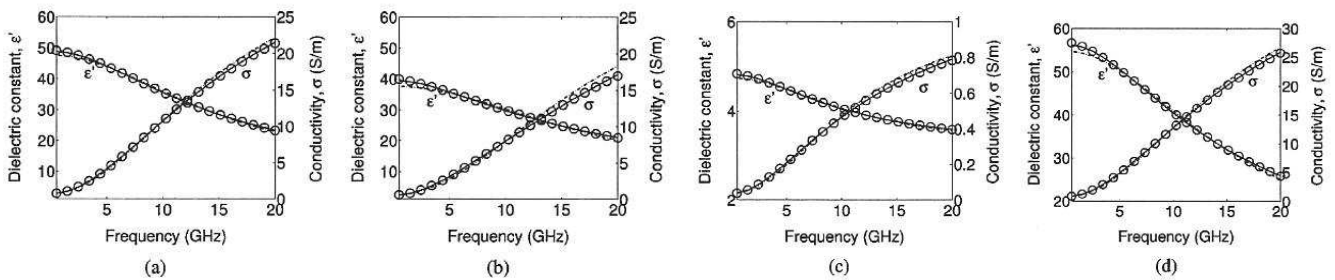


Fig. 3.1 – Confronto fra il modello Cole-Cole a polo singolo (curve a simboli) e il modello Debye a polo doppio (curve continue) o singolo (curve punto-linea). (a) fa riferimento al gruppo 1, (b) al gruppo 2, (c) al gruppo 3 e (d) si riferisce ai tessuti maligni;

Il range di frequenze utilizzato varia dai 0.5 ai 20 GHz e vengono considerati tutti e tre i gruppi di campioni sani (grafici (a), (b) e (c)) nonché il gruppo singolo di campioni tumorali (grafico (d)). Le curve del modello Debye a polo singolo (linee tratto-punto) esibiscono un adattamento eccellente con le curve del modello Cole-Cole (cerchi) anche se bisogna notare che le curve del modello Debye a 2 poli (linee continue) risultano indistinguibili rispetto al modello Cole-Cole.

Nella seguente tabella vengono invece mostrati gli errori e per i modelli Debye a polo singolo ($N=1$) o polo doppio ($N=2$):

	Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	Gruppo Tumorale
N=1 (0.5-20 GHz)	11.2	43.2	19.1	13.5
N=2 (0.5-20 GHz)	0.23	0.90	0.49	0.28

Tab. 3.2 – Errori “ e ” calcolati per tutti e tre i gruppi e per i tessuti tumorali per un range di frequenze che va da 0.5 a 20 GHz. Ciò viene fatto sia per il modello Debye a polo singolo ($N=1$) che per il modello Debye a polo doppio ($N=2$);

Come si vede, con questo ampio range di frequenze, gli errori tendono a diminuire quando $N=2$. Per quanto riguarda gli altri parametri questi vengono settati come nella tabella 3.3 a pagina seguente (sempre per il range di frequenze che vanno da 0.5 a 20 GHz):

	Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	Tessuti Maligni
$\Delta\epsilon_{d1}$	20.81	19.64	0.58	25.61
$\Delta\epsilon_{d2}$	20.22	14.23	1.09	23.91
τ_{d1} (ps)	7.39	5.81	8.07	7.22
τ_{d2} (ps)	15.18	16.49	19.25	15.30
ϵ_{∞}	7.82	5.57	3.14	6.75
σ_s (S/m)	0.71	0.52	0.036	0.79

Tab. 3.3 – Parametri scelti per il calcolo del modello Debye per tutti e tre i gruppi di tessuti sani e per il gruppo di tessuti maligni per il range di frequenze che va da 0.5 a 20 GHz;

Da ciò è possibile concludere che il modello Debye a due poli è un’ottima soluzione al posto del corrispettivo modello Cole-Cole da 0.5 a 20 GHz. Allo stesso modo però si può dimostrare che il modello Debye a polo singolo può rappresentare una valida alternativa al modello Cole-Cole nel caso di un range di frequenze più ristretto che va da 3.1 a 10.6 GHz.

	Gruppo 1	Gruppo 2	Gruppo 3	Gruppo Tumorale
N=1 (3.1-10.6 GHz)	4.64	17.8	8.01	5.55

Tab. 3.4 – Errori “e” calcolati per tutti e tre i gruppi e per i tessuti tumorali per un range di frequenze che va da 3.1 a 10.6 GHz per il modello Debye a polo singolo;

CAPITOLO 4

Microwave Imaging via Space-Time ^[6]

Introduzione

Mentre nei capitoli precedenti si è trattato l'argomento della diagnosi dei tumori al seno da un punto di vista teorico o sperimentale andando a creare un database per raccogliere le proprietà dielettriche dei tessuti, di seguito verrà invece introdotto un argomento più pratico andando ad analizzare un nuovo metodo per la prevenzione precoce delle lesioni alla mammella. Tale tecnica, detta MIST (Microwave Imaging via Space-Time) si basa, come detto precedentemente, sulla trasmissione di microonde UWB presso i tessuti da analizzare e sullo studio dei segnali retro-diffusi i quali possono fornire importanti informazioni date dalle diverse proprietà dielettriche tra i tessuti sani e i tessuti tumorali. Il MIST è stato introdotto recentemente da un'equipe di ricercatori dell'Università del Wisconsin-Madison. Di seguito verranno descritti brevemente i vari componenti di questo metodo d'analisi.

Raggi X e introduzione al MIST

Attualmente la mammografia ai raggi X è la soluzione più comune per l'identificazione tempestiva del tumore al seno.

Tale tecnica di diagnosi è stata ideata all'inizio del 900 da A. Salomon il quale si era basato su 3000 campioni presi da pezzi operatori e materiale autoptico. Il vero padre della mammografia a raggi X è però da considerarsi Warren il quale porterà tale analisi presso il Memorial Hospital di Rochester. Egli partì dalla casuale osservazione che nel decubito obliquo, a braccio sollevato, la mammella poteva essere esaminata bene ai raggi X.

Warren realizza i primi patterns radiografici prevalentemente sui pezzi operatori ed autoptici, ma anche sul vivente, e li verifica con rilievi macroscopici ed istologici. Ciò nonostante però, questa nuova tecnica d'analisi fu inizialmente vista con scarsa convinzione dall'ambito medico in quanto non era ancora possibile effettuare la diagnosi di tumori di dimensioni relativamente piccole. In ogni caso, nel secondo dopoguerra, vi fu un sempre maggiore interesse verso la mammografia a raggi X favorendone la diffusione mondiale ^[3].

Purtroppo tale tecnologia presenta dei difetti che oggi risultano inaccettabili:

- non identificazione di tutti i tumori al seno al momento dello screening (circa il 15%);
- non identificazione precisa fra tumore benigno e maligno (circa i $\frac{3}{4}$ dei tumori diagnosticati si rivelano non essere maligni);
- limitata sensibilità e specificità;
- basso contrasto fra i tessuti sani e i tessuti malati;

Per tali motivi sono iniziate nuove ricerche per tecnologie alternative ma più efficienti. Una di queste è appunto il MIST. Tale metodo si basa sulle proprietà dielettriche dei tessuti presi in analisi in modo da migliorare notevolmente il contrasto dei risultati ottenuti e rivelare con maggior precisione anche i

tumori maligni più piccoli. Si è notato che tali proprietà non subiscono grandi modifiche con l'avanzamento del tumore e ciò suggerisce il fatto che è possibile diagnosticare la malattia anche ai primi stadi di sviluppo.

Il funzionamento del MIST è piuttosto semplice:

- Inizialmente viene inviata una sequenza di microonde verso i tessuti da analizzare attraverso una serie di antenne poste sulla superficie del seno. I segnali inviati sono UWB (ultrawideband) a bassa potenza i quali possono essere generati come una serie di impulsi nel dominio del tempo;
- Successivamente vengono ricevuti in ingresso tutti quei segnali retro-diffusi dai tessuti da analizzare per poter essere studiati (e quindi fornire la diagnosi richiesta);
- Il segnale di ritorno viene focalizzato in modo da poterlo discriminare efficientemente dai disturbi causati dall'eterogeneità dei tessuti sani della mammella;
- In seguito il segnale focalizzato viene archiviato in modo da permettere il calcolo della posizione del tessuto da cui proviene;
- I segnali tempo-allineati vengono passati attraverso una serie di filtri FIR (finite-impulse response) i cui pesi sono calcolati attraverso la tecnica dei minimi quadrati;
- Viene infine calcolata l'energia del segnale derivante da quella data posizione. In presenza di tessuto maligno l'energia risulterà maggiore rispetto a quella calcolata in presenza di tessuto sano;
- Cambiando il tempo di shift e i pesi dei filtri FIR sarà possibile scannerizzare differenti posizioni. In questo modo quindi si potrà analizzare nel complesso l'intero tessuto;
- Infine l'energia del segnale retro-diffuso viene mostrata via display all'utente per avere un'idea generale della situazione clinica del paziente;

E' utile inoltre puntualizzare il fatto che il segnale di ritorno in uscita dal MIST può essere oggetto di ulteriori e approfonditi studi al fine di conoscere le proprietà locali del tessuto analizzato. Tale analisi potrà probabilmente essere utile in futuro per una più dettagliata caratterizzazione del tumore. In ogni caso l'analisi post-beamforming va al di là dello scopo di questo scritto.

Tomografia e tecniche UWB radar

Prima dell'avvento del MIST erano state proposte altre due tecniche di microwave imaging per la localizzazione del tumore al seno: la tomografia e le tecniche UWB radar.

La tomografia ebbe i primi sviluppi attorno agli anni 30 dello scorso secolo ad opera del radiologo italiano Alessandro Vallebona il quale la propose come una nuova tecnica radiologia. Attorno agli anni '80 però fu soppiantata dalle nuove tecniche digitali.

Per tomografia si intende quella tecnica spettroscopica che si prefissa l'obiettivo di rappresentare il corpo umano (o una parte di esso) oppure dei generici campioni a strati. Tale tecnica si contrappone alla tecnologia radiografica convenzionale (nel nostro caso la mammografia a raggi X) che dispone sulla superficie bidimensionale della lastra tutto lo spessore del corpo o oggetto.

La tomografia non trova impiego soltanto in ambito medico ma anche in altre discipline come l'archeologia, la scienza dei materiali oppure la chimica ^[3].

Lo scopo della tomografia a microonde è quello di recuperare le informazioni sulle proprietà dielettriche dei tessuti attraverso la misurazione dei segnali a microonde a banda stretta trasmessi nella mammella. I problemi di questa tecnica sono però molti.

- è richiesto un algoritmo complesso per poter trarre delle conclusioni soddisfacenti;
- è richiesto un grande numero di antenne attorno alla superficie del seno per trasmettere e ricevere i segnali;

Le tecniche UWB radar invece appartengono alla stessa classe del metodo MIST in quanto, a differenza della tomografia, non tentano di ricostruire le proprietà dielettriche ma, invece, cercano di identificare la presenza e la posizione di significativi “scatterers” nel seno. In ogni caso il MIST beamforming offre, come vedremo di seguito, un significativo miglioramento rispetto a tale tecnica.

Rimozione degli artefatti

Per artefatto si intendono tutti quei disturbi che coinvolgono i segnali analogici, digitali o le immagini. Ciò può essere dovuto a diversi motivi come, per esempio, alle tecniche di acquisizione o codifica del segnale stesso. In generale quindi per “artefatto” si intendono tutti quei fattori introdotti nella rappresentazione ma che in realtà non sono presenti nell’oggetto fisico.

In generale la ricerca degli artefatti ricopre un ruolo determinante in ambito biomedico in quanto la presenza di disturbi nel segnale/immagine da analizzare può rendere assai difficoltosa la diagnosi finale o, addirittura, può distorcere i risultati creando i cosiddetti falsi positivi o falsi negativi.

Per tali motivi, oltre all’algoritmo per il MIST beamforming esiste anche un algoritmo per la riduzione degli artefatti per l’ottimizzazione dei segnali ricevuti derivanti dal backscatter dell’interfaccia pelle-seno in analisi.

Si consideri un array di N antenne e sia i^{th} il segnale ricevuto dall’antenna $b_i(t)$. Ogni forma d’onda contiene i contributi dovuti all’interfaccia pelle-seno. Tali artefatti sono simili fra loro ma non uguali a causa della differenza di spessore della pelle (se fossero uguali basterebbe sottrarre un valore costante in tutti gli N canali). E’ quindi necessario compensare questi disturbi stimando gli artefatti canale per canale come mostrato in figura 4.1:

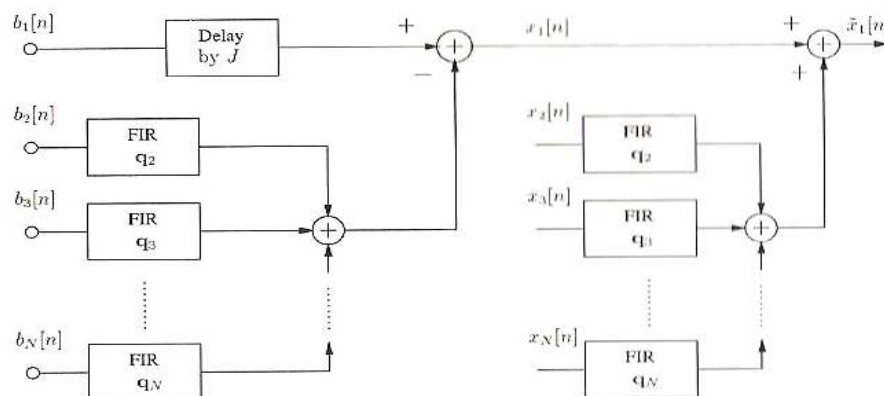


Fig. 4.1 – Diagrammi a blocchi che mostra l’algoritmo per la rimozione degli artefatti (dovuti all’interfaccia pelle-seno) dal segnale retro-diffuso ricevuto dalla prima delle N antenne;

Supponiamo che gli artefatti vengano rimossi dalla prima antenna. La risposta dell'interfaccia pelle-seno all' n -esimo campione nel primo canale è stimabile come $2J+1$ successivi campioni centrati nell' n -esimo campione in ognuno degli altri $N-1$ canali. Definiamo quindi $\mathbf{b}_i[n]$ (forma d'onda i -esima ricevuta) e \mathbf{q}_i (filtro FIR) come segue:

$$(1) \quad \mathbf{b}_i[n] = [b_i[n-J], \dots, b_i[n], \dots, b_i[n+J]]^T, \quad 2 \leq i \leq N$$

$$(2) \quad \mathbf{q} = \arg \min_{\mathbf{q}} \sum_{n=n_0}^{n_0+m-1} |b_1[n] - \mathbf{q}^T \mathbf{b}_{2N}[n]|^2$$

La soluzione di questo problema di minimizzazione è dato da:

$$(3) \quad \mathbf{q} = \mathbf{R}^{-1} \mathbf{p}$$

$$(4) \quad \mathbf{R} = \frac{1}{m} \sum_{n=n_0}^{n_0+m-1} \mathbf{b}_{2N}[n] \mathbf{b}_{2N}^T[n]$$

$$(5) \quad \mathbf{p} = \frac{1}{m} \sum_{n=n_0}^{n_0+m-1} \mathbf{b}_{2N}[n] b_1[n].$$

Brevemente, per far in modo che il rumore non venga amplificato è necessario sostituire \mathbf{R} con un nuovo valore chiamato \mathbf{R}_p :

$$(6) \quad \mathbf{R}_p = \sum_{i=1}^p \lambda_i \mathbf{u}_i \mathbf{u}_i^T, \quad 1 \leq i \leq p$$

Dove i vari λ_i sono i p autovalori e i vari \mathbf{u}_i i corrispondenti autovettori. Sostituendo \mathbf{R}_p^{-1} nella formula (3) possiamo ricavare i pesi dei vari filtri. A questo punto gli artefatti possono essere rimossi dai dati in ingresso del primo canale per creare dei nuovi dati $x_1[n]$ liberi da disturbi:

$$(7) \quad x_1[n] = b_1[n] - \mathbf{q}^T \mathbf{b}_{2N}[n]$$

Il problema di questo algoritmo è che viene introdotto un fattore di distorsione nel segnale retro-diffuso del tessuto maligno. Questo è dovuto al fatto che la risposta tumorale degli altri $N-1$ canali viene sommata nuovamente nel primo canale. In ogni caso, tale fattore di distorsione è molto basso e quindi l'errore da esso dovuto non è molto consistente.

MIST Beamforming

L'immagine dell'energia del segnale retro-diffuso visualizzato come una funzione di scansione delle posizioni \mathbf{r} è ottenuta applicando uno space-time beamformer, il quale, per ogni scansione, forma una combinazione ponderata di ritardi temporali del segnale retro-diffuso come mostrato nella figura 4.2.

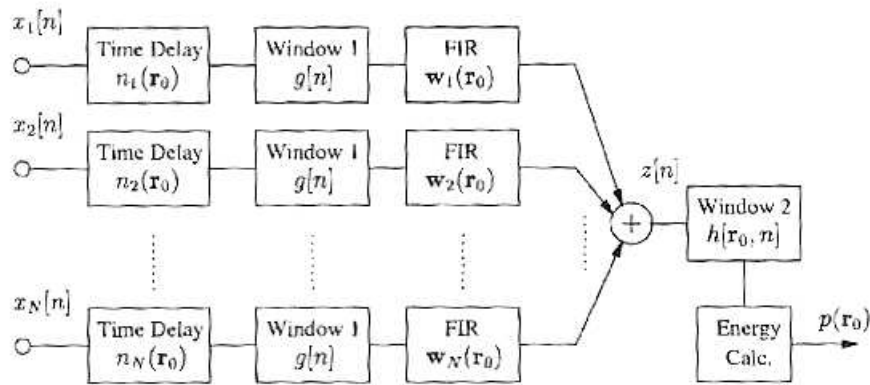


Fig. 4.2 – Diagrammi a blocchi che mostra il processo di beamforming del MIST per la localizzazione di \mathbf{r}_0 nel seno;

Lo scopo dello space-time beamformer è quello di lasciar passare immutati (con guadagno unitario) i segnali di retro-diffusione dovuti ad una specifica posizione \mathbf{r}_0 e, invece, attenuare il più possibile tutti quei segnali dovuti a posizioni \mathbf{r} diverse.

Per raggiungere tale scopo si assuma che il segnale ricevuto dall' i -esimo canale contenga solo la porzione di segnale retro-difuso dovuto ad una lesione (tessuto tumorale) posizionata a \mathbf{r}_0 . Tale segnale verrà denominato $x_i[n]$ e ha trasformata di Fourier come segue:

$$(8) \quad \mathbf{X}_i(\omega) = \mathbf{I}(\omega)\mathbf{S}_{ii}(\mathbf{r}_0, \omega), \quad 1 \leq i \leq N$$

Dove si ha:

- $\mathbf{I}(\omega)$: trasformata di Fourier del segnale $i(t)$ inviato verso il tessuto da analizzare;
- $\mathbf{S}_{ii}(\mathbf{r}_0, \omega)$: modello analitico della risposta in frequenza associata con la propagazione attraverso il tessuto dall' i -esima antenna fino a \mathbf{r}_0 e ritorno;

Quest'ultimo segnale viene quindi ritardato di un numero intero di campioni (vedi formula 9) in modo che i segnali di ogni canale siano approssimativamente allineati nel tempo

$$(9) \quad \mathbf{n}_i(\mathbf{r}_0) = \mathbf{n}_a - \boldsymbol{\tau}_i(\mathbf{r}_0)$$

Andando ad analizzare la (9) possiamo notare che:

- $\boldsymbol{\tau}_i(\mathbf{r}_0)$ rappresenta il ritardo dovuto al viaggio d'andata e ritorno del segnale attraverso il tessuto. Ciò viene fatto dividendo la lunghezza del cammino per la velocità media di propagazione e arrotondando il risultato;
- \mathbf{n}_a è il riferimento temporale entro il quale tutti i segnali ricevuti sono allineati;

n_a viene scelto come il caso peggiore di ritardo fra tutti i canali, quindi si ha:

$$(10) \quad n_a \geq \text{round}(\max_{i, \mathbf{r}_0} \tau_i(\mathbf{r}_0)).$$

successivamente al segnale tempo-allineato viene applicata una finestra $g[n]$ prima dello stadio di filtraggio in modo da rimuovere eventuali disturbi:

$$(11) \quad g[n] = \begin{cases} 1, & n \geq n_a \\ 0, & \text{otherwise.} \end{cases}$$

Gli obiettivi principali del successivo filtro FIR sono i seguenti:

- equalizzare la lunghezza del cammino che affronta il segnale e dalla quale dipendono eventuali dispersioni ed attenuazioni;
- interpolare ogni ritardo rimanente dopo il grossolano allineamento temporale;
- filtrare il segnale tramite un passabanda;

Il filtro FIR dell' i -esimo canale ha dei coefficienti rappresentati nel seguente vettore $L \times 1$

$$\mathbf{w}_i = [w_{i0}, w_{i1}, \dots, w_{i(L-1)}]^T$$

Dove la lunghezza L è stata calcolata empiricamente in modo da migliorare il più possibile le prestazioni del filtro stesso. La risposta in frequenza di ogni filtro è quindi scrivibile come:

$$(12) \quad W_i(\omega) = \sum_{\ell=0}^{L-1} w_{i\ell} e^{-j\omega\ell T_s} = \mathbf{w}_i^T \mathbf{d}(\omega)$$

con $\mathbf{d}(\omega) = [1, e^{-j\omega T_s}, \dots, e^{-j\omega(L-1)T_s}]^T$

dove T_s rappresenta l'intervallo di campionamento.

Per rendere unitario il guadagno e lineare lo sfasamento è richiesto che valga:

$$(13) \quad \sum_{i=1}^N S_{ii}(\mathbf{r}_0, \omega) e^{-j\omega n_i(\mathbf{r}_0)} W_i(\omega)$$

$$= \sum_{i=1}^N \tilde{S}_{ii}(\mathbf{r}_0, \omega) e^{-j\omega \tau_i(\mathbf{r}_0)} e^{-j\omega n_i(\mathbf{r}_0)} \mathbf{w}_i^T \mathbf{d}(\omega)$$

$$\approx e^{-j\omega(T_s(L-1)/2 + n_a)}.$$

Dove:

- $\underline{S}_{ii}(\mathbf{r}_0, \omega)$ è la risposta in frequenza data dalla propagazione dopo l'eliminazione dello sfasamento lineare associato al ritardo dovuto al viaggio di diffusione fino a \mathbf{r}_0 e ritorno, $\tau_i(\mathbf{r}_0)$;
- $T_s(L-1)/2$ rappresenta il ritardo medio introdotto dal filtro FIR;

volendo ora riuscire a stabilire dei vincoli su \mathbf{w}_i possiamo ottenere:

$$(14) \quad \sum_{i=1}^N \tilde{S}_{ii}(\mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{w}_i^T \mathbf{d}(\omega) \approx e^{-j\omega T_s(L-1)/2}.$$

Se tale vincolo viene soddisfatto allora la somma degli output dei filtri FIR (chiamata $z[n]$) ha la seguente trasformata di Fourier:

$$(15) \quad Z(\omega) = \mathbf{I}(\omega) e^{-j\omega(T_s(L-1)/2 + n_a)}$$

A questo punto $z[n]$ viene passato attraverso la finestra $h[\mathbf{r}_0, n]$ per eliminare ulteriori disturbi. Quindi viene calcolata l'energia del segnale fin'ora ottenuto come segue:

$$(16) \quad p(\mathbf{r}_0) = \sum_n |z[n] h[\mathbf{r}_0, n]|^2$$

FIR Filter Design

Andiamo ora ad analizzare brevemente il filtro FIR e la finestra $h[\mathbf{r}_0, n]$ applicata alla somma delle uscite dei filtri stessi.

Consideriamo il seguente vettore $NL \times 1$ che rappresenta i pesi del filtraggio:

$$(17) \quad \mathbf{w} = [\mathbf{w}_1^T, \dots, \mathbf{w}_N^T]^T$$

Possiamo riscrivere la formula (14) come segue:

$$(18) \quad \mathbf{w}^T \mathbf{d}(\mathbf{r}_0, \omega) \approx e^{-j\omega T_s(L-1)/2}$$

Dove il vettore $NL \times 1$ $\mathbf{d}(\mathbf{r}_0, \omega)$ è dato da:

$$(19) \quad \mathbf{d}(\mathbf{r}_0, \omega) = \begin{bmatrix} \tilde{S}_{11}(\mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{d}(\omega) \\ \tilde{S}_{22}(\mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{d}(\omega) \\ \vdots \\ \tilde{S}_{NN}(\mathbf{r}_0, \omega) \mathbf{d}(\omega) \end{bmatrix}$$

Il filtro viene progettato in modo da approssimare al meglio la formula (18) in una densa griglia di M distinte frequenze lungo la banda $[\omega_l, \omega_u]$.

Per assicurarsi che \mathbf{w} sia a valori reali si usano coppie di frequenze positive e negative per poi costruire la griglia. Definiamo quindi una matrice contenente i vari $\mathbf{d}(\mathbf{r}_0, \omega)$ per ognuna delle M frequenze come segue:

$$(20) \quad \mathbf{A} = [\mathbf{d}(\mathbf{r}_0, \omega_1, \dots, \mathbf{d}(\mathbf{r}_0, \omega_M)]$$

A questo punto l'equazione (18) è espressa sulla banda $[\omega_l, \omega_u]$ come un sistema di M equazioni in NL incognite

$$(21) \quad \mathbf{w}^T \mathbf{A} \approx \mathbf{f}_d$$

Dove

$$(22) \quad \mathbf{f}_d = [e^{-j\omega_1 T_s(L-1)/2}, \dots, e^{-j\omega_M T_s(L-1)/2}]$$

A questo punto \mathbf{w} viene riscritto come segue:

$$(23) \quad \mathbf{w} = (\mathbf{A}\mathbf{A}^H)^{-1} \mathbf{A}\mathbf{f}_d^H$$

Dove la matrice \mathbf{A} deve essere ben condizionata. In caso contrario infatti ciò potrebbe causare dei problemi in quanto il guadagno delle posizioni oltre \mathbf{r}_0 potrebbe essere notevole, amplificando quindi il rumore finale.

La robustezza del beamformer agli errori tra la propagazione effettiva ed assunta del modello è inoltre proporzionale al guadagno del rumore. Perciò è necessario trovare un compromesso in modo da controllare contemporaneamente il guadagno del rumore e la robustezza del beamformer. Per questo \mathbf{w} viene scelto come soluzione del seguente problema

$$(24) \quad \min_{\mathbf{w}} \|\mathbf{w}^T \mathbf{A} - \mathbf{f}_d\|_2^2 + \lambda \|\mathbf{w}\|_2^2$$

Dove λ è una costante opportunamente scelta. Concludendo quindi \mathbf{w} risulta

$$(25) \quad \mathbf{w} = (\mathbf{A}\mathbf{A}^H + \lambda \mathbf{I})^{-1} \mathbf{A}\mathbf{f}_d^H$$

Window Design

Se il beamformer soddisfa l'equazione (14) allora l'output $z[n]$ è una versione time-shifted, attenuata e campionata dell'impulso $i(t)$ trasmesso. Se si conoscono il time-shift e la forma dell'impulso allora contemporaneamente si conosce il set di campioni $z[n]$ che contengono il segnale retro-disperso dovuto al tumore.

Se il segnale retro-diffuso occupa la posizione temporale n_h attraverso $n_h + l_h$ in $z[n]$, allora la scelta più ovvia per la finestra risulta essere

$$h[\mathbf{r}_0, n] = \begin{cases} 1, & n_h \leq n \leq n_h + l_h \\ 0, & \text{otherwise} \end{cases}$$

Tale scelta riduce gli effetti che apportano confusione assicurando che il segnale d'energia in uscita (16) sia calcolato usando solamente i campioni di $z[n]$ contenenti il segnale retro-diffuso dalla zona lesionata della mammella.

In altre parole lo spargimento del segnale da parte delle cellule tumorali è frequenza-dipendente e, quindi, il segnale retro-diffuso è una versione distorta dell'impulso trasmesso. Questi effetti dispersivi provocano un aumento della durata del segnale retro-diffuso. Inizialmente si era scoperto che tale aumento è direttamente proporzionale alla dimensione del tumore sotto analisi. Dato che lo scopo principale del MIST è quello di riuscire ad identificare anche i tumori più piccoli, la scelta della finestra $h[\mathbf{r}_0, n]$ è stata fatta assumendo i tumori come puntiformi. Questo garantisce la massima grandezza del rapporto (S/C) così definito:

$$\frac{S}{C} = \frac{\text{Segnale trasmesso}}{\text{Segnale di disordine}}$$

Da ciò deriva il fatto che il segnale ricevuto sia il più pulito possibile. Lo stesso rapporto (S/C) però si riduce notevolmente in caso di tumori di dimensioni maggiori. Tuttavia, in quest'ultimo caso, il segnale retro-diffuso dai tumori risulta molto più forte e, perciò, il rapporto (S/C) non è più così importante per la rilevazione del cancro.

In ultima analisi notiamo che anche finestre più affusolate (come per esempio il coseno rialzato) potrebbero essere usate per preservare l'energia del segnale attenuando il rumore.

2-D Space-Time Beamformer

Presentiamo brevemente il 2-D Space-Time Beamformer. Teoricamente tale tecnica è generalizzabile anche al caso 3-D però, per semplicità di analisi ci soffermiamo solo al caso 2-D.

Dividiamo questo capitolo in due sotto-paragrafi:

- A) 2-D Propagation Model: in questo paragrafo verrà descritto il 2-D Propagation Model usato per progettare il beamformer;
- B) 2-D Beamformer Design: in questa sezione verranno analizzati i parametri di progetto del 2-D beamformer;

A. 2-D Propagation Model

Gli effetti di propagazione frequenza-dipendenti sono incorporati nel progetto dello space-time beamformer attraverso una risposta in frequenza monostatica, $S_{ii}(\mathbf{r}, \omega)$. Questi mettono in relazione il segnale inviato dall' i -esima antenna con il segnale ricevuto dalla medesima antenna (segnale causato da un tumore situato in \mathbf{r}). Trattiamo lo "scatterer" come un conduttore cilindrico di lunghezza infinita e raggio infinitesimale se confrontato con le piccole lesioni al seno le quali siamo intenzionati ad individuare. In questo caso si avrà

$$(26) \quad S_{ii}(\mathbf{r}, \omega) = \left[\frac{1}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i|^{1/2}} e^{-\alpha(\omega)|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i|} e^{-j\beta(\omega)|\mathbf{r} - \mathbf{r}_i|} \right]^2$$

Dove $\alpha(\omega)$ è il fattore di attenuazione frequenza-dipendente e $\beta(\omega)$ è la costante di fase frequenza-dipendente. E' stato riscontrato che approssimare il segnale di propagazione come un'onda cilindrica uniforme offre dei risultati i quali non variano significativamente rispetto a quelli dati da un più accurato modello di propagazione basato sulla funzione Hankel.

Viene inoltre assunto nell'equazione (32) che la permittività (grandezza fisica che descrive come un campo elettrico influenza ed è influenzato da un mezzo dielettrico) e la conduttività (inverso della resistività elettrica), le quali sono incorporate in $\alpha(\omega)$ e $\beta(\omega)$, sono costanti, valutate nel picco dello spettro del segnale d'ingresso.

B. 2-D Beamformer Design

Di seguito elenchiamo rapidamente i parametri utilizzati per ottimizzare un 2-D beamformer:

- 1) La regione che il 2-D beamformer è progettato per scansionare comprende un intervallo di 10 cm e una profondità di 4 cm;
- 2) L'impulso trasmesso è un segnale gaussiano differenziato con un picco vicino ai 6 GHz e una parte significativa dell'energia compresa fra 1 e 11 GHz. Perciò il beamformer è progettato;
- 3) Vengono assunti 50 GHz come frequenza di campionamento del beamformer;
- 4) Il numero di campioni usato è $M = 1000$;

- 5) La lunghezza di ogni filtro FIR è $L = 45$;
- 6) Il parametro λ della formula (24) è fissato a 5;

Da notare che M e L vengono scelti affinché la formula (18) sia approssimata al meglio.

Le seguenti immagini mostrano l'ideale capacità di discriminazione spaziale del 2-D beamformer progettato come descritto fin'ora. Il guadagno del beamformer, definito come la potenza di output dovuta ad un idealizzato punto di scatterer (letteralmente "spargitore", ossia il componente che causa la riflessione del segnale inviato) immerso in un ambiente omogeneo, è tracciato in una scala in decibel (dB) come una funzione della posizione dello scatterer. Diamo tre diverse versioni del progetto:

- 1) Nella figura 4.3 (a) viene mostrato il guadagno del modello con un picco a (5.0 cm, 3.1 cm) per il caso in cui il beamformer è progettato per lasciar passare i segnali retro-diffusi originati da questa posizione con guadagno unitario:

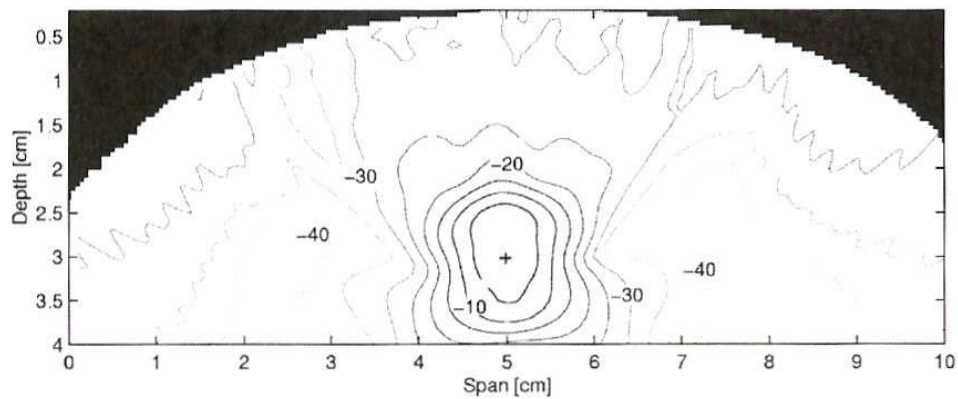


Fig. 4.3 (a) – Guadagno del beamformer come funzione di posizione a 5.0 cm, 3.1 cm;

- 2) Nella figura 4.3 (b) si applica lo stesso procedimento del progetto illustrato nella figura 3(a) considerando però posizioni più superficiali:

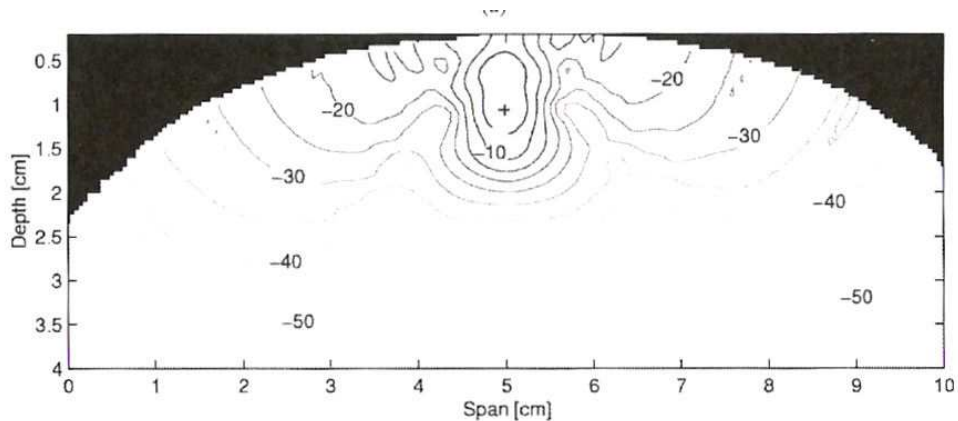


Fig. 4.3 (b) – Guadagno del beamformer come funzione di posizione a 5.0 cm, 1.1 cm;

- 3) Nella figura 4.3 (c) viene mostrato il guadagno del modello con una posizione di progetto (8.0 cm, 2.1 cm) che è fuori-centro rispetto all'allineamento di antenne:

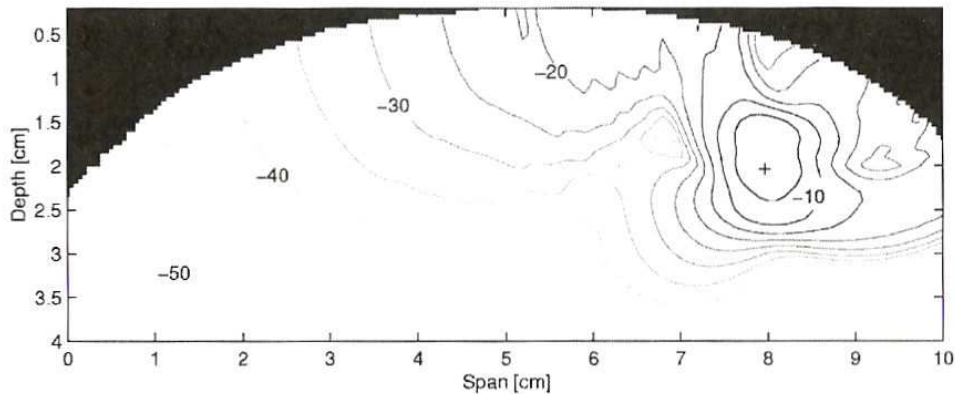


Fig. 4.3 (c) – Guadagno del beamformer come funzione di posizione a 8.0 cm, 2.1 cm;

Conclusioni

Come detto precedentemente lo scopo principale del metodo MIST è quello di individuare preventivamente tumori maligni molto piccoli nel seno. I risultati finali di questo progetto mostrano che tale metodo è eccezionalmente robusto. Infatti grazie alle proprietà del MIST, l'immagine dovuta al segnale retro-diffuso di un tumore di 2 mm di diametro si distingue significativamente rispetto al rumore generato dalla naturale variazione della composizione adiposa e fibrogliandolare del seno umano. Per questo è possibile identificare anche tumori di dimensioni ridotte indipendentemente dalla loro posizione. L'identificazione delle lesioni maligne avviene con successo anche quando il contrasto tra tessuto sano e tessuto tumorale risulta molto piccolo a causa della presenza di un tessuto adiposo più denso del normale. Inoltre, i piccoli tumori vengono ancora identificati anche quando esiste una forte discrepanza fra le proprietà dielettriche medie del tessuto sano assunte nel progetto del beamformer e le effettive proprietà dielettriche medie riscontrate nel tessuto della mammella in corso di scansione (da ciò deriva il fatto che non è necessario conoscere a priori le informazioni riguardanti le proprietà dielettriche specifiche del paziente da esaminare).

Per quanto riguarda gli algoritmi dediti all'eliminazione degli artefatti dal segnale di ritorno proveniente dalle cellule tumorali, questi funzionano adeguatamente garantendo un ottimo segnale finale e impedendo l'offuscamento delle lesioni maligne del seno. Tali algoritmi utilizzano solamente i segnali di retro-diffusione e non richiedono nessuna informazione a priori riguardanti le proprietà dielettriche o lo spessore della pelle.

CAPITOLO 5

Conclusioni finali

Conclusioni finali

Lo scopo principale di questo scritto era quello di dare una rapida panoramica sulle moderne tecniche per la diagnosi tempestiva di tumori alla mammella. Per fare ciò, come si è visto, sono state trattate tre diverse ricerche tutte riguardanti il (o in preparazione al) MIST il quale si pone come nuova base per le diagnosi future.



Fig. 5.1 – Carcinoma mammario asportato chirurgicamente ^[3];

Una delle principali novità apportate da questo tipo di tecnologia è sicuramente la possibilità di individuare tempestivamente la malattia (come già accennato più volte). Questo fattore infatti risulta assolutamente indispensabile per assicurare una buona riuscita della cura nei confronti del cancro. Attualmente le tecniche per il riconoscimento di questa tipologia di lesione sono molte, ognuna con pregi e difetti propri (di seguito si elencano solo le principali) ^[8]:

- **Mammografie:** Si tratta di un'indagine radiologica della mammella (raggi X), che risulta particolarmente utile per individuare modificazioni iniziali della ghiandola mammaria quando può essere difficile palpare un nodulo. Per alcune donne la mammografia è fastidiosa in quanto si deve esercitare una certa pressione sulle mammelle. Inoltre non sempre i tumori molto piccoli vengono ben evidenziati come si vorrebbe.
- **Ecografia:** E' una metodica indolore che dura solo qualche minuto. E' una tecnica che utilizza le riflessioni di un fascio di ultrasuoni per formare un'immagine degli organi interni del nostro corpo. Di solito si esegue nelle donne di età inferiore a 35 anni, le cui mammelle sono troppo dense per essere ben visualizzate alla mammografia.

- **Agoaspirato:** E' una procedura semplice e di breve durata che si esegue in ambulatorio. Un ago sottile e una siringa vengono usati per prelevare un campione di cellule dal nodulo mammario; il campione viene quindi inviato in laboratorio per l'esame citologico, ossia per vedere se contiene cellule maligne.

Il MIST invece è in grado di offrire diversi pregi i quali lo rendono preferibile alle tecniche sopra citate:

- **Robustezza:** si è in grado di distinguere anche lesioni molto piccole rispetto al rumore del segnale retro-diffuso;
- **Specificità:** si è in grado di individuare le lesioni anche quando il contrasto tra tessuto sano e tessuto maligno risulta molto piccolo;
- **Indagini preliminari non richieste:** la diagnosi risulta fattibile anche quando esiste una forte discrepanza fra le proprietà dielettriche effettive e le proprietà dielettriche medie;
- **Diagnosi in tempo reale:** non è richiesto l'invio di campioni in laboratorio per ulteriori analisi;

RIFERIMENTI

Riferimenti Bibliografici nel Testo

- [1] Statistiche sul tumore al seno, *www.ribbonofpink.com* (2004).
- [2] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group. *Introduction and methods, sezioni riportate da: Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group Treatment of Early Breast Cancer. Vol 1. Worldwide Evidence 1985-1990.*
- [3] Enciclopedia multilingue collaborativa online gratuita *www.wikipedia.org*
- [4] Studio sulle proprietà dielettriche dei tessuti della mammella, *A large-scale study of ultrawideband microwave dielectric properties of normal, benign and malignant breast tissues obtained from cancer surgeries* (2007). Autori: Mariya Lazebnik, Dijana Popovic, Leah McCartney, Cynthia B Watkins, Mary J Lindstrom, Josephine Harter, Sarah Sewall, Travis Ogilvie, Anthony Magliocco, Tara M Breslin, Walley Temple, Daphne Mew, John H Booske, Michal Okoniewski e Susan C Hagness.
- [5] Modello Debye per le proprietà dielettriche dei tessuti della mammella, *Highly Accurate Debye Models for Normal and Malignant Breast Tissue Dielectric Properties at Microwave Frequencies* (2007). Autori: Mariya Lazebnik, Michal Okoniewski, John H. Booske e Susan C. Hagness.
- [6] MIST, *Microwave Imaging via Space-Time Beamforming for Early Detection of Breast Cancer* (2001-2002). Autori: Essex J. Bond, Xu Li, Susan C. Hagness e Barry D. Van Veen
- [7] A. Taflove e S. C. Hagness, *Computational Electrodynamics: The Finite-Difference Time-Domain Method*, 3rd ed. Boston, MA: Artech House. 2005.
- [8] Metodi di diagnosi del tumore al seno, *www.dica33.it* (2003)