

# POLITECNICO DI TORINO

---

DIPARTIMENTO DI ELETTRONICA E TELECOMUNICAZIONI

Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

## Progettazione e Realizzazione di un Prototipo Bicanale Portatile per la Spettroscopia nell'Infrarosso Vicino (NIRS)



**Candidato:**

Michele DESOGUS

**Relatore:**

Prof. Marco KNAFLITZ

a.a. 2018/2019

# Indice

<b>1</b>	<b>Introduzione</b>	<b>4</b>
1.1	Fisiologia Cerebrale . . . . .	4
1.1.1	Poligono di Willis . . . . .	4
1.1.2	Metabolismo Cerebrale . . . . .	5
1.1.3	Flusso Ematico Cerebrale e Pressione di Perfusione Cerebrale . . . . .	6
1.1.4	Pressione Intracranica . . . . .	7
1.1.5	Meccanismo di Autoregolazione . . . . .	8
1.2	Obiettivo della tesi . . . . .	10
<b>2</b>	<b>Near Infrared Spectroscopy (NIRS)</b>	<b>12</b>
2.1	Stato dell'Arte . . . . .	13
2.2	Metodi Matematici . . . . .	13
2.3	Tecniche . . . . .	16
2.3.1	CW NIRS . . . . .	16
2.3.2	SRS NIRS . . . . .	17
2.3.3	TRS NIRS . . . . .	17
2.3.4	PMS NIRS . . . . .	18
2.4	Tecnica Sviluppata . . . . .	19
<b>3</b>	<b>Design dell'Hardware</b>	<b>21</b>
3.1	Le Sonde . . . . .	21
3.1.1	Sonda Emittente . . . . .	22
3.1.2	Sonda Ricevente . . . . .	23
3.2	Main Board . . . . .	28

---

3.2.1	Sistema di Ricarica Batteria . . . . .	29
3.2.2	Sistema di Alimentazione . . . . .	30
3.2.3	Sistema di Pilotaggio della Sonda Emittente . . . . .	32
3.2.4	Altre componenti . . . . .	34
3.3	Layout del Prototipo . . . . .	37
<b>4</b>	<b>Design del Firmware</b>	<b>39</b>
4.1	Diagramma di Fase . . . . .	39
4.2	<i>Flow Chart</i> e Descrizione del Codice . . . . .	41
4.2.1	Inizializzazione e Verifica dello Stato del <i>Device</i> . . . . .	42
4.2.2	<i>Waiting</i> . . . . .	43
4.2.3	<i>Setting</i> . . . . .	44
4.2.4	<i>DownLoad</i> . . . . .	44
4.2.5	<i>Visualization</i> . . . . .	45
4.2.6	<i>Recording</i> . . . . .	48
4.2.7	<i>Recording+Visualization</i> . . . . .	50
<b>5</b>	<b>Design del Software</b>	<b>52</b>
5.1	Descrizione dell'Interfaccia Utente . . . . .	52
5.1.1	Setting Page . . . . .	52
5.1.2	Visualization Page . . . . .	54
5.1.3	MicroSD Reading Page . . . . .	56
5.1.4	Data Viewer . . . . .	57
<b>6</b>	<b>Risultati e Discussione</b>	<b>59</b>
6.1	Test dell'Hardware . . . . .	59
6.2	Test sui soggetti . . . . .	61
6.2.1	Descrizione e Commento dei Risultati . . . . .	63
6.3	Confronto con un Dispositivo Commerciale . . . . .	65
6.3.1	Risultati del Confronto . . . . .	66
6.4	Criticità . . . . .	69

<b>7 Conclusioni</b>	<b>71</b>
7.1 Sviluppi Futuri . . . . .	72

# Capitolo 1

## Introduzione

### 1.1 Fisiologia Cerebrale

Il cervello è un organo estremamente complesso che, nonostante costituisca solo il 2% della massa corporea (in media 1400 g), riceve il 12 – 15% del volume sistolico. Questa grande quantità di sangue consente ai tessuti cerebrali di ricevere un'adeguata perfusione e grandi quantità di glucosio ed di ossigeno, nutrienti necessari al cervello per mantenere lo stato di coscienza [1]. L'improvvisa riduzione del flusso ematico cerebrale (CBF) può causare in pochi secondi un'ischemia, la quale può provocare danni permanenti se si protrae per un tempo sufficientemente lungo (3-8 minuti) [2].

#### 1.1.1 Poligono di Willis

Il cervello riceve il sangue dall'arteria carotide interna e dalle arterie vertebrali che defluiscono attraverso le vene cerebrali ed i seni venosi durali nelle vene giugulari interne. L'insieme di questi due sistemi di arterie costituisce un'anastomosi chiamata Poligono (o Circolo) di Willis (Figura 1.1). Questo sistema arterioso è estremamente funzionale, essendo in grado di garantire un corretto apporto sanguigno all'encefalo anche in presenza di un'occlusione: nel momento in cui la via canonica presenta un ostacolo, l'interconnessione totale delle componenti fa sì che il sangue possa intraprendere una via alternativa.

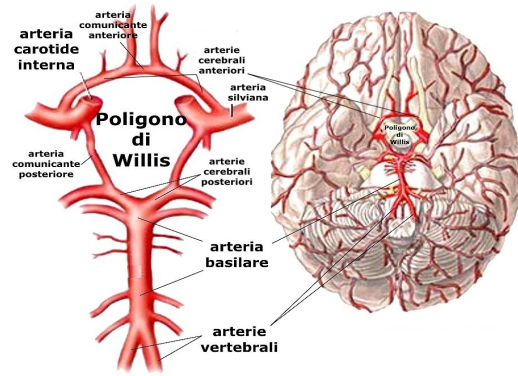


Figura 1.1: Poligono di Willis

### 1.1.2 Metabolismo Cerebrale

Il metabolismo cerebrale (*Cerebral Metabolic Rate*, CMR) è la quantità di substrati metabolici utilizzati dal cervello. Il cervello è l'organo con la richiesta metabolica più elevata, incidendo per il 20% sul consumo basale di ossigeno. Una correlazione tra il metabolismo dell'ossigeno (*Cerebral Metabolic Rate Oxygen*,  $CMRO_2$ ) ed il flusso ematico cerebrale (*Cerebral Blood Flow*, CBF) è data dall'equazione:

$$CMRO_2 = CBF \cdot (A - V)_{O_2} \quad (1.1)$$

dove  $(A - V)_{O_2}$  è la differenza fra la quantità di ossigeno contenuta in vena ed in arteria. L'encefalo è essenzialmente costituito da due tipi di tessuti: la materia grigia e la materia bianca. I due tessuti svolgono attività molto diverse: la materia grigia svolge la funzione di selezione ed di avviamento delle informazioni e delle attività motorie; la materia bianca presiede al collegamento ed alle interazioni degli stimoli motori. Le funzioni meno complesse svolte dalla materia bianca comportano un minore afflusso di sangue. Di conseguenza, poichè il flusso ematico cerebrale varia in risposta alla domanda metabolica, il fabbisogno di ossigeno della materia grigia è fino a cinque volte maggiore di quello della materia bianca [1].

Il glucosio, molecola fondamentale per il cervello, è utilizzato per la produzione di ATP (Adenosina Trifosfato) durante la glicolisi (Figura 1.2).

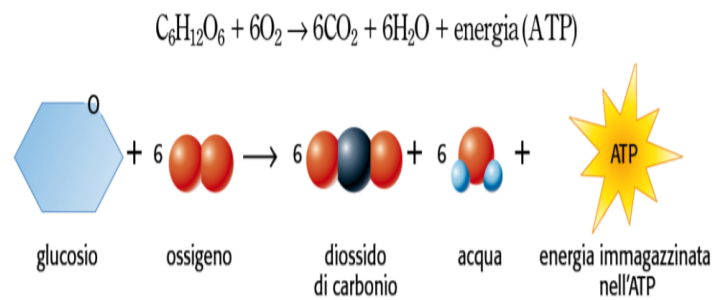


Figura 1.2: Processo di Glicolisi: il glucosio reagisce con 6 molecole d'ossigeno ottenendo diossido di carbonio, acqua ed energia sotto forma di ATP.

L'ATP viene ossidato successivamente in ADP (Adenosina Difosfato) liberando energia. Il 60% dell'energia prodotta è utilizzata per le attività del cervello, mentre la restante parte (40%) è utilizzata per l'omeostasi delle cellule. Sotto metabolismo aerobico, da una molecola di glucosio si ottengono 38 molecole di ATP; al contrario, se il metabolismo è anaerobico, le molecole di ATP prodotte da una molecola di glucosio sono solo due. È questo uno dei motivi principali per cui, in caso di interruzione, è necessario ripristinare il prima possibile il metabolismo aerobico.

### 1.1.3 Flusso Ematico Cerebrale e Pressione di Perfusione Cerebrale

L'equazione di Hagen-Poiseuille è quella che meglio descrive il CBF nel caso di flusso laminare:

$$\text{CBF} = \frac{\pi \Delta P r^4}{8 \mu l} \quad (1.2)$$

dove  $\pi$  è una costante matematica,  $\Delta P$  è la pressione di perfusione cerebrale (*Cerebral Perfusion Pressure*, CPP),  $r$  è il calibro del vaso,  $\mu$  è la viscosità dinamica del sangue ed  $l$  è la lunghezza del vaso sanguigno. La CPP è data dal gradiente pressorio tra il sistema circolatorio venoso ed arterioso e, nel cervello, questo parametro è influenzato anche dalla pressione intracranica (*Intracranical Pressure*, ICP). In un adulto la CPP è calcolata utilizzando la seguente equazione:

$$\text{CPP} = \text{MAP} - (\text{CVP} + \text{ICP}) \quad (1.3)$$

dove MAP (*Mean Arterial Pressure*) è la pressione arteriosa media e CVP (*Central Venous Pressure*) è la pressione venosa centrale. In un adulto sano la CPP oscilla tra i 70 ed i 90 mmHg ed il CBF è costante; se la CPP scende sotto i 50 mmHg, il rischio di ischemia cerebrale aumenta. La resistenza cerebrovascolare (*Cerebrovascular Resistance*, CVR), parametro strettamente legato al calibro dei vasi, è l'ostacolo principale del CBF. Come si evince dalla seguente equazione, i due parametri sono inversamente proporzionali:

$$\text{CBF} = \frac{\text{CPP}}{\text{CVR}} \quad (1.4)$$

Pertanto, quando si verifica vasodilatazione la CVR si riduce e il CBF aumenta; di contro, in caso di vasocostrizione assistiamo al fenomeno opposto.

Da segnalare inoltre l'esistenza di numerosi mediatori (tra i quali ioni idrogeno, potassio, CO<sub>2</sub>) capaci di influenzare la CBF. Tale influenza è tuttavia trascurabile rispetto alle variazioni causate dalla richiesta metabolica locale.

### 1.1.4 Pressione Intracranica

Il volume del cervello ed i suoi costituenti all'interno della scatola cranica, secondo le ipotesi di Monro-Kellie [3], sono finiti e non possono essere compressi. Ne consegue che all'interno della scatola cranica la pressione rimane costante finché il volume del suo contenuto rimane invariato. Teoricamente è possibile dividere il contenuto intracranico in tre diversi componenti: il volume del cervello (circa l'85%), il fluido cerebrospinale (*Cerebrospinal Fluid*, CSF) (circa il 10%) ed il sangue (5%). L'ICP è strettamente legata alla postura: negli adulti in posizione supina il suo valore è pari a 5-15 mmHg. L'aumento dell'ICP sopra una soglia critica non è tollerato in quanto causa una riduzione della pressione di perfusione cerebrale unitamente a possibili compressioni locali nel tessuto cerebrale. Il sangue ed il liquido cerebrospinale sono due sistemi di protezione fondamentali in risposta a variazioni del volume intracranico. Il sangue, variando in maniera pressochè immediata il proprio volume all'interno della scatola cranica, svolge il compito più importante nella compensazione dell'ICP. In particolare, il volume ematico aumenta quando l'ICP si riduce e diminuisce quando l'ICP cresce. Il CSF è il fluido che permette al cervello di "galleggiare" ed è prodotto (in quantità pari a 0.3-0.4  $\frac{ml}{min}$ ) e riassorbito costantemente. Se il riassorbimento



è ostacolato o se è presente un'ostruzione meccanica al deflusso del liquido cerebrospinale, il CSF aumenta il suo volume causando un aumento dell'ICP.

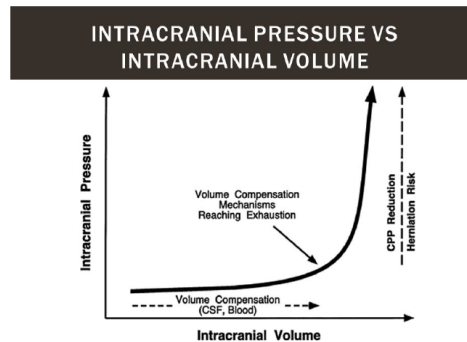


Figura 1.3: Curva ICP-Volume Intracranico.

Come si può notare nella figura 1.3, il rapporto tra ICP e volume intracranico mantiene un valore pressochè costante fino al punto di non compensazione (gomito della curva). Al di là di questo punto il sangue ed il CSF non sono più in grado di compensare variazioni di ICP; ne consegue l'aumento della pressione di perfusione cerebrale e la crescita del rischio di ischemia.

### 1.1.5 Meccanismo di Autoregolazione

Per mantenere un adeguato CBF durante le variazioni della pressione arteriosa sistemica, l'albero cerebro-vascolare è dotato di un sistema capace di proteggere il cervello dalle alterazioni della pressione arteriosa. Pertanto, il CBF rimane costante entro limiti generalmente compresi fra 60 e 140 mmHg (Figura 1.4).

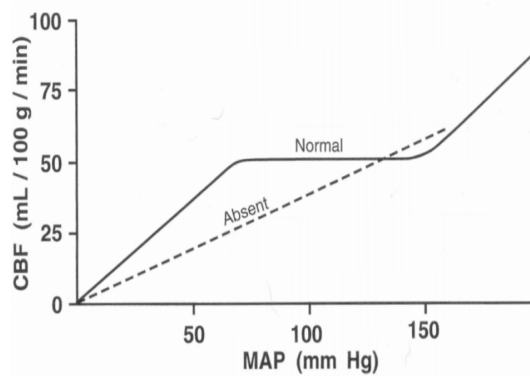


Figura 1.4: Curva Flusso-Pressione. L'autoregolazione cerebrale mantiene il flusso ematico cerebrale stabile, a fronte di cambiamenti di pressione sistemica. Quando la pressione arteriosa è mantenuta all'interno del *range* compreso fra i 60 e i 140 mmHg il flusso ematico cerebrale rimane costante, assicurando una perfusione di circa 50–54 ml/min /100g.

L'autoregolazione è un processo fisiologico mediante il quale la circolazione cerebrale incrementa o diminuisce la propria resistenza al fine di mantenere costante il flusso ematico cerebrale senza modificare la pressione di perfusione cerebrale. Nel meccanismo di autoregolazione cerebrale il sangue svolge due funzioni: 1) fornisce al tessuto cerebrale l'ossigeno ed i nutrienti necessari; 2) rimuove l'anidride carbonica e gli altri prodotti di scarto.

Questo sistema di regolazione si basa fondamentalmente su tre meccanismi indipendenti che agiscono sinergicamente: autoregolazione miogenica, metabolica e neurogena.

- L'autoregolazione miogenica consente alle arterie ed alle arteriole di reagire ad un aumento o ad una diminuzione della pressione sanguigna mantenendo costante il flusso di sangue all'interno dei vasi.
- L'autoregolazione metabolica è il principale fattore in grado di regolare il calibro arteriolare dei vasi cerebrali in risposta alle variazioni di concentrazione di anidride carbonica prodotta localmente. L'aumento di richiesta metabolica di un determinato distretto corporeo comporta un incremento locale di  $\text{CO}_2$  e di metaboliti acidi con conseguente vasodilatazione ed aumento del CBF. In tal modo le aree cerebrali maggiormente attive vengono prontamente irrorate da un maggior afflusso sanguigno.
- L'autoregolazione neurogena è determinata dagli impulsi vasocostrittori delle fibre nervose simpatiche-adrenergiche che innervano i vasi sanguigni.

A questi meccanismi si aggiunge la funzione endoteliale, che svolge un ruolo importante nella modulazione delle resistenze cerebrovascolari influenzando i tre citati mediante il rilascio di diversi mediatori (in particolare Ossido Nitrico (NO)) i quali, a loro volta, possono indurre il rilassamento o la costrizione della muscolatura liscia vasale.

La curva flusso-pressione non rappresenta un modello rigido: i valori di base della pressione arteriosa sistemica influenzano i valori limite della curva, inducendo uno spostamento verso destra o verso sinistra della stessa e, di conseguenza, alterando i limiti pressori superiore ed inferiore entro i quali il CBF rimane costante (figura 1.5). Ad esempio, nel caso di un paziente cronicamente iperteso, la curva ha una traslazione verso destra, con un incremento dei valori superiori ed inferiori di autoregolazione.

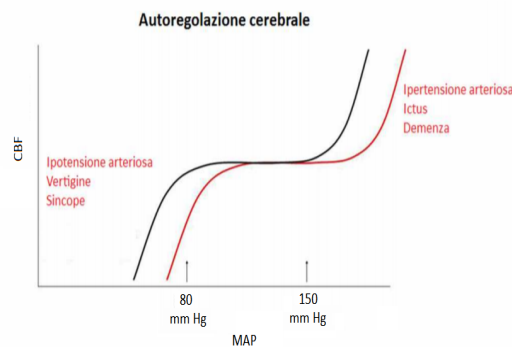


Figura 1.5: Shift della curva ICP-Volume Intracranico verso destra nel paziente iperteso.

Numerosi stati di patologie cerebrali (come gravi traumi cranici o ictus ischemici acuti) possono pregiudicare o annullare l'autoregolazione del CBF. Allo stesso modo, l'autoregolazione potrebbe essere compromessa nei dintorni di una lesione cerebrale (tumore o ematoma) o, nel lungo termine, dal diabete mellito, a causa della microangiopatia diabetica. La necessità di quantificare variazioni emodinamiche cerebrali con elevata risoluzione temporale è all'origine dell'introduzione della tecnica chiamata spettroscopia nel vicino infrarosso (*Near Infrared Spectroscopy*, NIRS).

## 1.2 Obiettivo della tesi

L'obiettivo principale della tesi è quello di progettare e sviluppare un dispositivo NIRS portatile e compatto, capace di monitorare in tempo reale ed in diverse condizioni le

variazioni di emoglobina ossigenata e deossigenata all'interno della scatola cranica di un paziente.

Il secondo obiettivo è quello di creare un'interfaccia utente, quanto più possibile semplice, in grado di far svolgere al dispositivo tutte le funzioni richieste.

Nei prossimi capitoli, dopo una breve introduzione sullo stato dell'arte della tecnica NIRS, verrà descritto il *design* delle componenti *hardware*, *firmware* e *software* del *device*, poi verranno esaminati i risultati e, in ultimo, verranno tratte le conclusioni.

## Capitolo 2

# Near Infrared Spectroscopy (NIRS)

Attualmente il mondo dell'Ingegneria Biomedica persegue l'obiettivo di sviluppare dispositivi di *imaging real time*, non invasivi, portatili, a basso costo, che non utilizzino raggi ionizzanti e che siano capaci di fornire ai medici informazioni quantitative in modo rapido ed affidabile.

La spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) presenta tutti questi vantaggi ed in campo biomedico è principalmente usata per monitorare il livello emodinamico e di ossigenazione di vari tessuti. La tecnica prevede l'utilizzo di una fonte luminosa nell'intervallo 650-950 nm (vicino infrarosso), meno influenzato dai coefficienti di assorbimento e di dispersione che caratterizzano i tessuti corporei. La scatola cranica è trasparente alla luce infrarossa e, di conseguenza, i fasci luminosi possono attraversare l'osso e di penetrare per pochi centimetri all'interno dei tessuti molli.

L'autoregolazione cerebrale è uno dei meccanismi biologici che possono essere monitorati utilizzando la NIRS. Il segnale acquisito consente, infatti, di rilevare le variazioni nella composizione dell'emoglobina nel sangue associata all'attività neurale. Ciò avviene mediante la misurazione dell'indice di ossigenazione di un tessuto in stato di riposo e delle variazioni della concentrazione di ossiemoglobina ( $\Delta[\text{O}_2\text{Hb}]$ ) e deossiemoglobina ( $\Delta[\text{HHb}]$ ) nella corteccia cerebrale in risposta a una vasta gamma di stimoli (ad esempio al test di apnea). La tecnica NIRS, pur consentendo solo un'indagine di superficie, offre la possibilità di studiare il CBF nella materia grigia (sede di gran parte delle funzioni cerebrali).

## 2.1 Stato dell'Arte

Nel 1977 Jobsis fu il primo a dimostrare che la spettroscopia poteva essere utilizzata per quantificare la saturazione di ossigeno nei tessuti del miocardio e del cervello, grazie alla loro parziale trasparenza nello spettro del vicino infrarosso [4]. Le scoperte di Jobsis hanno aperto la strada all'applicazione clinica del NIRS per lo studio dell'ossigenazione cerebrale e dell'ossidazione muscolare metabolica. Nel 1993 Villringer ed il suo gruppo [5] hanno studiato l'attivazione funzionale della corteccia cerebrale nell'essere umano adulto sfruttando la tecnica fNIRS (*functional Near Infrared Spectroscopy*). Cinque anni più tardi il medesimo studio è stato condotto dal gruppo di Meek sui neonati [6]. Alla fine degli anni 90' la tecnica NIRS è stata utilizzata per rilevare stati di ischemia cerebrale nei suini [7]. Nei primi anni 2000 la tecnica è stata ulteriormente affinata permettendo un monitoraggio dell'ossigenazione cerebrale tanto preciso da consentire la mappatura del cervello [8] e lo studio di patologie muscolari [9].

Tradizionalmente i due segnali acquisiti sono il  $\Delta[\text{O}_2\text{Hb}]$  e il  $\Delta[\text{HHb}]$  (relativi rispettivamente all'emoglobina ossigenata e deossigenata). Uno studio più recente [10] ha individuato un terzo biomarcatore specifico per il cervello: il citocromo-c-ossidasi ( $[\text{CtOx}]$ ). Questo cromoforo è collocato all'interno dei mitocondri e gioca il ruolo di accettore di elettroni terminali nella catena respiratoria mitocondriale che porta alla produzione di ATP nella sintesi aerobica [11]. Il CtOx è, quindi, un biomarcatore dello stato metabolico cerebrale; altri studi hanno dimostrato che il CtOx ha una specificità cerebrale superiore rispetto agli indicatori di emoglobina tradizionali in caso di un cambiamento nella consegna dell'ossigeno cerebrale. Questa capacità è dovuta alla presenza più elevata di mitocondri nel tessuto cerebrale rispetto al tessuto epiteliale o a quello osseo del cranio: in particolare è stato rilevato che ad una crescente penetrazione della luce corrisponde un aumento del  $\Delta[\text{CtOx}]$  [10].

## 2.2 Metodi Matematici

Lavorare nel vicino infrarosso significa utilizzare la luce nella gamma 650-950 nm, nella quale i cromofori succitati assorbono più dell'acqua e dei lipidi. Inoltre, come si può notare nella figura 2.1,  $\text{O}_2\text{Hb}$  e  $\text{HHb}$  hanno picchi di assorbimento diversi (rispettivamente

intorno a 760 nm per l'emoglobina ossigenata ed intorno a 850 nm per l'emoglobina deossigenata); la CtOx ha invece il proprio picco intorno a 830 nm. Ciò permette di trattare singolarmente i diversi cromofori usando fonti luminose con lunghezze d'onda appropriate.

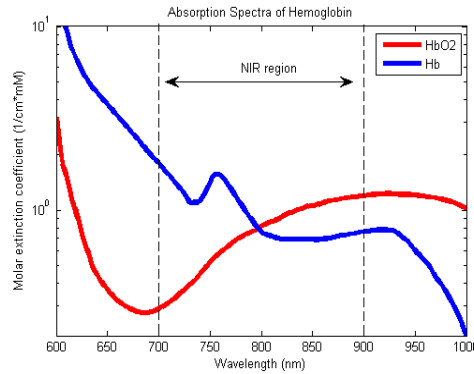


Figura 2.1: Spettro di assorbimento dell'emoglobina ossigenata (in rosso) e deossigenata (in blu) nella banda spettrale del vicino infrarosso. L'intersezione fra queste due curve rappresenta il rispettivo punto isobestico.

Il primo metodo matematico sviluppato per quantificare i cromofori è il fattore di lunghezza del percorso differenziale. Questo metodo usa l'equazione di Lambert-Beer, una relazione empirica che correla la quantità di luce assorbita da un mezzo alla natura chimica, alla concentrazione ed allo spessore del mezzo attraversato. Nel nostro caso si utilizza la relazione in forma modificata che permette di misurare la variazione della concentrazione di cromoforo (invece dei valori assoluti) [12]. L'attenuazione della luce ( $A$ ) è data dall'equazione:

$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = B d \alpha c + G \quad (2.1)$$

dove  $I_0$  è l'intensità della luce incidente,  $I$  è l'intensità della luce trasmessa,  $\alpha$  è il coefficiente di estinzione,  $c$  è la concentrazione del cromoforo,  $B$  è il fattore di lunghezza del percorso differenziale che tiene conto dell'assorbimento aggiuntivo dovuto ad un aumento del percorso ottico,  $d$  è la distanza tra emettitore di luce e ricevitore,  $G$  è un valore che tiene conto delle perdite di *scattering* [13]. Il fattore di lunghezza del percorso differenziale (*differential path-length factor*, DPF) può essere trovato in letteratura o misurato dividendo la lunghezza assoluta percorsa dalla luce ( $d_a$ ) per la distanza tra il rilevatore e l'emettitore.

Un primo metodo per calcolare  $d_a$  consiste nell'utilizzo di impulsi di luce ultra-corti accoppiati ad un rivelatore ottico veloce (*time resolved spectroscopy*, TRS):

$$d_a = \frac{ct}{n} \quad (2.2)$$

dove  $c$  è la velocità della luce,  $t$  è il tempo medio di volo ed  $n$  è l'indice refrattivo del tessuto. Con una risoluzione temporale della fotocamera pari a 10 ps si ha una risoluzione spaziale del tessuto di 2.14 mm [13].

Un altro metodo è quello proposto da Chance [14], che sfrutta una fonte di luce modulata in radiofrequenza e valuta lo sfasamento della luce trasmessa (*phase modulation spectroscopy*, PMS):

$$d_a = \frac{\Phi c}{2\pi f n} \quad (2.3)$$

dove  $\Phi$  rappresenta lo sfasamento ed  $f$  la frequenza. È stato dimostrato che, dato un tessuto, il DPF è costante se la distanza tra fonte luminosa emittente ed il sistema di ricezione sono ad una distanza di 2.5 cm [13]. Il valore del termine  $G$  (relativo alle perdite causate dallo *scattering*) non è noto ed è possibile soltanto il calcolo del valore di  $\Delta A$ :

$$\Delta A = Bd \alpha \Delta c \quad (2.4)$$

Si presume che i valori di attenuazione della fonte luce dipendano dalla variazione della concentrazione del cromoforo. Per il calcolo delle variazioni di  $\Delta[\text{O}_2\text{Hb}]$  e  $\Delta[\text{HHb}]$  l'equazione viene modificata ottenendo un sistema a due equazioni:

$$\begin{cases} \Delta A_{\lambda 1} = Bd\alpha_{\lambda 1}^{O_2Hb} + \Delta c_{\lambda 1}^{O_2Hb} + Bd\alpha_{\lambda 1}^{HHb} + \Delta c_{\lambda 1}^{HHb} \\ \Delta A_{\lambda 2} = Bd\alpha_{\lambda 2}^{O_2Hb} + \Delta c_{\lambda 2}^{O_2Hb} + Bd\alpha_{\lambda 2}^{HHb} + \Delta c_{\lambda 2}^{HHb} \end{cases} \quad (2.5)$$

Dall'equazione è evidente che la geometria e la composizione del tessuto devono rimanere costanti, altrimenti causeranno variazioni nell'assorbimento della luce che saranno erroneamente interpretate come variazione della concentrazione del cromoforo. È possibile osservare lo stesso evento anche quando avviene uno spostamento, seppur minimo, delle sonde dal punto in cui sono state posizionate: in questo particolare caso si parla di artefatto da movimento.



## 2.3 Tecniche

Le misurazioni della spettroscopia nel vicino infrarosso possono essere ottenute sfruttando vari metodi, che differiscono l'uno dall'altro per accuratezza o per numero di parametri ottenuti.

### 2.3.1 CW NIRS

Nel passato era più ampiamente utilizzata la tecnica dell'onda continua (*Continuous Wave Near Infrared Spectroscopy*, CW NIRS) che permette di misurare unicamente le variazioni dell'intensità della luce basandosi sul metodo DPF (Figura 2.2). Il numero di lunghezze d'onda necessarie è almeno pari al numero dei cromofori studiati; inoltre, l'utilizzo di più lunghezze d'onda aumenta la precisione del sistema. I dispositivi disponibili in commercio adottano al massimo quattro lunghezze d'onda e le sorgenti luminose sono generalmente diodi laser a semiconduttore. Il rivelatore può essere un fotomoltiplicatore, conveniente per il suo basso rumore, o un fotodiodo in silicio, caratterizzato da dimensioni ridotte ed elevata efficienza.

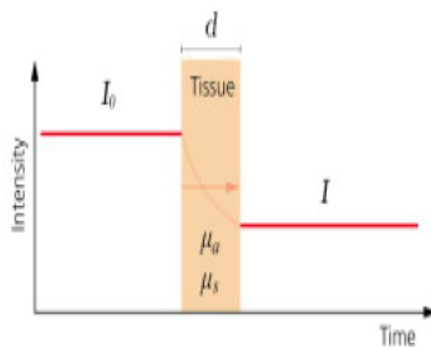


Figura 2.2: Schema di un sistema CW NIRS: la tecnologia ad onda continua invia luce e misura i cambiamenti di intensità della luce trasmessa attraverso il tessuto.

Questa tecnica è vantaggiosa per la sua economicità e per la possibilità di miniaturizzazione. Inoltre, se più coppie emettitore-ricevitore sono distribuite sul tessuto, i cambiamenti dei cromofori nella concentrazione relativa possono essere monitorati in più aree, permettendo la creazione di immagini: questo tipo di impostazione viene sfruttato nell'fNIRS. Principalmente due sono, invece, gli svantaggi: il primo è che il CW NIRS non è in grado di calcolare proprietà ottiche dei tessuti, quali i coefficienti di dispersione e di

assorbimento della luce. Di conseguenza, non possono essere quantificate le concentrazioni assolute dei cromofori dell'emoglobina ossigenata e deossigenata. Il secondo problema è riconducibile all'elevata sensibilità di questa tecnica agli artefatti di movimento. Questo tipo di rumore provoca delle variazioni nel segnale acquisito che potrebbero essere erroneamente interpretate come variazioni delle concentrazioni dei cromofori.

### 2.3.2 SRS NIRS

Un'altra tecnica è la spettroscopia spazialmente risolta (SRS) o spettroscopia multi-distanza. Questo metodo si avvale di un rilevatore di luce per misurare l'intensità luminosa a diverse distanze dalla sorgente [15] (Figura 2.3). L'innovativa caratteristica della tecnica SRS consiste nel presupposto di avere lo stesso accoppiamento tra sensore ottico e tessuto per tutte le distanze sorgente-rilevatore indicate. Inoltre, tramite il calcolo dell'intensità della luce in funzione della distanza, è possibile determinare il rapporto tra l'emoglobina ossigenata e l'emoglobina totale e quindi la saturazione di ossigeno nei tessuti [16], parametro utile nello studio di malattie arteriose.

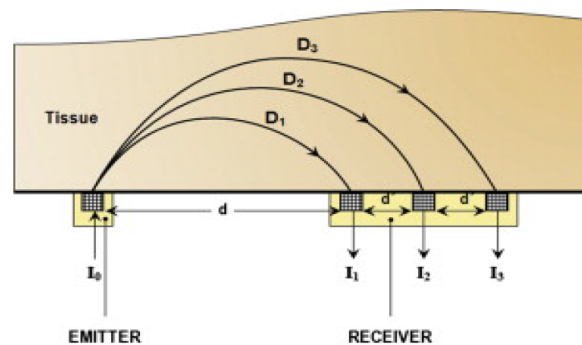


Figura 2.3: Schema di un sistema NIRS multidistanza: dà l'opportunità di studiare livelli diversi e più profondi della corteccia cerebrale.

### 2.3.3 TRS NIRS

La spettroscopia nel dominio del tempo (*Time Resolved Spectroscopy*, TRS) [17] si basa sulla misurazione del tempo di volo della luce (Figura 2.4). Un impulso di luce con durata 100 ps viene fatto passare attraverso il tessuto, ottenendo la TPSF (*Time Point Spread Function*). L'impulso di luce è diviso in due raggi: uno passa attraverso il tessuto,

l'altro va ad una telecamera per creare un riferimento temporale. La differenza di tempo tra quando la luce entra e quando la luce esce dal tessuto viene utilizzata per calcolare il DPF. Due processi influenzano questa funzione: il primo è lo *scattering*, fenomeno che causa la deviazione dell'impulso e che implica la riduzione della qualità del segnale; il secondo è l'assorbimento che diminuisce l'intensità della luce emessa.

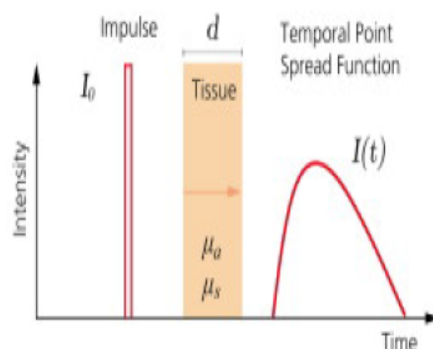


Figura 2.4: Schema della spettroscopia nel dominio del tempo: viene emesso un breve impulso di luce nel tessuto e si misurano i tempi di arrivo dei fotoni provenienti dal mezzo che si sta analizzando.  $I_0$  è il segnale luminoso incidente,  $I$  è il segnale luminoso trasmesso,  $d$  è lo spessore del mezzo,  $\mu_a$  è il coefficiente di assorbimento,  $\mu_s$  è il coefficiente di *scattering*,  $f$  è il ritardo di fase,  $I(t)$  è la diffusione del punto temporale in funzione del segnale luminoso trasmesso.

Il vantaggio principale nell'adottare questo tipo di tecnica è rappresentato dalla possibilità di calcolare i valori assoluti della concentrazione di cromofori a partire dai coefficienti di assorbimento e di dispersione calcolati. Lo svantaggio del TRS è rappresentato innanzitutto dalla necessità di costose strumentazioni che contano i fotoni, rendendo il sistema molto sensibile al rumore. La dimensione stessa della strumentazione è un altro fattore di criticità dal punto di vista clinico. Rilevanti miglioramenti della tecnica TRS potranno essere ottenuti in futuro, attraverso la miniaturizzazione della strumentazione.

### 2.3.4 PMS NIRS

L'ultima tecnica presentata è la spettroscopia a modulazione di fase (*Phase Modulation Spectroscopy*, PMS) che può essere considerata l'equivalente del TRS, ma nel dominio della frequenza. La PMS consiste nel modulare l'intensità delle sorgenti luminose su frequenze che vanno da 50 a 200 MHz. Come si può notare nella figura 2.5, una volta che la luce è passata nel tessuto, vengono raccolti numerosi parametri, quali l'intensità della luce media,

l'ampiezza e la fase ondulatoria emergente. Quest'ultimo parametro fornisce informazioni sul tempo di volo e consente di calcolare il DPF.

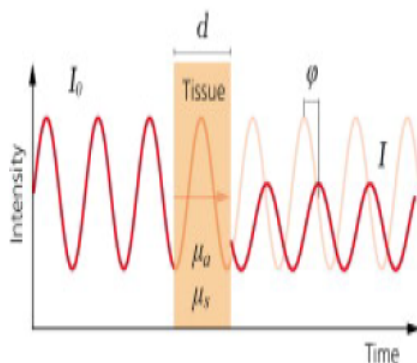


Figura 2.5: Schema della spettroscopia a modulazione di fase: viene regolata la frequenza della luce emessa e misurata l'intensità della luce emergente ed il suo sfasamento (tempo di volo).

Il vantaggio di questo tipo di strumenti rispetto a quelli TRS è costituito dalla loro ridotta dimensione e dal miglior rapporto segnale-rumore. Di contro, l'uso di tubi fotomoltiplicatori sensibili alla luce ambientale costituisce, nella pratica clinica, un rilevante svantaggio.

## 2.4 Tecnica Sviluppata

Il dispositivo NIRS sviluppato durante il lavoro di tesi sfrutta la tecnica della spettroscopia nel dominio del tempo. Come si può vedere nella figura 2.6, il funzionamento del dispositivo è caratterizzato da un ciclo di acquisizione con durata pari a 100 ms ed è diviso in 10 fasi (da 0 a 9) da 10 ms ciascuna. Nelle fasi da 0 a 2 e da 4 a 6 viene acquisito il segnale mentre nelle fasi 3 e 7 viene acquisito il rumore; le ultime fasi sono dedicate al salvataggio e/o alla trasmissione dei dati. Le acquisizioni vengono effettuate tramite due coppie di sonde (emittente e ricevente): ogni sonda emittente è costituita da tre led che emettono luce infrarossa a lunghezza d'onda differente mentre ogni sonda ricevente è fondamentalmente costituita da un fotodiode. Si sottolinea il fatto che le acquisizioni avvengono in contemporanea sulle due sonde.

All'inizio di un ciclo di acquisizione, il primo led della prima sonda (LED 1 770 nm *Probe1*) viene attivato per un periodo pari a 10 ms (*duty cycle* del 10%); durante questo lasso di

tempo un convertitore analogico-digitale (*Analog to Digital Converter*, ADC) effettua venti acquisizioni (una ogni 0.5 ms). Una volta trascorsi i 10 ms, il primo led viene spento e viene acceso il led successivo; il processo si ripete fino alla fase 3, durante la quale il rumore viene acquisito dalla prima sonda (tutti i led sono spenti). Questa fase è molto importante perchè permette di calcolare in un secondo momento il rapporto segnale-rumore (SNR), parametro essenziale per comprendere la qualità del segnale che si sta acquisendo. Una volta acquisito il rumore con la prima sonda, inizia il ciclo di acquisizione con la sonda numero due (fasi da 4 a 7). Una volta terminata la fase 7, si procede con la trasmissione dei dati al computer e/o al salvataggio in memoria (fasi 8 e 9). Non appena si conclude la nona fase, il ciclo di acquisizione termina e ne inizia uno nuovo.

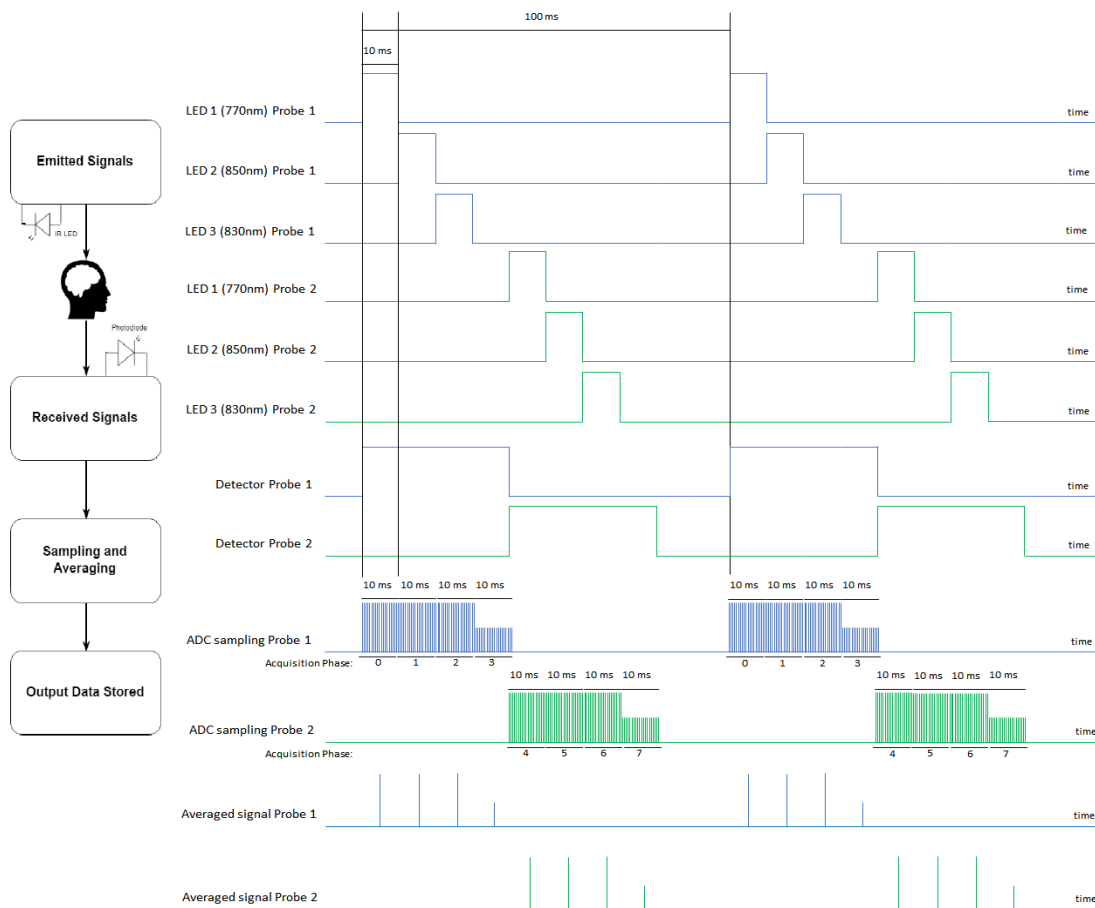


Figura 2.6: Schema di funzionamento della tecnica realizzata.

In ultimo, si evidenzia che i venti valori dei campioni così acquisiti durante le singole fasi del ciclo di acquisizione vengono mediati per ottenere un unico campione e per consentire l'estrapolazione di parametri statisticamente rilevanti.

# Capitolo 3

## Design dell'Hardware

La progettazione del dispositivo è iniziata dal *design* del suo *hardware*: i sistemi NIRS, dal punto di vista elettrico, sono costituiti sostanzialmente da emettitori di luce nel vicino infrarosso e da rilevatori di luce (*photodetector*). Per ciascuno di questi componenti ci sono diverse possibili scelte i cui vantaggi e svantaggi saranno esposti nei paragrafi seguenti.

### 3.1 Le Sonde

Il dispositivo sviluppato acquisisce il segnale di interesse attraverso l'utilizzo di una o due coppie di sonde (ciascuna formata da una emittente e da una ricevente). La progettazione delle sonde inizia con la scelta della fonte luminosa più adatta e di un ricevitore adeguato. Nella scelta delle componenti che meglio soddisfano le necessità di progetto, si deve tener conto di due fattori [17]: 1) la necessità di lunghezze d'onda discrete; 2) la necessità di generare un segnale abbastanza forte da essere rilevato minimizzando il surriscaldamento dei tessuti.

Il primo fattore è collegato alla necessità di avere una fonte luminosa in grado di emettere una luce monocromatica (tutti i raggi emessi hanno la stessa lunghezza d'onda); le fonti luminose presenti in commercio emettono luce con il picco su una lunghezza d'onda molto precisa e con una varianza dell'intensità estremamente contenuta.

Il secondo fattore consiste nel fatto che maggiore è la potenza erogata dall'emettitore, maggiore sarà il segnale in arrivo al rilevatore (sonda ricevente). Tuttavia, al crescere della

potenza erogata dalla sonda emittente, aumenta anche il surriscaldamento del tessuto in esame.

### 3.1.1 Sonda Emittente

Tipicamente le fonti luminose selezionabili sono due: diodi laser (LD) e diodi emettitori di luce (*light emitting diodes*, LED). Entrambe sono tecnologie a semiconduttore che sfruttano l'elettroluminescenza (ovvero la proprietà di emettere luce sotto l'azione di un campo elettrico) per emettere una luce la cui lunghezza d'onda dipende dal tipo materiale che costituisce il dispositivo e dal tipo di *doping* del materiale semiconduttore. La principale differenza tra queste due famiglie di diodi è rappresentata dal tipo di emissione: nel caso dei LED l'emissione è spontanea, e questo comporta l'emissione di luce incoerente con una grande larghezza di banda (in genere 25-50 nm); al contrario, negli LD l'emissione è stimolata, generando luce coerente con larghezza di banda più stretta.

I LED possiedono numerosi vantaggi rispetto agli LD: hanno un'intensità facilmente regolabile e consumi ridotti; non sono pericolosi per gli occhi; sono dispositivi facilmente miniaturizzabili; è disponibile in commercio una grande varietà di LED con lunghezze d'onda nel range d'interesse (650-900 nm) a prezzi ragionevoli. D'altro canto, gli LD presentano il vantaggio di essere estremamente rapidi e per questo motivo sono utilizzati per applicazioni TRS. Tuttavia il sistema sviluppato in questa tesi non richiede la caratteristica di alta velocità: si è dunque deciso di utilizzare i LED.

#### Descrizione Schema Elettrico e Componenti

Come si può notare nella figura 3.1, la sonda emittente è costituita sostanzialmente da tre LED. Nel dettaglio, i LED ad infrarossi selezionati sono: un *OSA Opto Light OIS-330 770* da 770 nm, un *Vishay VSMG2700* da 830 nm ed un *Vishay VSMG10850* da 850 nm. I tre componenti presentano le tensioni dirette comprese tra 1,5 V e 2 V e l'intervallo di corrente diretta è compreso tra 65 e 100 mA. Si intende montare i LED sul circuito stampato (*printed circuit board*, PCB) di forma circolare e collegato alla *main board* con un connettore ad otto vie.

Le lunghezze d'onda dei LED (770 nm, 830 nm e 850 nm) sono state selezionate tenendo conto degli spettri di assorbimento di HHb, O<sub>2</sub>Hb (vedi figura 2.1) e CtOx. Osservando

lo schema elettrico (figura 3.1) è possibile notare la presenza di una resistenza: questo componente svolge un ruolo essenziale nel sistema di individuazione delle sonde, che verrà descritto in modo esaustivo nel paragrafo 3.2.4.

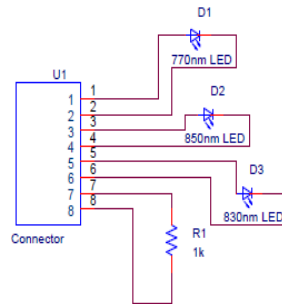


Figura 3.1: Schema elettrico della sonda emittente.

### 3.1.2 Sonda Ricevente

I fotorilevatori utilizzati nei sistemi NIRS in ambito biomedico possono essere suddivisi in tre categorie: i tubi fotomoltiplicatori (*Photomultiplier Tubes*, PMT), i fotodiodi (*Photodiodes*, PD), i fotodiodi a valanga (*Avalanche Photodiodes*, APD).

Il funzionamento dei PMT, basato sull'effetto fotoelettrico esterno e sull'emissione secondaria (cioè l'elettromoltiplicazione), è schematizzato in figura 3.2: un fotone colpisce il fotocatodo liberando un elettrone che, accelerato da un campo elettrico crescente, va a colpire una serie di piastre (dinodi) con energia cinetica sufficiente per produrre elettroni secondari (emissione secondaria). Questo processo, ripetuto a cascata diverse volte, fa aumentare esponenzialmente il numero di elettroni e quindi amplifica il segnale: il fattore di moltiplicazione elettrica è di circa  $10^6 - 10^7$ . Il principale vantaggio di questo fotorilevatore è l'enorme amplificazione del segnale che si riesce ad ottenere; altri elementi a favore consistono nell'alta velocità di risposta e nell'elevata suscettibilità (elevata polarizzazione in risposta ad un campo elettrico). Tuttavia si riscontrano diversi svantaggi, quali le



dimensioni ingombranti e la necessità di una tensione di alimentazione elevata (dell'ordine del kV).

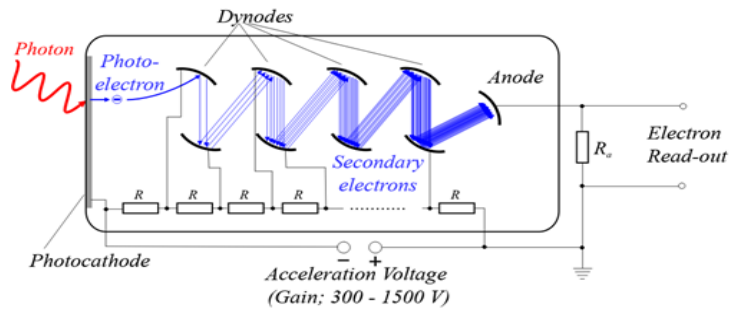


Figura 3.2: Schema di funzionamento di un tubo fotomoltiplicatore (PMT).

Il PD è un particolare tipo di diodo fotorilevatore costituito da materiale semiconduttore che funziona come sensore ottico sfruttando l'effetto fotovoltaico, in grado, cioè, di riconoscere la lunghezza d'onda del fotone incidente e di trasformare questo evento in un segnale elettrico (corrente) applicando ai suoi estremi un'opportuna tensione. È un trasduttore capace di tradurre un segnale ottico in un segnale elettrico. I vantaggi dei PD sono costituiti dalle dimensioni estremamente contenute e dalla bassa tensione di alimentazione, mentre lo svantaggio più grande è rappresentato dall'assenza di guadagno (capacità di incrementare l'ampiezza o la potenza di un segnale).

L'APD sfrutta il medesimo meccanismo descritto per il fotodiodo ma, in più, si avvale di un sistema di amplificazione elettrica (simile a quello dei PMT) allo scopo di amplificare il segnale. Questa tecnologia condivide alcuni vantaggi con le due famiglie di diodi descritte precedentemente: 1) le dimensioni ridotte, come i PD; 2) l'alta velocità; 3) la possibilità di amplificare il segnale rilevato, come gli APD. Di contro, la tensione di alimentazione necessaria è relativamente elevata (intorno ai 100 V).

Considerati i numerosi vantaggi, si è deciso di realizzare una sonda che possa montare indifferentemente un PD o un APD.

### Descrizione Schema Elettrico e Componenti

L'APD scelto è l'*S13720-1325PS* prodotto da Hamamatsu: questo componente, detto MPPC (*Multi-Pixel Photon Counter*), è un nuovo tipo di *device* per il conteggio dei fotoni costituito da una griglia di *pixel* ognuno dei quali è un APD. Ogni pixel nell'MPPC emette

un impulso della stessa ampiezza quando rileva un fotone e gli impulsi generati da più *pixel* si sovrappongono. Ad esempio, se quattro fotoni sono incidenti su *pixel* diversi e rilevati contemporaneamente, l'MPPC emette un segnale la cui ampiezza è uguale all'altezza dei quattro impulsi sovrapposti. Ogni *pixel* emette solo un impulso che rimane invariato anche in presenza di più fotoni incidenti; ne consegue che il numero degli impulsi in uscita è sempre uno, indipendentemente dal fatto che uno o più fotoni entrino in un *pixel* contemporaneamente. Ciò comporta, fra l'altro, che la linearità dell'output del MPPC peggiora quando due o più fotoni entrano in un *pixel*.

Questa tecnologia associa ai vantaggi dei fotodiodi a valanga una bassa tensione di alimentazione. Come si può vedere nell'immagine 3.3, l'MPPC ha il picco di efficienza (20%) con radiazioni di lunghezza d'onda pari a circa 650 nm e mantiene un'efficienza superiore al 10% nell'intervallo di nostro interesse (650 - 850 nm).

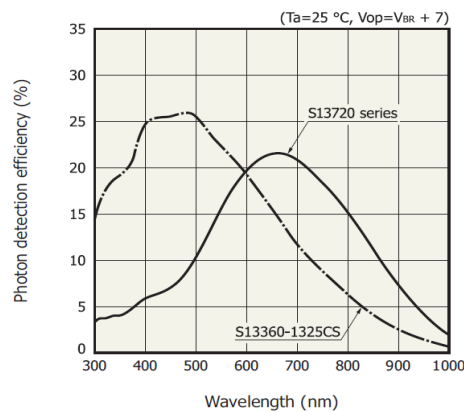


Figura 3.3: Curva efficienza-lunghezza d'onda: la curva non tratteggiata, relativa al fotodiodo utilizzato, raggiunge il picco a circa 650 nm.

La scelta della tensione di alimentazione della sonda ricevente è stata effettuata analizzando il grafico 3.5: come si può notare l'MPPC garantisce un buon guadagno (maggiore di  $10^5$ ) con basse sovra-tensioni (2-7 V). Con la tensione di alimentazione scelta (60 V) il guadagno previsto è appena inferiore a  $10^6$ .

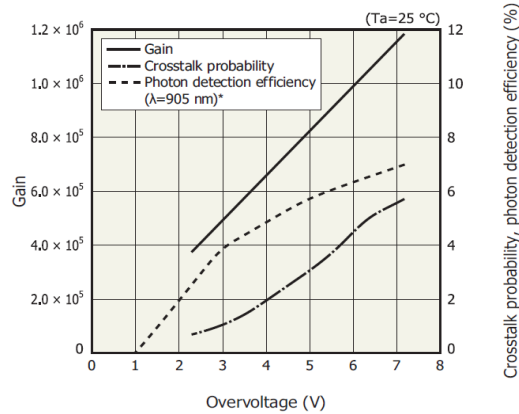


Figura 3.4: Curva guadagno-tensione: il guadagno cresce linearmente con la tensione ai capi del fotorilevatore; le curve di probabilità di *crosstalk* e di efficienza del dispositivo denotano il medesimo comportamento.

Il componente è posizionato in modo da ottenere la configurazione fotocoduttiva (consigliata dal produttore) che garantisce la linearità e la rapidità della risposta, ma è caratterizzata dal rumore in uscita, poichè alla corrente del fotodiode si somma la corrente di buio.

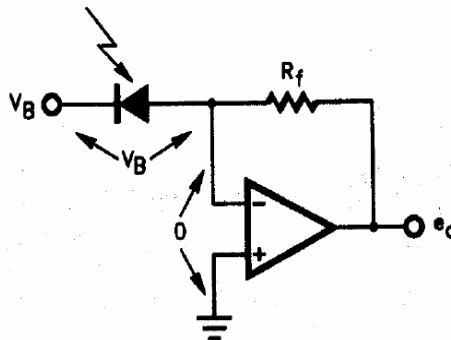


Figura 3.5: Funzionamento fotoconduttivo.

Il PD scelto è il *BPW34* prodotto di Vishay. La sensibilità spettrale di questo fotodiode è mostrata nella figura 3.6: come si può vedere, il componente ha la risposta ottimale nel range di 770-980 nm ed è quindi adatto per un'applicazione nel vicino infrarosso.

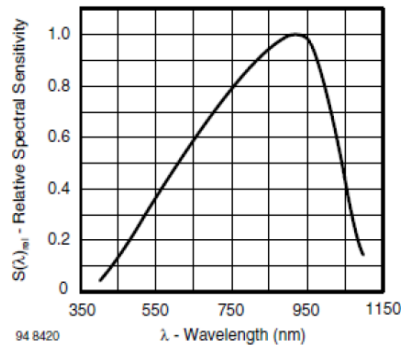


Figura 3.6: Sensibilità spettrale relativa vs lunghezza d'onda: il fotodiode è estremamente sensibile nell'intervallo d'interesse (770nm-850nm).

La Vishay consiglia di montare il proprio fotorilevatore nella configurazione fotovoltaica (vedi figura 3.7). Tale configurazione comporta numerosi benefici, di cui tre sono i più importanti: 1) un bias nullo; 2) nessuna corrente "oscura" (corrente elettrica relativamente piccola che attraversa dispositivi fotosensibili anche quando questi non sono colpiti da fotoni); 3) rumore estremamente contenuto. Questi tre fattori fanno sì che questa configurazione sia la più indicata per applicazioni che richiedono grande precisione.

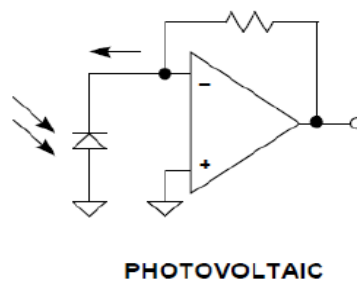


Figura 3.7: Configurazione Fotovoltaica.

Come si può vedere nell'immagine 3.8, nella sonda è presente anche l'amplificatore operazionale *MAX9619* della Maxim Integrated nella configurazione di transimpedenza, che converte in tensione la corrente erogata dal fotorilevatore. Questo componente viene alimentato con una tensione di 2.8 V e possiede un pin di *shutdown* che permette lo spegnimento e l'accensione dell'amplificatore tramite comando del microcontrollore. Tale funzione permette di ottimizzare i consumi del dispositivo.

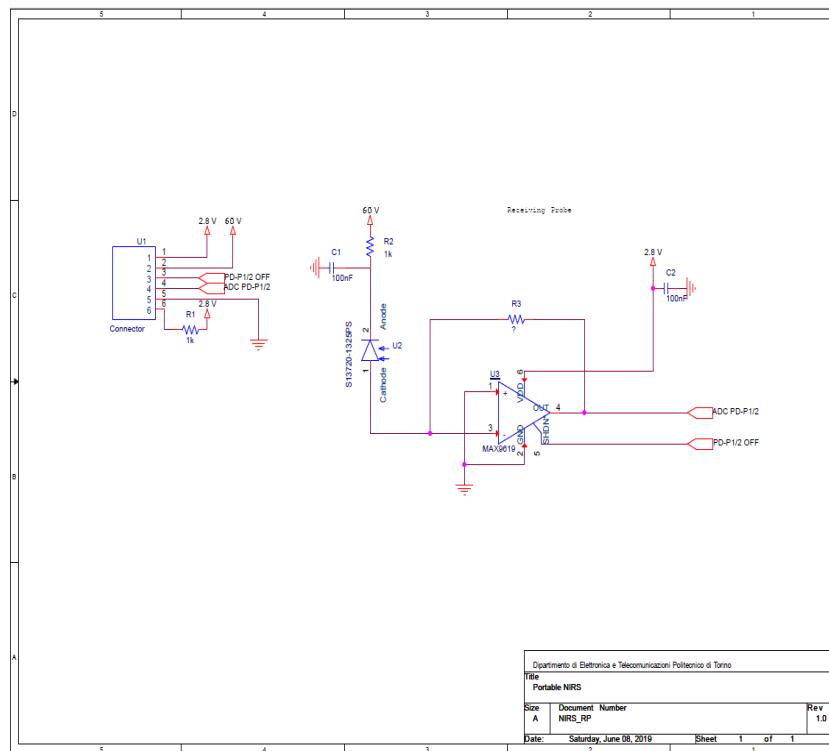


Figura 3.8: Schema elettrico della sonda ricevente.

La sonda è collegata alla *main board* tramite un connettore a sei vie: le prime due linee portano rispettivamente la tensione di alimentazione dell'amplificatore (2.8 V) e la tensione di alimentazione del fotorilevatore (60 V); la terza linea trasmette il segnale di accensione-spegnimento dell'amplificatore; la quarta trasmette il segnale ricevuto dal fotorilevatore; la quinta porta la tensione di riferimento (*ground*); la sesta linea serve per rilevare la presenza della sonda. Sono presenti anche due condensatori di *bypass* da 100 nF (C1 e C2), utilizzati per eliminare eventuali interferenze.

## 3.2 Main Board

Questo dispositivo NIRS è concepito come un sistema dal consumo ridotto in grado di memorizzare e/o trasmettere i dati di tensione acquisiti durante il monitoraggio dell'ossigenazione cerebrale. Per raggiungere questo obiettivo, il prototipo è stato sviluppato partendo da un microcontrollore AVR a basso consumo prodotto da Atmel (*ATxmega128A1U*) e programmato attraverso la scheda valutazione *Xmega A1U Xplained Pro*. Questo microcontrollore a 8 bit presenta le seguenti caratteristiche: 100 pin (di cui 78

programmabili); 128 KB di *Program Flash*; 8 KB di RAM (*Random Access Memory*); massima frequenza di funzionamento (*clock*) di 32 MHz. Il microcontrollore dispone di un convertitore analogico-digitale (ADC) a 12 bit e di un convertitore digitale-analogico (DAC), anch'esso a 12 bit, il cui utilizzo sarà spiegato nei paragrafi 3.2.3 e 3.2.4.

Nell'immagine 3.9 si può vedere come l'*ATxmega128A1U* sia collegato con tutti i sistemi che costituiscono la *main board*. In questa sezione saranno prima descritte tutte le parti più complesse ed importanti della *main board*; seguirà poi una breve descrizione delle altre componenti.

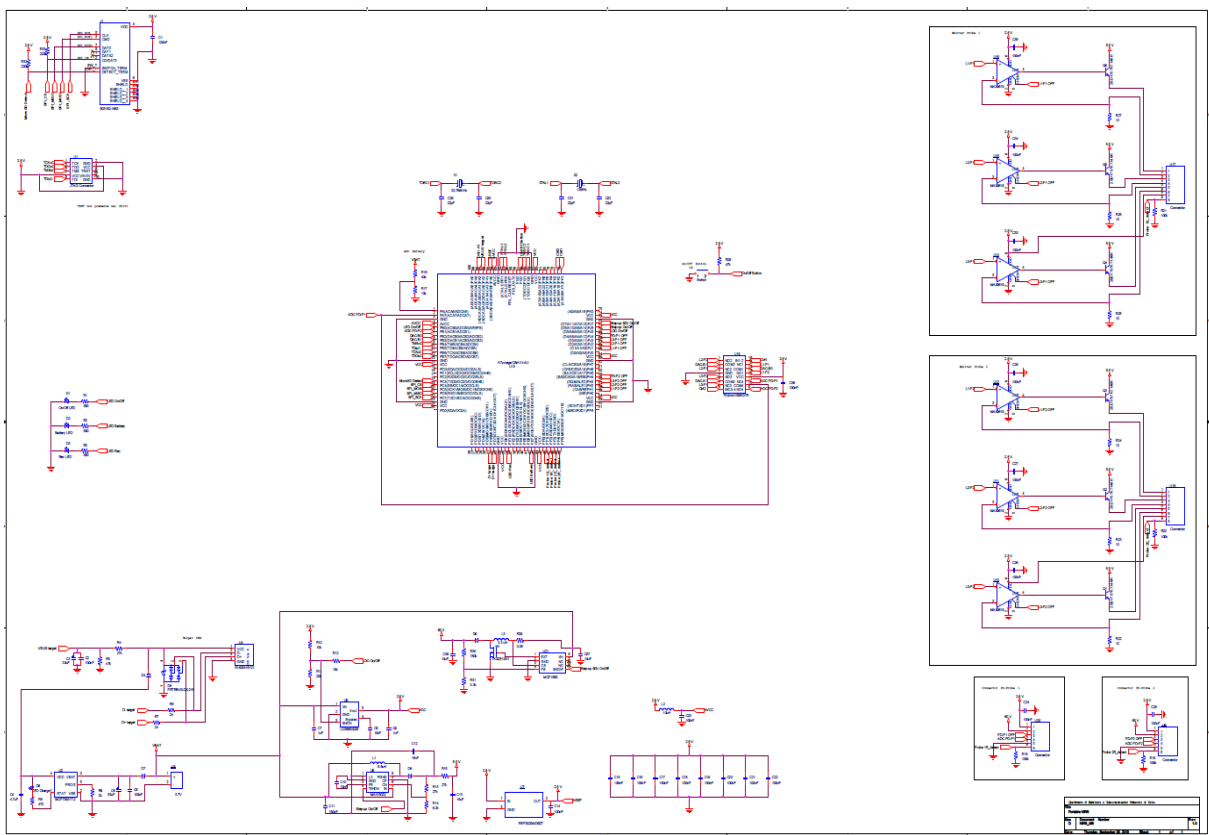


Figura 3.9: Schema elettrico della *main board*.

### 3.2.1 Sistema di Ricarica Batteria

La *main board* è alimentata da una batteria agli ioni di litio da 3450 mAh con tensione nominale di 3.7 V prodotta da Ansmann, la cui durata è stata stimata superiore a 10 ore. La batteria è ricaricata tramite il *controller* di gestione della carica *MCP73831/2* di Microchip. Questa componente riceve l'alimentazione (intorno a 5 V) da un connettore USB tipo B,

tramite il quale la *main board* può essere collegata al computer. L'*MCP73831/2* monitora continuamente la tensione al pin VBAT: se la tensione scende al di sotto della soglia di ricarica, inizia un altro ciclo di carica e viene fornita corrente alla batteria; quando la batteria è carica si accende il LED D6. Come da figura 3.10, l'*MCP73831/2* ricarica la batteria con una tensione di 4.5 V.

Spostando l'attenzione sulla parte di circuito relativa all'USB, è possibile notare la presenza di un sistema di protezione (*PRTR5V0U2X*) capace di proteggere due linee dati ad alta velocità (D- e D+) dal danno causato da una scarica elettrostatica. Sulla linea *VBUS target* è possibile notare la presenza di due condensatori di *bypass*, di cui uno polarizzato (C3), utilizzati per minimizzare il rumore. È importante, inoltre, sottolineare il ruolo svolto dai diodi *Schottky* D4 e D7, che impediscono che la batteria si scarichi a causa del passaggio inverso di corrente rispetto alla direzione di ricarica.

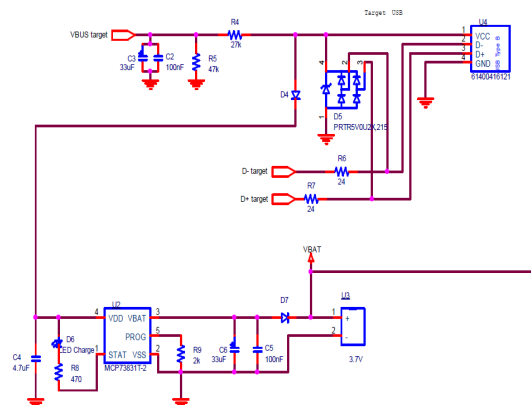


Figura 3.10: Schema elettrico del sistema di ricarica della batteria, costituito essenzialmente da un *controller* che verifica lo stato di carica della batteria e da un connettore USB.

### 3.2.2 Sistema di Alimentazione

La tensione erogata dalla batteria si abbassa gradualmente durante il funzionamento del dispositivo e perciò non può essere direttamente utilizzata per alimentare il sistema. È dunque necessario inserire all'interno del circuito un componente in grado di rendere stabile la tensione erogata dalla batteria ed un altro capace di incrementarla. L'*LD3985*, prodotto da ST, è un regolatore di tensione (LDO) estremamente performante, capace di stabilizzare la tensione di batteria a 2.8 V. Il parametro più importante è la tensione di *drop out*

(minima differenza tra tensione in ingresso e tensione in uscita dal regolatore che assicura il corretto funzionamento del medesimo) di soli 60 mV, che permette il funzionamento del dispositivo NIRS fino a che la tensione di batteria non scende sotto i 2.9 V. La tensione in uscita dall'LDO viene utilizzata per alimentare tutti i componenti (fotorilevatore e LED esclusi). Questo LDO ha la possibilità di essere spento o acceso tramite il pin di *shutdown*: questo pin è collegato ad un partitore di tensione (costituito da R10 ed R11) che tiene l'LDO sempre attivo.

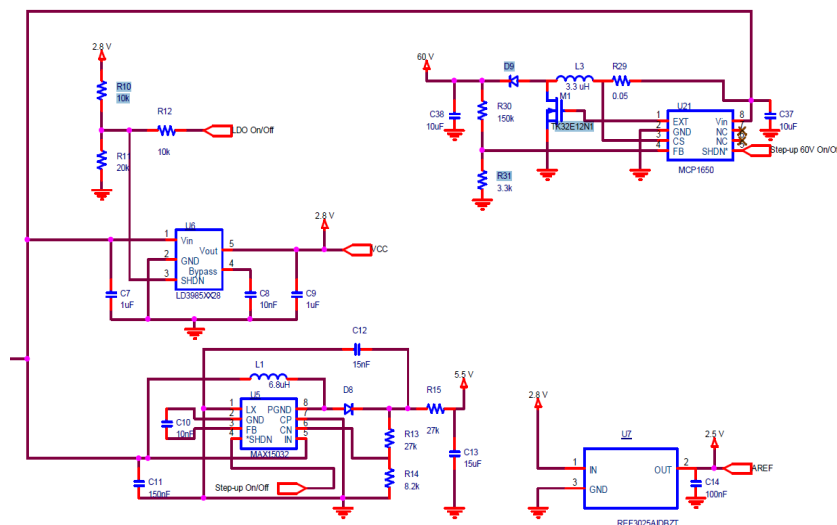


Figura 3.11: Schema elettrico del sistema di alimentazione del *device*, costituito essenzialmente da due *step-up converter*, che alzano la tensione erogata dalla batteria a 5.5 V a 60 V, e da un regolatore di tensione, che porta la tensione erogata dalla batteria a 2.8 V.

Per ottenere la tensione necessaria ad alimentare i fotorilevatori delle sonde riceventi ed i LED delle sonde emittenti è stato necessario utilizzare due *step-up converter* (dispositivi in grado di aumentare la tensione in ingresso). Lo *step-up converter* scelto per alimentare i LED delle sonde è il *MAX15032* prodotto da Maxim. Il più grande problema associato all'utilizzo di questo tipo di componenti è il rumore che esso produce: tuttavia, il *MAX15032* produce un disturbo estremamente contenuto, e richiede quindi poche precauzioni. Anche in questo caso si sfrutta la possibilità di accendere e spegnere il componente al fine di minimizzare i consumi e preservare la durata della batteria; tuttavia, al contrario dell'LDO, il pin di *shutdown* è controllato dal pin 70 del microcontrollore, che spegne lo *step-up converter* al termine di ogni ciclo di acquisizione.

Lo *step-up converter* scelto per alimentare il fotodiodo è il *MCP1650* prodotto da Microchip.



Anche in questo caso si utilizza il pin di *shutdown* (collegato al pin 71 del microcontrollore) per minimizzare il consumo energetico.

### 3.2.3 Sistema di Pilotaggio della Sonda Emittente

Come detto nel paragrafo 3.1.1, la sonda emittente è costituita da tre LED che emettono luce nel vicino infrarosso: per ciascuna di queste fonti luminose è stato realizzato un sistema di pilotaggio che permette di modularne la luminosità.

Sulla linea che pilota i led è possibile individuare numerose componenti, tra le quali le più importanti sono: il convertitore digitale-analogico, il *multiplexer* ed il sistema di pilotaggio della sonda.

Il convertitore digitale-analogico (*Digital to Analog Converter*, DAC) del microcontrollore permette di erogare (e modulare) una tensione compresa tra 0 V e la tensione di riferimento scelta (nel nostro caso 1 V). La possibilità di modulare la tensione erogata da un pin del microcontrollore è certamente un grande vantaggio, ma la scelta di utilizzare questo approccio ha comportato due problemi:

1. il microcontrollore scelto abbia un numero insufficiente di pin DAC per pilotare tutti i LED (servirebbero 6 pin ed il microcontrollore ne mette a disposizione solo 4);
2. i pin del microcontrollore (compresi quelli che hanno l'uscita della DAC) non sono in grado di erogare una corrente sufficiente ad alimentare i LED ( $I_{\text{outmax}} = 20 \text{ mA}$ ).

Il primo problema è stato risolto inserendo nello schema elettrico un *multiplexer* (*TS3A44159* prodotto da Texas Instruments). Dalla figura 3.12 si può notare che il dispositivo ha sei tipologie di pin: pin normalmente aperti (*normally open*, NO); pin normalmente chiusi (*normally closed*, NC); pin in comune (*common*, COM), cioè condivisi da NO ed NC; pin di controllo per connettere COM a NC o NO (INC); pin di *ground* (GND); pin di alimentazione (VCC). Le prime tre tipologie di pin possono essere utilizzate come ingressi e uscite, le ultime tre, invece, possono essere utilizzate solo come ingressi. Collegando tre uscite della DAC ad altrettanti pin COM del multiplexer e sfruttando i pin INC per deviare il segnale da NO a NC (e viceversa), è possibile controllare i sei LED.

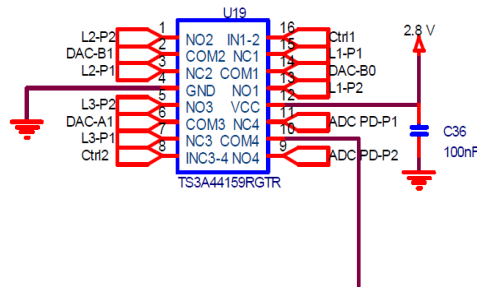


Figura 3.12: Schema elettrico del *multiplexer*.

Sei amplificatori *MAX9619* della Maxim Integrated, già descritti nel paragrafo 3.1.2, sono stati collegati a tre pin NO e tre pin NC del *multiplexer*. Come si può vedere in figura 3.13, l'uscita di ogni amplificatore è collegata alla base di un *transistor* bipolare (*2SD1757K* prodotto da Rohm). Il collettore di ogni *transistor* è alimentato da una tensione di 5.5 V mentre l'emettitore è collegato al connettore della sonda, al di là del quale vi è la sonda con i LED ad infrarossi.

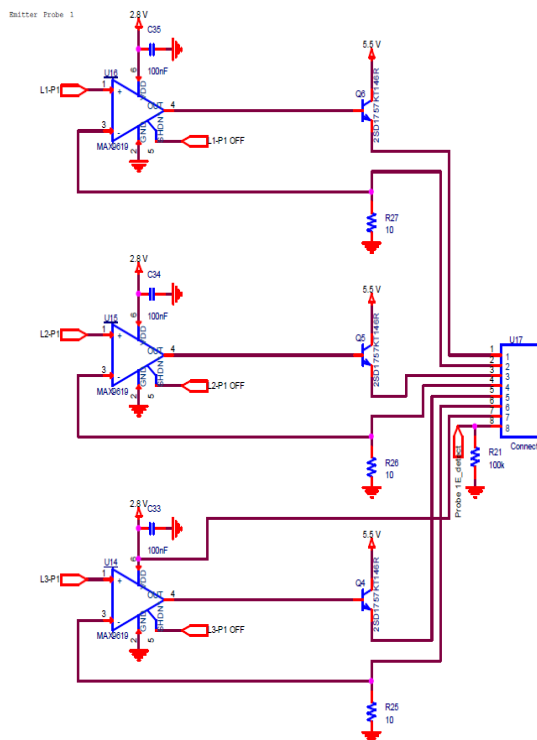


Figura 3.13: Schema elettrico del sistema di pilotaggio di una sonda emittente.

A questo punto, la descrizione del circuito è estremamente semplice: il pin della

DAC eroga una tensione che, passando per il *multiplexer*, arriva al morsetto positivo dell'amplificatore. La tensione in uscita dall'amplificatore, pressochè identica a quella in ingresso, polarizza il *transistor* che funziona come un interruttore chiuso e permette il passaggio di corrente che alimenta il LED. La corrente che scorre su questa linea dipende dalla caduta di tensione sul resistore da  $10\ \Omega$ ; tale tensione dipende dalla tensione che cade sul morsetto invertente del *transistor*, la quale è uguale alla tensione che cade sul morsetto non invertente. In sintesi, questo circuito fa cadere sul resistore da  $10\ \Omega$  una tensione pari a quella erogata dalla DAC: dal momento che la massima tensione erogabile dalla DAC è 1 V, la massima corrente che può scorrere sulla linea è pari a 100 mA. Tramite questo sistema di pilotaggio è stato risolto il problema precedentemente esposto.

Cambiando la tensione erogata dalla DAC si modula la corrente che scorre attraverso il LED, modificandone la luminosità: tale possibilità è peculiare del prototipo realizzato e non è presente nei dispositivi commerciali. Questa caratteristica consente all'operatore di scegliere l'intensità dell'impulso emesso a seconda delle caratteristiche del paziente.

### 3.2.4 Altre componenti

#### Connettore della Sonda Ricevente

Come detto nel paragrafo 3.1.2, il fotorilevatore presente sulla sonda converte il segnale luminoso incidente in una tensione che viene trasmessa alla *main board* tramite il connettore a 6 vie (figura 3.14). Nel circuito della *main board*, il segnale attraversa il *multiplexer* (descritto nel paragrafo precedente) e arriva al convertitore analogico digitale (*Analog to Digital Converter*, ADC) il quale, a sua volta, traduce la tensione in ingresso in un valore numerico.

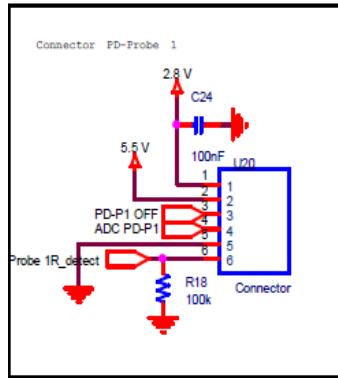


Figura 3.14: Schema elettrico del connettore di una sonda ricevente.

Dal punto di vista delle funzioni svolte, le linee più interessanti del connettore sono la terza e la sesta. La terza linea porta il segnale (pilotato dal microcontrollore) che spegne e accende l'amplificatore operazionale montato sulla sonda. La sesta linea serve per rilevare la connessione con la sonda: la resistenza in figura 3.14 da  $100\text{ k}\Omega$  forma un partitore di tensione con la resistenza da  $1\text{ k}\Omega$  montata sulla sonda. Il partitore di tensione è collegato ad un pin del microcontrollore (configurato in lettura) capace di percepire il livello logico della linea. Quando la sonda è scollegata il pin percepisce una tensione pressochè nulla (livello logico basso); quando la sonda è collegata, il pin percepisce una tensione pressochè identica a  $2.8\text{ V}$  (livello logico alto). Il medesimo meccanismo permette al microcontrollore di percepire la presenza delle sonde emittenti.

### Sistema di Memoria

Come anticipato nell'introduzione, l'obiettivo della tesi è quello di realizzare un dispositivo in grado di funzionare da *data logger* (dispositivo utilizzato per memorizzare dati) per segnali NIRS. Per poter svolgere questa attività il dispositivo necessita di una memoria sufficientemente capiente, pertanto la *main board* è stata dotata di un connettore microSD (503182 prodotto da Molex), collegato al microcontrollore tramite comunicazione SPI (*Serial Peripheral Interface*). Mediante questo connettore è possibile dotare il *device* di una memoria da  $16\text{ GB}$ , sufficiente a salvare migliaia di ore di registrazione.

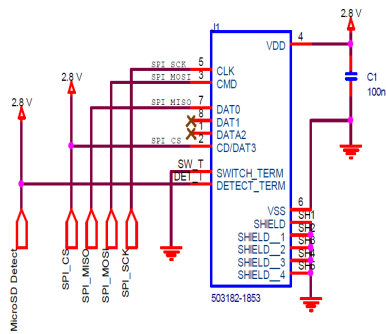


Figura 3.15: Schema elettrico del connettore microSD.

### Connettore per la riprogrammazione

Il dispositivo è dotato di un connettore JTAG che ne permette la riprogrammazione nel caso in cui dovessero essere individuati dei *bug* nel *firmware* o nel caso in cui si volesse modificare il funzionamento del dispositivo.

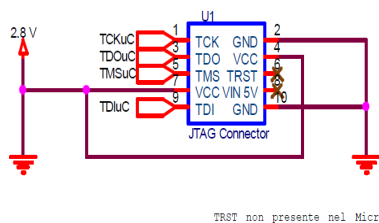


Figura 3.16: Schema elettrico del connettore JTAG.

### Cristalli di quarzo

Il microcontrollore utilizzato possiede delle fonti di *clock* interne che tendono ad essere un po' instabili. Per questo motivo sono stati scelti come fonti esterne due cristalli di quarzo estremamente precisi. Per il *clock* di sistema è stato scelto un cristallo da 12 MHz (*QC32* della Qantek), la cui frequenza viene portata a 32 MHz tramite il PLL (*phase locked loop*). Il secondo cristallo (*CM7V-T1A* prodotto da Micro Crystal Switzerland), da 32.768 kHz, è utilizzato per temporizzare il calendario interno del dispositivo.



Figura 3.17: Schema elettrico dei due cristalli: a sinistra quello da 32.768 kHz (per il *real timer counter*); a destra quello da 12 MHz (per il *clock* di sistema).

### 3.3 Layout del Prototipo

Una volta dimensionati tutti i componenti del sistema, è stato necessario trovare un involucro sufficientemente capiente da permettere l'alloggiamento dei componenti e della batteria. L'involucro scelto è l'*ART 865 F* prodotto da Bopla: partendo dal *datasheet* di questo componente è stato possibile determinare la dimensione del circuito stampato ed il posizionamento dei componenti su di esso. In figura 3.18 è riportato il *layout* quotato del circuito stampato della *main board* con il posizionamento dei componenti principali: sulla parte alta dell'immagine sono visibili i connettori della quattro sonde del dispositivo (due riceventi e due emittenti), mentre nella parte bassa sono ubicati la batteria e il connettore USB. Il micro controllore è stato invece inserito al centro della scheda per rendere più agevole la connessione con tutti gli altri componenti.

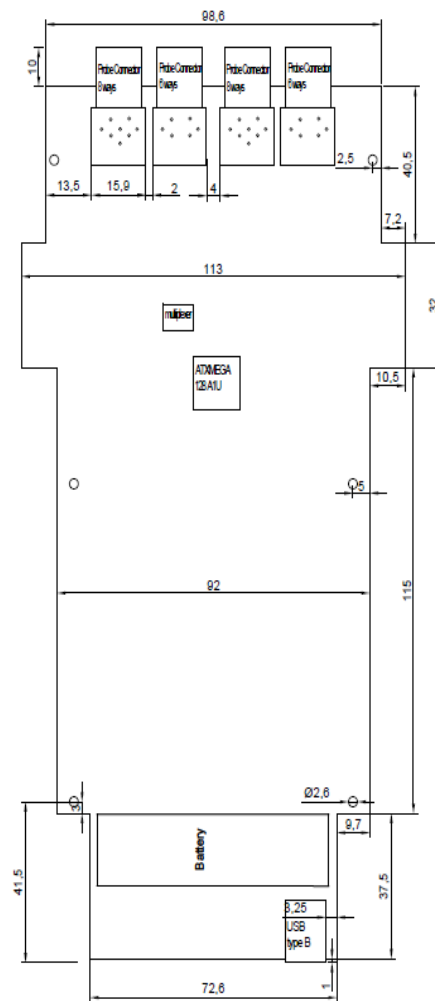


Figura 3.18: Layout del circuito stampato.

Le dimensioni del prototipo (una volta montato) saranno di circa 236 x 125 x 41 mm (decisamente più contenute rispetto ai dispositivi presenti in commercio) e si stima che il suo peso complessivo sia inferiore a 500g.

# Capitolo 4

## Design del Firmware

Come anticipato nella sezione 3.2, il prototipo NIRS è stato progettato attorno all'*ATxmega128A1U*: questo microcontrollore è stato programmato tramite il *software* Atmel Studio 7.0, utilizzando il linguaggio *C embedded*.

In questo capitolo verrà prima descritto il diagramma delle fasi di funzionamento del *device* e, successivamente, verrà illustrato nel dettaglio il codice *firmware* sviluppato a partire dai *flow chart*.

### 4.1 Diagramma di Fase

Le fasi che caratterizzano il funzionamento del prototipo NIRS sono presentate in forma schematica nella figura 4.1. Il funzionamento del prototipo NIRS è articolato in sei fasi di funzionamento più una di *standby*.

- Il dispositivo parte da uno stato di *Standby (Low Power)* nel quale consuma poco e preserva la batteria.
- Premendo per un 1 secondo il tasto *ON/OFF (P1)* il dispositivo passa allo stato di attesa (*Waiting*) nel quale rimane fino a quando non viene collegato al pc tramite connessione USB. Il *device* torna allo stato di *standby* se il tasto *ON/OFF* viene premuto per 3 secondi.
- Una volta collegato al computer, il dispositivo passa alla modalità di *Setting* nella quale è possibile inserire i dati del paziente e selezionare alcuni parametri per



configurare al meglio il sistema di acquisizione. Da questa fase è possibile passare a quella di scaricamento dei dati (*Download*, DL) o a quella di visualizzazione (*Visualisation*); quest'ultimo passaggio può avvenire solo se viene rilevata la presenza delle sonde. Se il collegamento USB si interrompe, il dispositivo torna alla fase di attesa.

- Nella fase di visualizzazione (*Visualisation*) i segnali acquisiti non vengono salvati in memoria. Con l'apposito comando (*Start REC command* e *Start VIS+REC command*), si dà inizio alla modalità di registrazione + visualizzazione (*Recording + Visualisation*, REC+VIS) o a quella di registrazione (*Recording*, REC). Se le sonde vengono rimosse il dispositivo torna in *Setting*. Se la connessione USB viene interrotta il *device* ritorna alla fase di attesa.

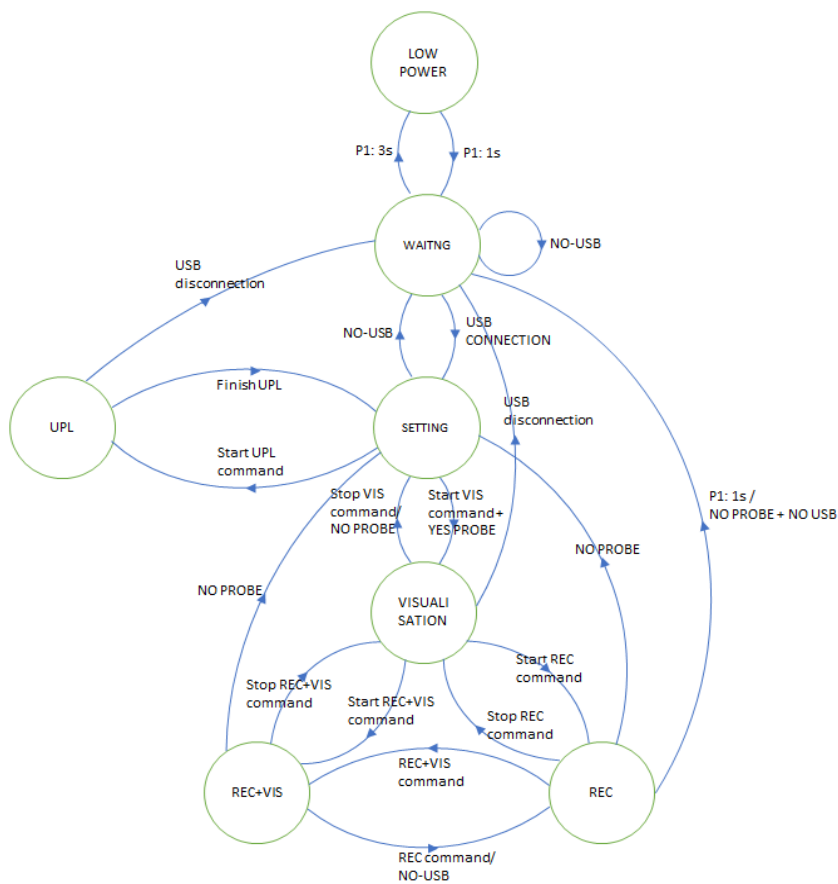


Figura 4.1: Diagramma delle fasi del prototipo NIRS.

- Nella fase di registrazione (REC) il segnale viene registrato, processato e salvato in memoria. Il *device* continua a registrare finchè non viene dato l'apposito comando di arresto (Stop REC) e ritorna in modalità di visualizzazione; la registrazione prosegue anche se viene interrotta la connessione USB. È possibile passare da questa fase a quella REC+VIS (e viceversa) tramite gli appositi comandi. Se vengono rimosse le sonde (mantenendo il collegamento USB) il dispositivo torna in *Setting*. Se con USB scollegato vengono scollegate anche le sonde, il dispositivo torna in *Waiting*; analogamente avviene se si tiene premuto per 1 secondo il tasto ON/OFF quando la connessione USB è interrotta.
- Nella fase di visualizzazione + registrazione (REC+VIS) il segnale viene registrato, processato, salvato in memoria e visualizzato a schermo. È possibile entrare in questa modalità di funzionamento a partire dalla fase di visualizzazione (tramite Start REC+VIS *command*) o da quella di registrazione (tramite REC+VIS *command*). Si torna alla visualizzazione tramite apposito comando (Stop REC+VIS).
- Se la connessione USB viene meno, il dispositivo passa automaticamente alla modalità di registrazione (REC). Se vengono rimosse le sonde, il dispositivo va in *Setting*.
- Nella fase di *Download* è possibile scaricare sul computer i file presenti nella memoria del *device*. Si torna nella fase di attesa solo una volta ultimato lo scaricamento dei file. È possibile accedere a questa fase solo da quella di *Setting*. Se durante lo scaricamento dei dati il collegamento USB viene meno, il dispositivo torna a *Waiting*.

## 4.2 *Flow Chart* e Descrizione del Codice

Il codice è stato sviluppato allo scopo di far svolgere al prototipo NIRS le funzioni rappresentate nell'immagine 4.1. Come già detto, il *firmware* è strutturato in sei fasi di funzionamento principali più una di *standby*; a queste di aggiungono due funzioni, preposte rispettivamente al controllo dello stato del dispositivo ed all'inizializzazione del sistema.

### 4.2.1 Inizializzazione e Verifica dello Stato del *Device*

La prima funzione eseguita dal sistema non appena il *device* viene alimentato è l'inizializzazione (denominata *check*). Come si può vedere in figura 4.2, essa inizializza tutte le componenti nel microcontrollore necessarie per il funzionamento del dispositivo: le fonti di *clock* ed i *timer counter*, il modulo USB, il modulo SPI, l'ADC, la DAC, i pin di I/O (*input* e *output*), le variabili globali, e fa entrare il dispositivo nella prima fase, quella di attesa ( $A_f=1$ ).

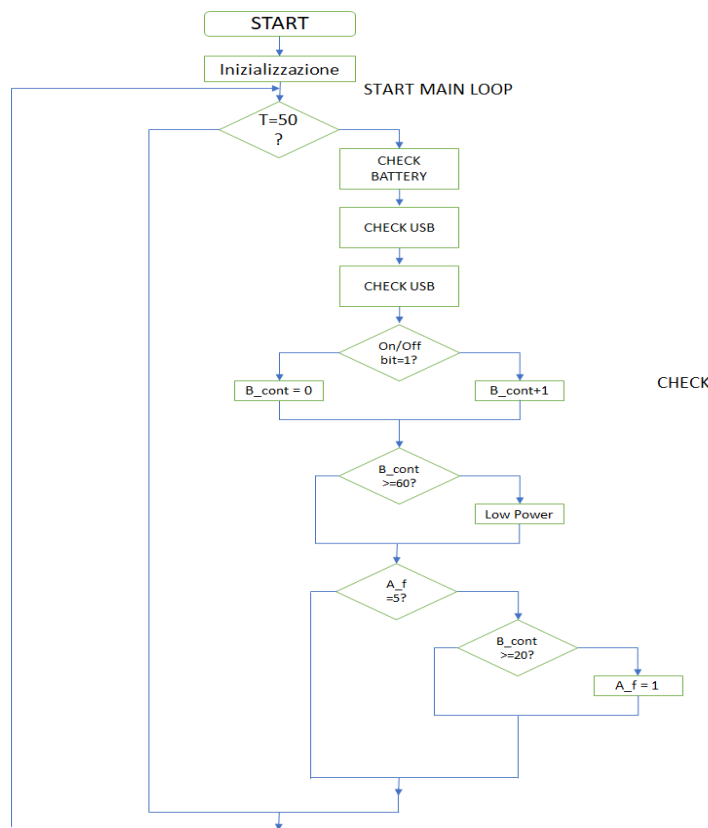


Figura 4.2: Flow chart relativo all'inizializzazione e alla funzione di *check*.

Tra le componenti inizializzate del microcontrollore è importante descrivere nel dettaglio i *timer counter* poichè scandiscono il funzionamento dell'intero sistema. Per le necessità del nostro progetto è stato sufficiente utilizzare due *timer*: il timer counter 0 (TCC0) ed il timer counter 1 (TCC1). Il TCC0 è stato programmato per richiamare ogni 10 ms la funzione di *interrupt*, la quale aggiorna il contatore preposto all'esecuzione della *routine* di verifica dello stato del *device*. Il TCC1, invece, è programmato per richiamare ogni 0.5 ms una funzione che temporizza l'attivazione dell'ADC durante l'acquisizione del segnale;

questa funzione di *interrupt* verrà descritta in maniera più approfondita nella sezione relativa alla modalità di visualizzazione.

Ultimata l'inizializzazione, si entra all'interno del *main loop*: ogni 50 ms il sistema esegue una funzione denominata *check*, che verifica: la presenza delle sonde, lo stato della batteria, la connessione USB e lo stato di pressione bottone *ON/OFF*. Se questo è premuto, il sistema incrementa un contatore (*Bcont*) che, arrivato a 60 (equivalente ad una pressione di 3 secondi), manda il dispositivo in *standby*; se, invece, il contatore arriva a 20 (pari alla pressione di 1 secondo) ed il dispositivo è in modalità *Recording*, il sistema interrompe la registrazione e torna in *Waiting*.

### 4.2.2 *Waiting*

Questa fase è estremamente semplice: viene verificato l'esito del controllo dello stato della connessione USB effettuata dalla funzione *check*. Se il cavo USB viene collegato, il sistema passa automaticamente al *Setting*.

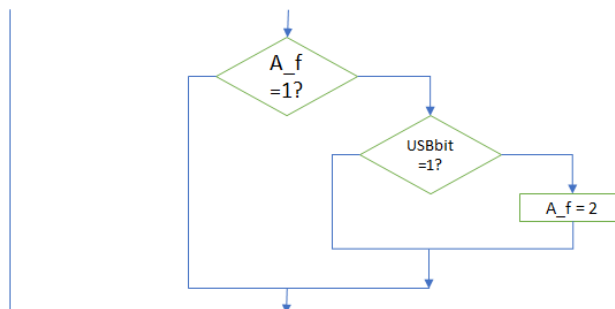


Figura 4.3: *Flow chart* relativo alla fase di *Waiting*.

### 4.2.3 *Setting*

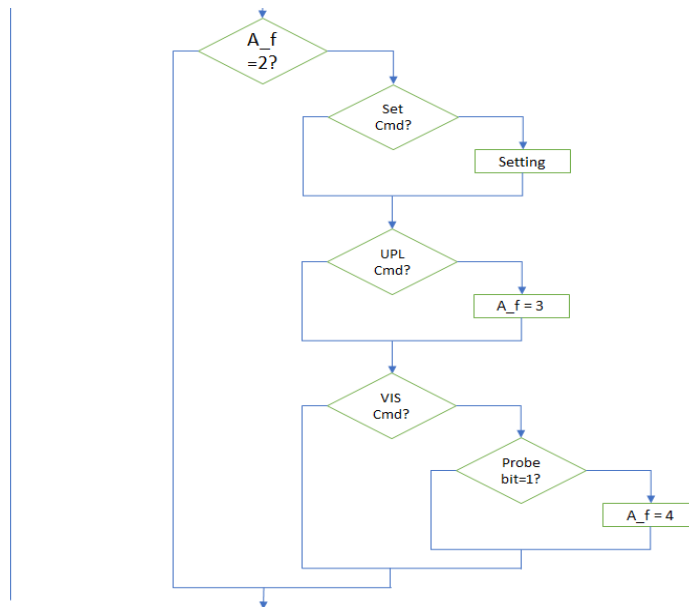


Figura 4.4: *Flow chart* relativo alla fase di *Setting*.

In questa fase il dispositivo può ricevere diversi tipi di comando da parte dell'operatore: tramite il comando di configurazione (*Set Cmd*), il *device* si prepara a ricevere quattro vettori dal computer, al quale è collegato tramite connessione USB. Il primo vettore, da 31 elementi, contiene il nome, il cognome ed il sesso del paziente; il secondo, da 9 elementi, contiene la data di nascita del paziente ed il calendario; il terzo, da 16 elementi, contiene il codice fiscale del paziente; il quarto, da un solo elemento, indica quale sonda si intende utilizzare (una delle due o entrambe).

Il dispositivo può ricevere anche i comandi di *DownLoad*, con il quale l'operatore può scaricare sul computer i dati di interesse, e *Vis Cmd*, che dà inizio alla visualizzazione (se le sonde sono collegate).

### 4.2.4 *DownLoad*

In questa fase ( $A_f=3$ ) il dispositivo è in grado di svolgere due funzioni fondamentali: 1) trasmettere i dati; 2) eliminare una singola acquisizione o tutti i dati relativi ad un paziente (acquisizioni incluse). Una volta individuata l'acquisizione d'interesse, si può procedere con il *download*: il file selezionato viene letto 100 Byte alla volta, inserito in un

vettore ed infine trasmesso al computer. Queste due operazioni (lettura e trasmissione) si ripetono finchè non è individuata la fine del file: a questo punto, il microcontrollore trasmette una sequenza di stop per avvisare il computer che la trasmissione è terminata.

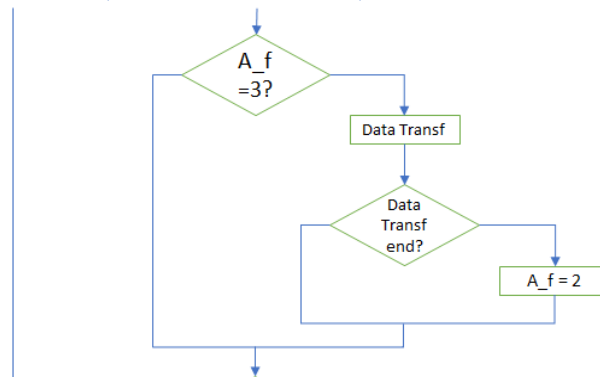


Figura 4.5: *Flow chart* relativo alla fase di *DownLoad*.

#### 4.2.5 *Visualization*

Questa fase ( $A_f=4$ ) è estremamente importante perchè permette all'operatore di verificare il corretto posizionamento delle sonde sul cranio del paziente e la qualità del segnale. Il corretto posizionamento delle sonde è, infatti, cruciale per poter acquisire un segnale di buona qualità e significativo dal punto di vista fisiologico. In questa modalità il *device* si limita a trasmettere il segnale al computer senza salvarlo in memoria. Come si può intuire anche dalla figura 4.6, questa parte di codice è decisamente più articolata di quelle descritte in precedenza.

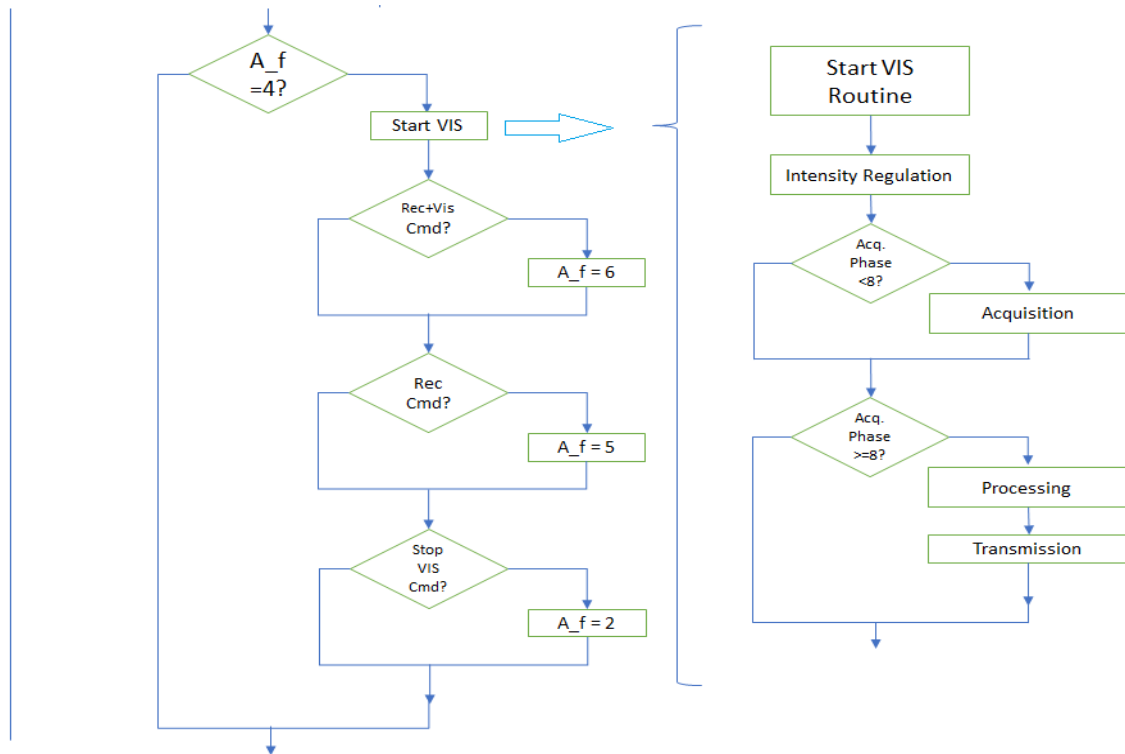


Figura 4.6: Flow chart della fase di *Visualization* sulla sinistra e focus sulla *routine* di visualizzazione a destra.

La funzione più importante è quella denominata *Start VIS Routine*, al cui interno sono presenti quattro *subroutine*: *Intensity Regulation*, *Acquisition*, *Processing* e *Transmission* (vedi lato destro della figura 4.6). La prima modifica la tensione in uscita dalla DAC in base alle richieste dell'utente. La seconda funzione è quella che effettua l'acquisizione: il sistema esegue due controlli (sullo stato della sonda e sullo stato di acquisizione) e, se entrambi hanno esito positivo, abilita il TCC1 ed inizializza lo *step-up converter* ed il *multiplexer*. A questo punto, il sistema verifica in quale fase dell'acquisizione si trova il *device* e, in base a questo, modula la tensione in uscita dalla DAC che alimenta i LED delle sonde emittenti (vedi figura 4.7).

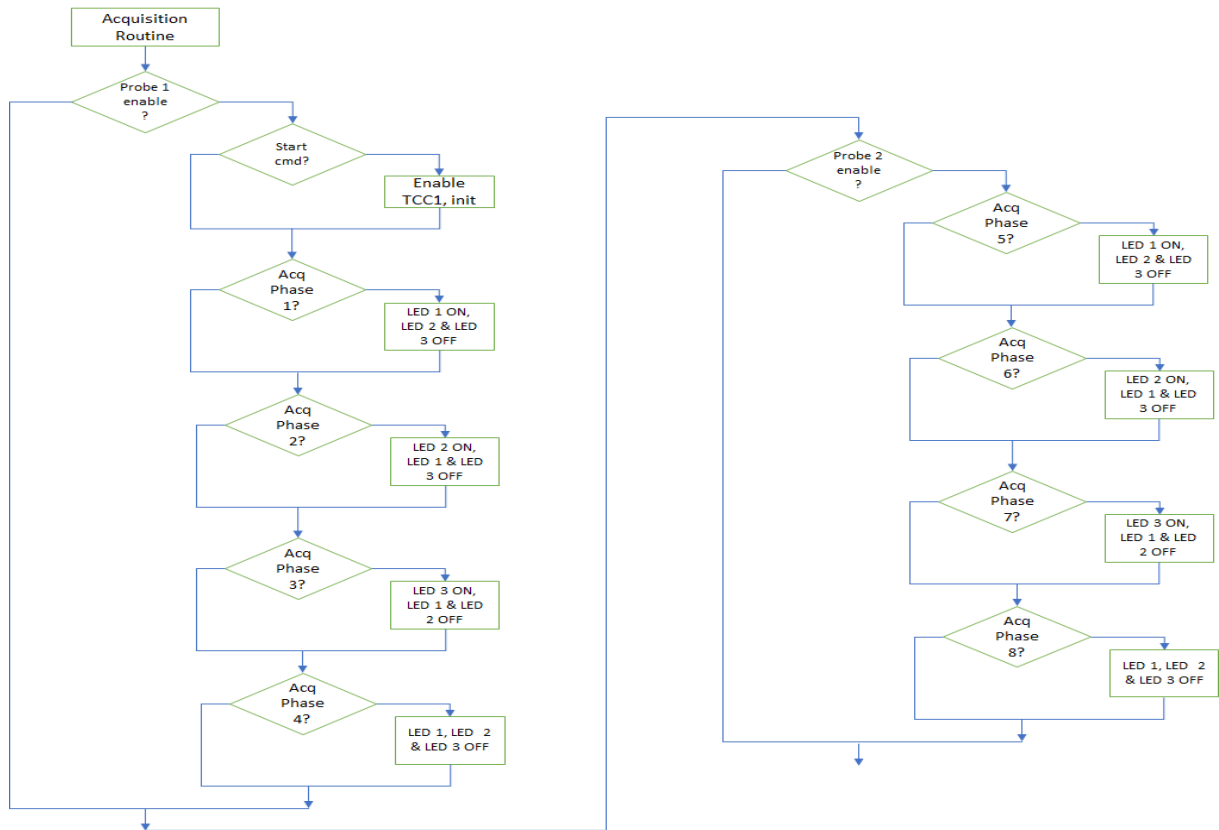


Figura 4.7: Flow chart della subroutine di acquisizione.

La variabile che definisce la fase di acquisizione è un contatore, il quale viene aggiornato ogni volta che il TCC1 fa una richiesta di *interrupt* (quindi ogni 50 ms) attivando una *subroutine* di risposta ad *interrupt*. Come si può vedere nella figura 4.8, la funzione verifica lo stato di un contatore (*counter20*) che scandisce il numero di conversioni eseguite durante ognuna delle prime otto fasi di acquisizione. Una volta arrivato a 20, il contatore è azzerato e l'*acquisition phase* viene aggiornata (incrementata di 1). Finchè la variabile *acquisition phase* è minore di 8 il sistema innesca una conversione del segnale ricevuto dalla sonda ricevente; quando diventa maggiore di 9, l'*acquisition phase* viene azzerata perchè il ciclo di acquisizione è completo (vedi paragrafo 2.4). Una volta seguito questo percorso, il microcontrollore riprende da dove era stato interrotto nel momento della richiesta di *interrupt*.



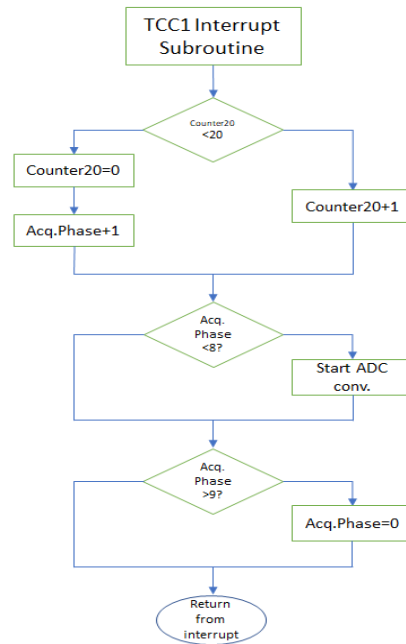


Figura 4.8: Flow chart della subroutine di risposta ad interrupt.

Completate le acquisizioni su entrambe le sonde (*acquisition phase*  $\geq 8$ ), si esce dalla funzione di acquisizione e si entra in quella di *Processing*. In questa *subroutine*, a partire dai 20 campioni ottenuti durante le singole fasi di acquisizione, vengono calcolati: il risultato finale, il valore massimo, quello minimo e la deviazione standard. Una volta processato, il segnale è pronto per essere trasmesso al computer dell'operatore via USB (*Transmission*). Riportando l'attenzione sulla parte sinistra della figura 4.6, si può vedere che durante la fase di visualizzazione il dispositivo può ricevere tre comandi diversi: può passare al *Recording*, al *Recording+Visualization*, o può tornare al *Setting*.

### 4.2.6 Recording

La fase di *Recording* ( $A_f=5$ ) è quella che mette in risalto le innovative caratteristiche del sistema realizzato: infatti, quando il *device* è nella modalità di registrazione permette di effettuare acquisizioni di segnale NIRS in assenza di collegamento al computer. Questa caratteristica permette all'operatore di effettuare acquisizioni anche su pazienti in movimento consentendo così un notevole, con ampliamento delle possibilità di utilizzo del dispositivo.

Nella parte destra dell'immagine 4.9 è rappresentato il *flow chart* della *REC routine*: si può

notare che anche in questo caso sono presenti le *subroutine* di *Acquisition* e di *Processing* (identiche a quelle descritte nel paragrafo precedente).

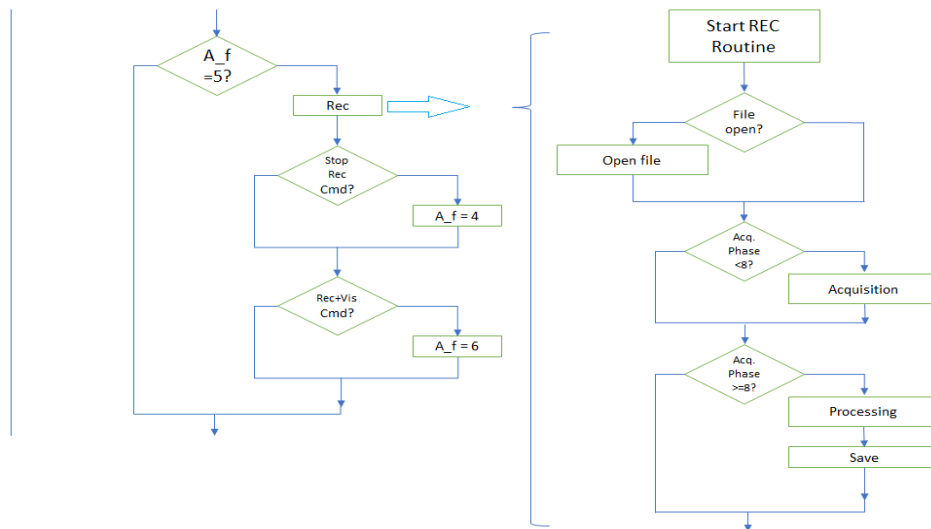


Figura 4.9: Flow chart della fase di *Recording* sulla sinistra; sulla destra focus sulla *REC routine*.

Le novità sono rappresentate dalle funzioni *Open file* e *Save*. La prima, eseguita solamente se non ci sono altri *file* aperti, verifica che i dati del paziente inseriti durante la fase di *Setting* siano già presenti in memoria (vedi figura 4.10): se il controllo dà esito negativo, vengono creati una cartella (denominata *USER*, che conterrà tutte le acquisizioni effettuate sul paziente) ed un *file* con estensione testo (.txt) (nel quale vengono inseriti i dati del paziente). Questo file, chiamato *userinfo.txt*, è utilizzato anche durante la fase di *Download* per individuare la cartella del paziente d'interesse. Una volta creata la cartella utente o trovato un *match* tra i dati anagrafici inseriti e quelli presenti in memoria, la cartella *USER* viene aperta e viene creato un nuovo file in formato binario (.bin).

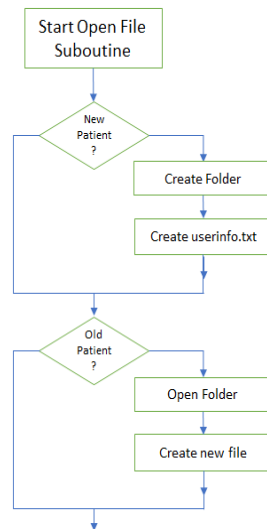


Figura 4.10: Flow chart della subroutine *Open File*.

Una volta generato ed aperto un nuovo *file*, il sistema può procedere eseguendo la *subroutine* di acquisizione. L'ultima parte del *Recording* è dedicata al *Processing* ed al salvataggio dei dati ottenuti nella memoria *microSD*. Durante questo processo di memorizzazione il file binario creato in precedenza viene aperto, scritto e chiuso ripetutamente, in modo tale che un'eventuale interruzione dell'alimentazione non causi la perdita dei dati acquisiti. Questo accorgimento comporta un significativo rallentamento nel funzionamento del *device*. Al fine di evitare rallentamenti durante le fasi di acquisizione (potenzialmente traducibili in perdita di campioni), si è deciso di dedicare le ultime due fasi di acquisizione (8 e 9) esclusivamente alla trasmissione ed al salvataggio dei dati.

Terminata la *routine* di *Recording*, il sistema verifica l'arrivo dei comandi che possono far tornare il *device* alla *Visualization* (interrompendo il salvataggio dei dati) oppure farlo accedere alla modalità *Recording+Visualization*.

#### 4.2.7 *Recording+Visualization*

Quest'ultima fase ( $A_f=6$ ) combina le funzioni di salvataggio e di visualizzazione descritte nei due paragrafi precedenti. Come si può vedere nella figura 4.11, il sistema effettua una verifica dello stato della connessione USB: se la connessione risulta assente, il *device* automaticamente entra nella modalità *Recording*; in caso contrario, procedere con la *routine VIS+REC*. La struttura di questa funzione è la medesima di quella di *Recording*,

con l'aggiunta della *subroutine* di *Transmission*. I comandi che possono essere eseguiti durante questa fase sono relativi al ritorno alla modalità di *Visualization* o a quella di *Recording*.

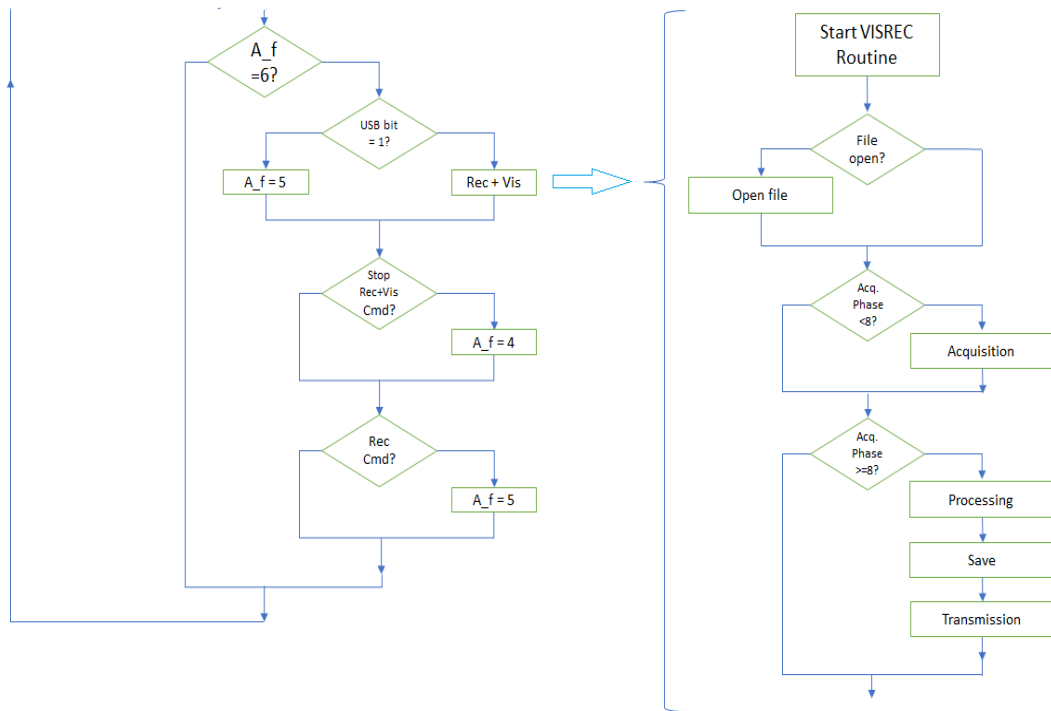


Figura 4.11: Flow chart della fase *Recording+Visualization*.

# Capitolo 5

## Design del Software

Il seguente capitolo presenta l'applicazione MatLab creata per la gestione del sistema NIRS sviluppato. Verranno descritte l'interfaccia utente e le attività che la stessa consente di svolgere.

### 5.1 Descrizione dell'Interfaccia Utente

L'interfaccia utente, sviluppata tramite il *tool* di MatLab *AppDesigner*, permette al *device* di eseguire tutte le funzioni descritte nei capitoli precedenti. Per semplificarne l'utilizzo, il software è costituito da quattro pagine, in ognuna delle quali vengono svolte attività differenti.

#### 5.1.1 Setting Page

La prima pagina (figura 5.1) è quella di *setting*, tramite la quale l'utente ha la possibilità di scegliere alcuni parametri, quali la connessione USB da utilizzare e se utilizzare una o entrambe le sonde. Per prima cosa è necessario premere il tasto *Search*, che fornisce all'utente la lista delle porte COM disponibili. Scelta una porta, si preme il tasto *Verify Connection* che attiva una *routine* la quale, a sua volta, verifica la connessione, trasmettendo un segnale al dispositivo: se la connessione scelta è giusta, il dispositivo invia una stringa di risposta al computer ed appare un *pop-up* che notifica l'avvenuta connessione; in caso contrario, viene richiesto all'utente di scegliere un'altra porta COM. Effettuata la connessione con il *device*, è possibile premere il tasto *Set Probe*, che avvia la trasmissione

al dispositivo di una stringa contenente la scelta della sonda. A questo punto il computer attende una risposta: se la sonda selezionata è collegata, appare sullo schermo un *pop-up* con la scritta *"Probe Selected"*, che segnala l'esito positivo dell'operazione. Se invece la connessione con il *device* non va a buon fine, appare sullo schermo la scritta *"There are problems with the connection"*, evento che si verifica quando il dispositivo non è connesso al computer tramite USB.

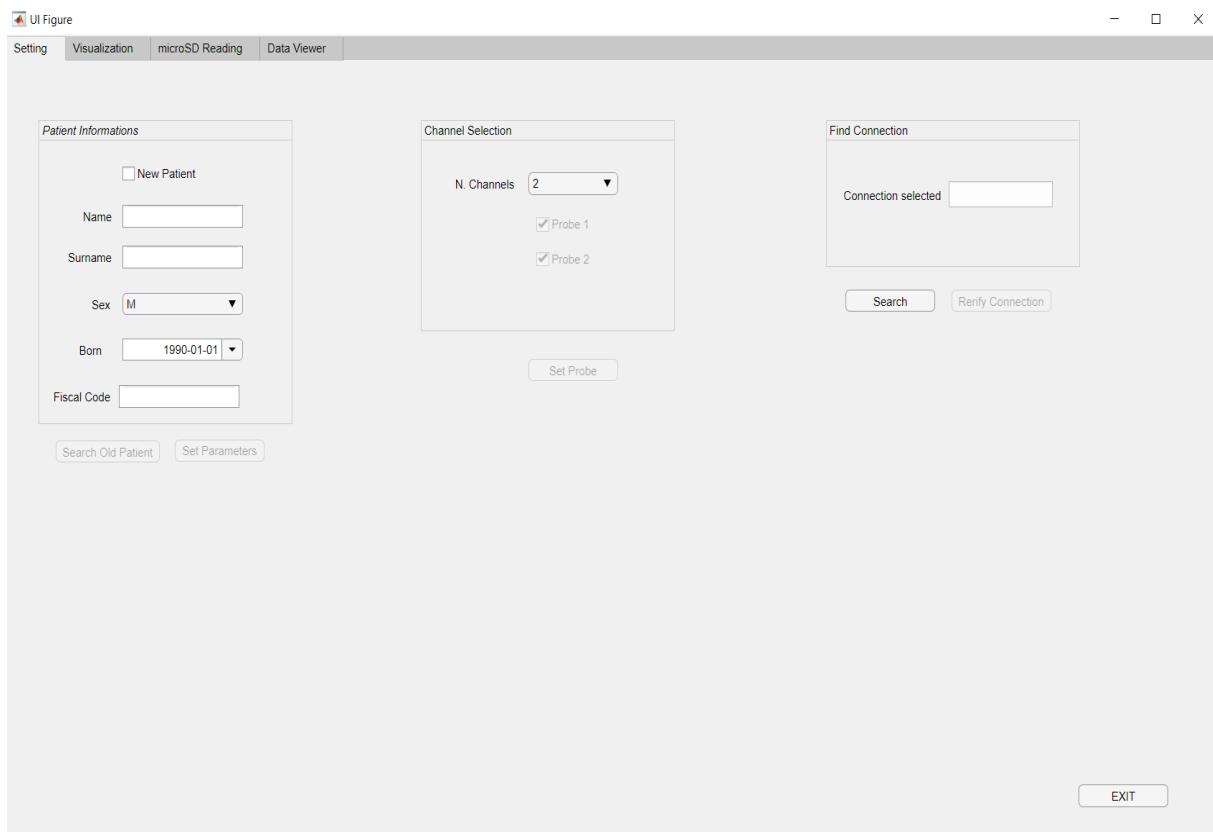


Figura 5.1: Prima pagina dell'interfaccia utente, dedicata all'inserimento dei dati del paziente ed alla selezione della sonda da utilizzare.

Se la scelta della sonda va a buon fine, il *software* permette all'utente l'inserimento dei dati anagrafici del paziente: nome, cognome, data di nascita, sesso e codice fiscale. La mancata compilazione delle caselle impedisce all'utente di effettuare il caricamento dei parametri sul dispositivo, segnalato dalla scritta *"Please, insert patient data"*. Se tutti i parametri vengono inseriti, il *software* si collega al *device*, trasmettendo i dati del paziente e la data. A questo punto, se l'esito dell'operazione è positivo sullo schermo appare una finestra con la scritta *"Setting Done"*. Se il dispositivo viene utilizzato su un paziente i cui

dati anagrafici sono già presenti in memoria, non è necessario l'inserimento manuale: per avere la lista dei pazienti memorizzati sul *device* sarà sufficiente premere il tasto *Search Old Patient*.

### 5.1.2 Visualization Page

Una volta terminata la fase di *setting*, è possibile passare alla pagina successiva, quella di *Visualization* (figura 5.2). L'unico tasto che è possibile premere in questa pagina è quello che dà inizio alla fase di visualizzazione (*Start Visualization*). Iniziato il processo di visualizzazione, in ognuno dei due riquadri in alto appaiono due curve, relative rispettivamente all'O<sub>2</sub>Hb (in rosso) e alla HHb (in blu). Allo stesso tempo, nei due riquadri in basso compare un istogramma a tre barre, indice della qualità del segnale che si sta acquisendo: le prime due barre indicano l'intensità del segnale acquisito relativo ai LED 1 e 2 della sonda emittente; la terza barra indica l'intensità del rumore di fondo. La qualità del segnale è buona quando le prime due barre dell'istogramma hanno un valore molto maggiore rispetto alla terza. I valori del rapporto segnale-rumore (*Signal to Noise Ratio*, SNR), posti ai lati dei cursori, sono anch'essi indicativi della qualità del segnale: se l'SNR è basso, è bassa anche la qualità del segnale. Se quest'ultima è troppo bassa, l'utente può intervenire modificando la luminosità dei led delle sonde emittenti spostando a destra o a sinistra i cursori a fondo pagina, utilizzabili esclusivamente durante la fase di visualizzazione. Altre due funzioni interessanti sono svolte dai bottoni *Zero Set Point* e *Put Marker*, i quali permettono rispettivamente di impostare un nuovo riferimento nei due grafici e di inserire un *marker* sulle curve.

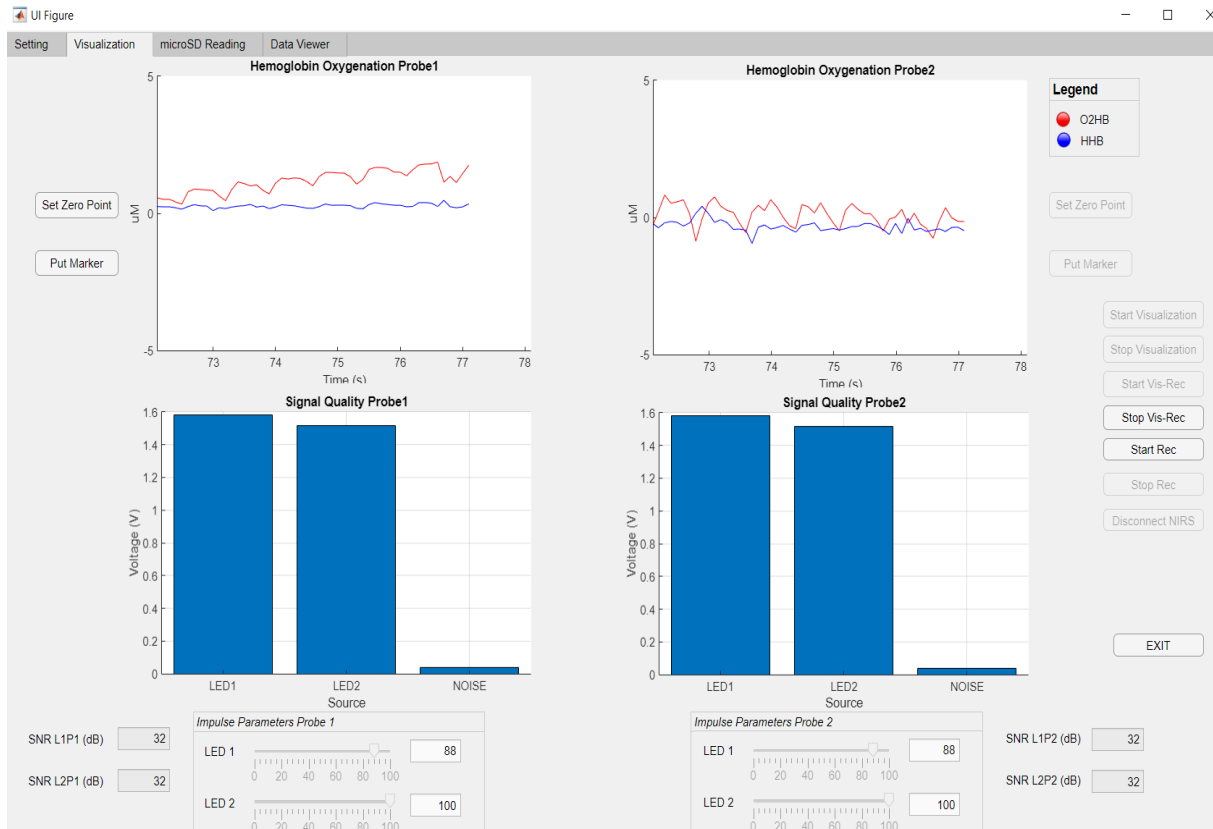


Figura 5.2: Seconda pagina dell'interfaccia utente, dedicata all'acquisizione ed alla visualizzazione del segnale.

Durante la fase di visualizzazione è possibile dare inizio alle fasi di *Recording* o di *Recording+Visualization*. Come detto nel capitolo precedente, entrambe le modalità prevedono il salvataggio dei dati acquisiti. Durante la fase di sola registrazione il microcontrollore interrompe la trasmissione dei dati al computer, causando un'interruzione dello *streaming* sui quattro riquadri della pagina. In questa fase, se l'operatore decide di interrompere la connessione USB, è necessario premere il tasto "*Disconnect NIRS*" che interrompe il collegamento seriale. Se l'operatore vuole tornare alla fase di visualizzazione è sufficiente premere il tasto *Stop Rec*.

Se invece si vuole iniziare la fase di *Recording+Visualization*, lo *streaming* dei dati non viene interrotto e, oltre al salvataggio dei dati grezzi operata dal microcontrollore, il software effettua il salvataggio dei dati elaborati, che vengono salvati all'interno della cartella *Elaborated data* (creata automaticamente qualora non presente). Si ricorda inoltre la possibilità di passare da questa fase a quella di *Recording* (e viceversa) tramite la pressione del tasto *Start Rec* (o *Start Vis Rec* se si parte dalla visualizzazione). Per tornare



alla fase precedente, invece, è sufficiente premere il bottone *Stop Vis Rec.*

Quando l'operatore decide di terminare un'acquisizione deve seguire due semplici passaggi: tornare alla fase di visualizzazione e, successivamente, premere il tasto *Stop Visualization.* Se la procedura va a buon fine, appare una finestra con la scritta *Acquisition completed.*

### 5.1.3 MicroSD Reading Page

Una volta terminata l'acquisizione, è possibile passare alla pagina *MicroSD Reading* (figura 5.3), nella quale l'utente ha la possibilità di trattare i dati presenti nella memoria del *device.*

Tramite la pressione del tasto *Open* il software interroga il dispositivo e richiede la lista dei pazienti sui quali è stato utilizzato il sistema NIRS. A questo punto l'utente può cancellare tutti i dati relativi ad un paziente (tasto *Delete Patient*) oppure scaricare la lista delle acquisizioni relative a quel paziente (tasto *Open*). Infine, l'operatore può decidere se eliminare (*Delete File*) o scaricare (*Download File*) il file scelto.

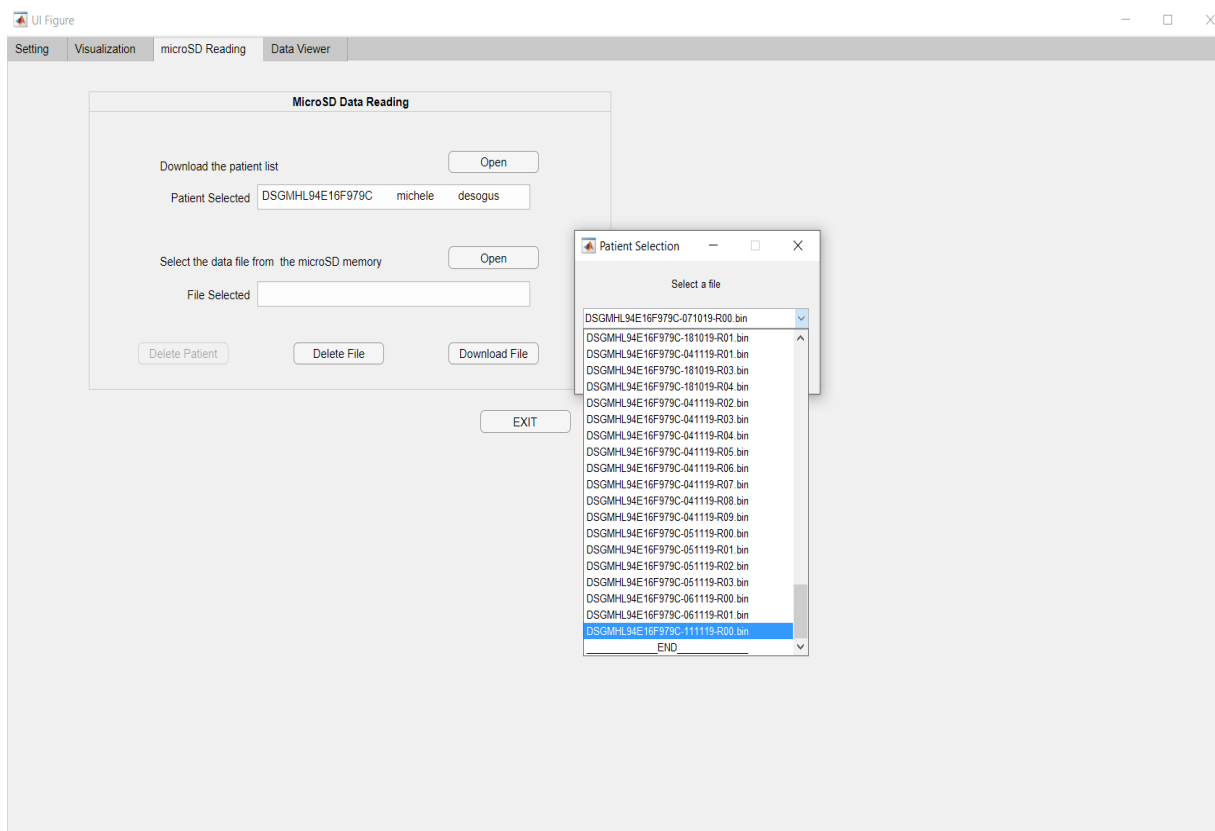


Figura 5.3: Terza pagina dell'interfaccia utente, dedicata allo scaricamento o alla cancellazione dei dati in memoria.

### 5.1.4 Data Viewer

La quarta ed ultima pagina dell'interfaccia utente è quella dedicata alla visione dei dati acquisiti (*Data Viewer*). Questa pagina presenta il solo tasto *Open* (figura 5.4), che permette di selezionare il segnale da visualizzare: il codice è scritto in modo da dare la possibilità di scegliere indifferentemente un segnale elaborato o un segnale non elaborato (dato grezzo scaricato dalla memoria del *device*). Se si seleziona un file grezzo, il *software* automaticamente lo elabora risolvendo la legge di Lambert Beer modificata ed applicando un filtro passa-basso (con frequenza di taglio di 0.5 Hz) al fine di eliminare la maggior parte degli artefatti. Se, invece, è selezionato un file già elaborato (generato da MatLab durante la fase di Visualization+Recording) il segnale viene solamente aperto e filtrato.

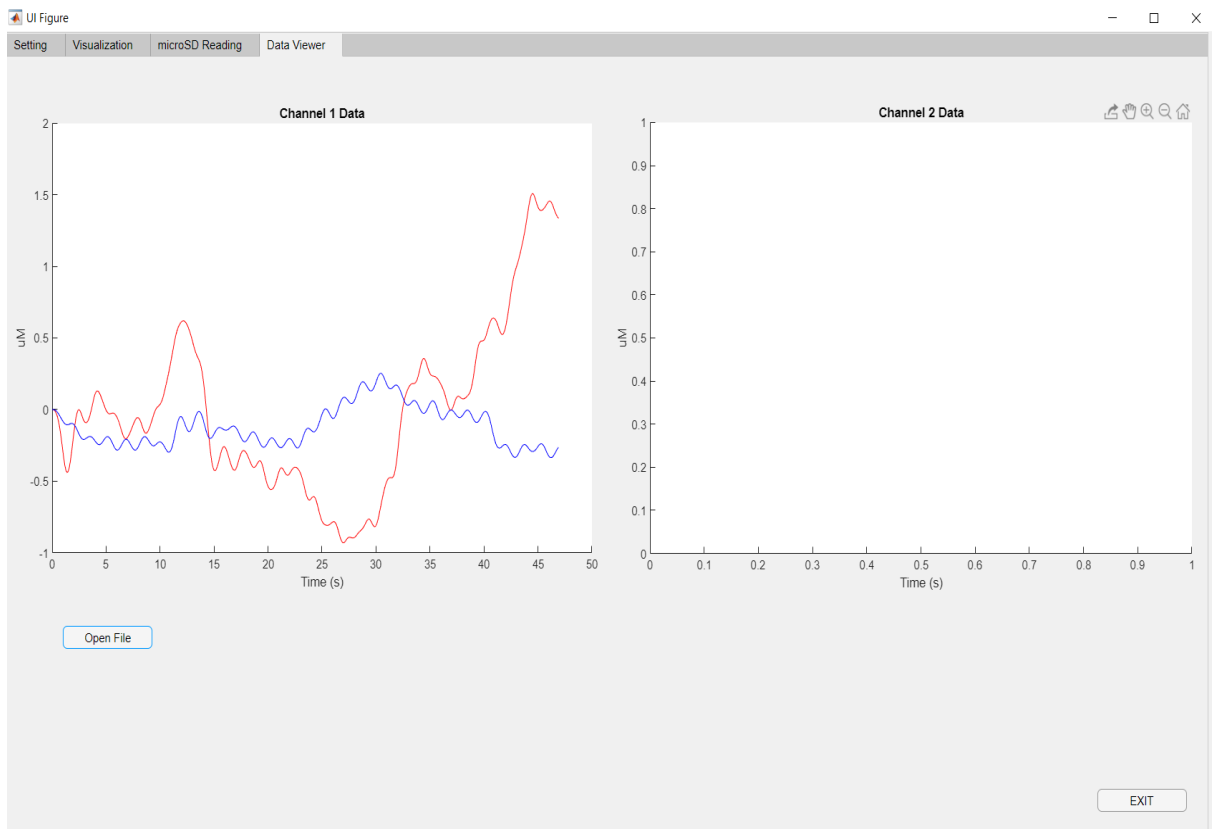


Figura 5.4: Quarta pagina dell'interfaccia utente, dedicata alla visualizzazione dei dati acquisiti.

La frequenza di taglio è stata scelta dopo aver valutato la densità spettrale di potenza presentato in figura 5.5: come si può vedere, il filtro è stato implementato per eliminare la componente ad 1 Hz relativa alla respirazione.

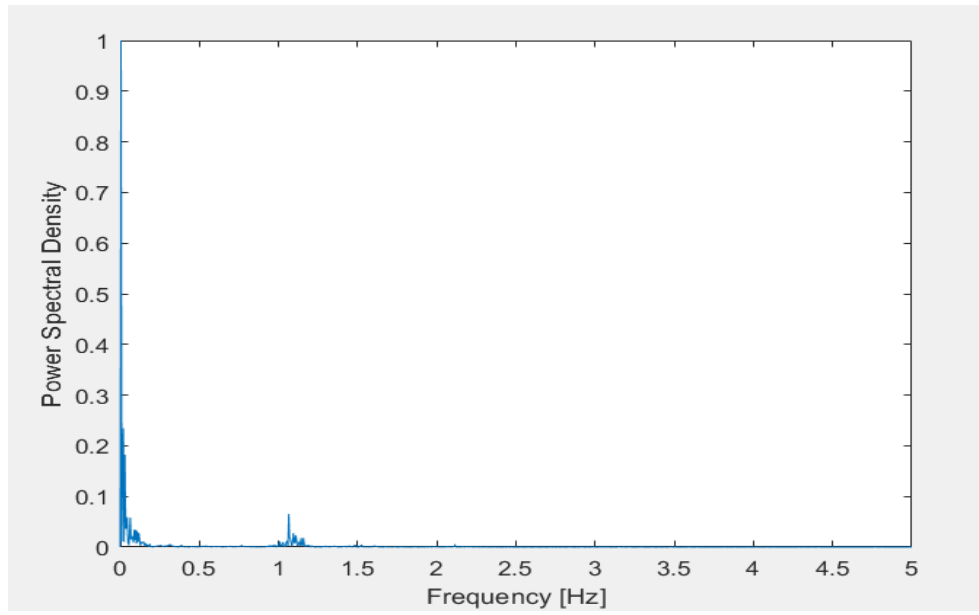


Figura 5.5: Densità spettrale di potenza del segnale NIRS.

# Capitolo 6

## Risultati e Discussione

Il seguente capitolo si divide in tre parti: nella prima parte verranno presentate le prove effettuate per verificare il funzionamento del prototipo dal punto di vista elettronico, seguirà la presentazione ed il commento dei segnali rilevati su alcuni soggetti ed, infine, le prestazioni del prototipo saranno confrontate con quelle di un dispositivo NIRS commerciale.

### 6.1 Test dell'Hardware

Durante lo sviluppo del firmware la verifica del corretto funzionamento del dispositivo è stata effettuata utilizzando l'oscilloscopio a quattro canali *MSO6014A* prodotto da Agilent.

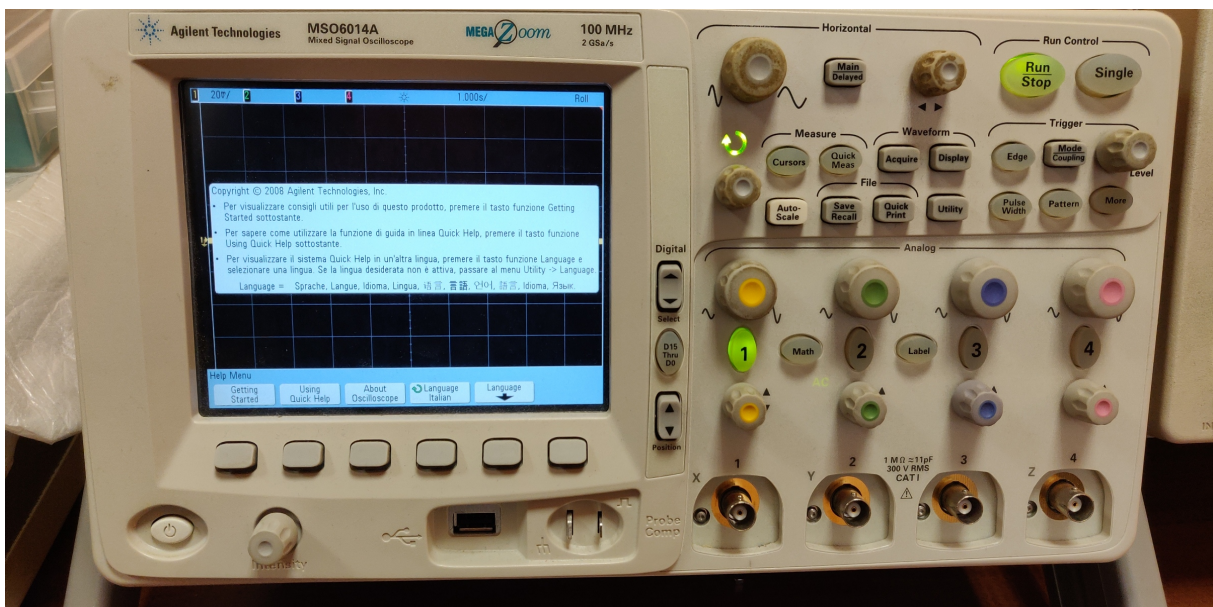


Figura 6.1: Oscilloscopio *MSO6014A* di Agilent.

L'immagine 6.2 fornisce numerose indicazioni sul corretto funzionamento del dispositivo in fase di acquisizione del segnale NIRS: innanzitutto è possibile vedere le variazioni di tensione in uscita dal fotodiode (curva rosa in alto) in risposta ai fotoni incidenti emessi dai tre LED. Le curve nella parte bassa dell'immagine (curva gialla, verde e viola) rappresentano le tensioni misurate in uscita alle tre DAC che pilotano il sistema di accensione e di spegnimento dei LED montati sulla sonda emittente. È interessante vedere come la risposta del fotodiode ai fasci di fotoni emessi sia pressoché immediata e differenziata. Altro particolare molto importante è che i quattro i segnali si ripetono con una periodicità pari a 100 ms (ogni due quadratini il segnale si ripete).

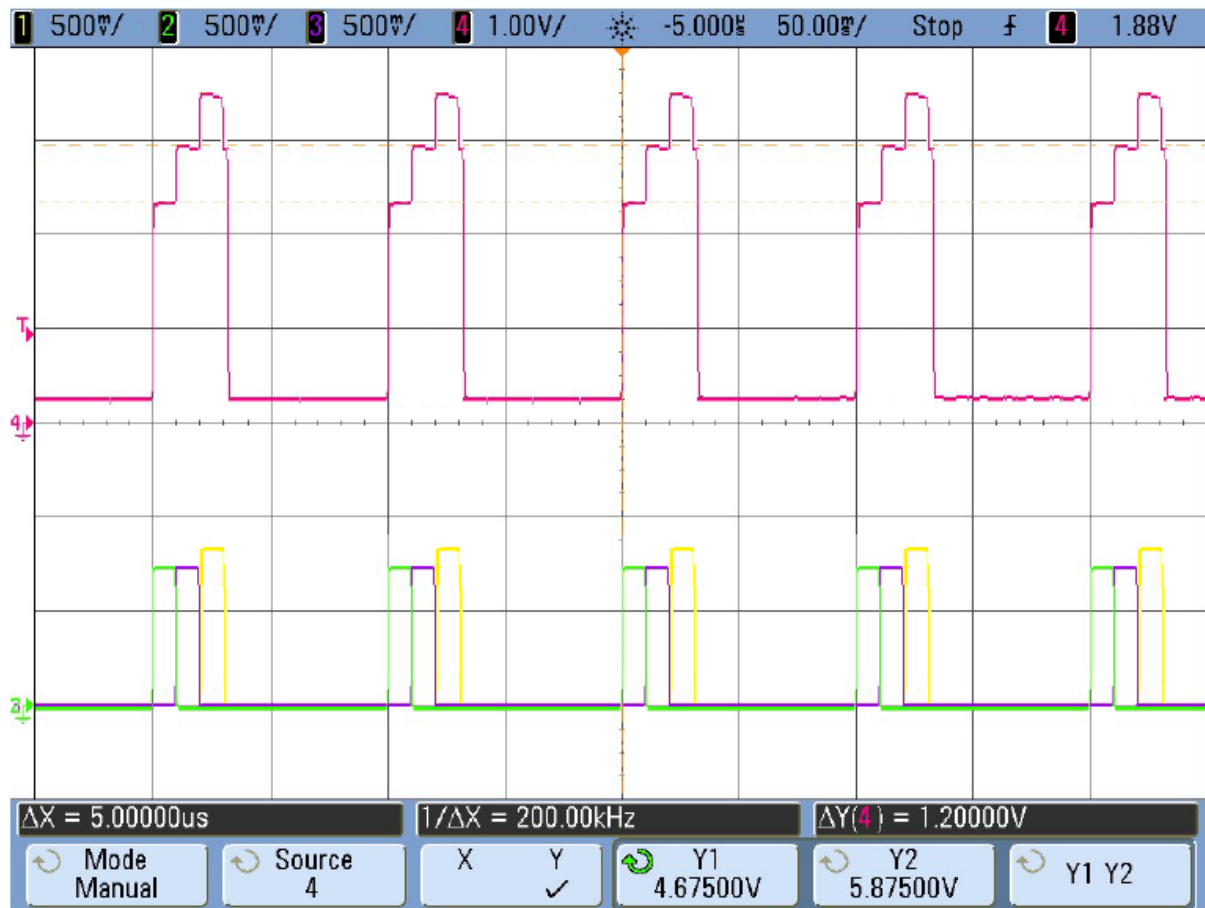


Figura 6.2: Immagine acquisita dall'oscilloscopio *MSO6014A* di Agilent. I tre segnali in basso (verde, giallo e viola) rappresentano la tensione in uscita alle DAC; il segnale in alto a gradini (in rosa) è la tensione in uscita dal fotodiode.

Nell'immagine 6.3 il segnale rosa in alto rappresenta il livello logico di un pin di controllo (alto quando l'ADC inizia a convertire il segnale e basso quando la conversione è terminata ed è salvata in un vettore). Come si può notare, le acquisizioni continuano

anche dopo lo spegnimento del terzo LED per ulteriori 10 ms, lasso di tempo durante il quale viene acquisito il rumore di fondo.

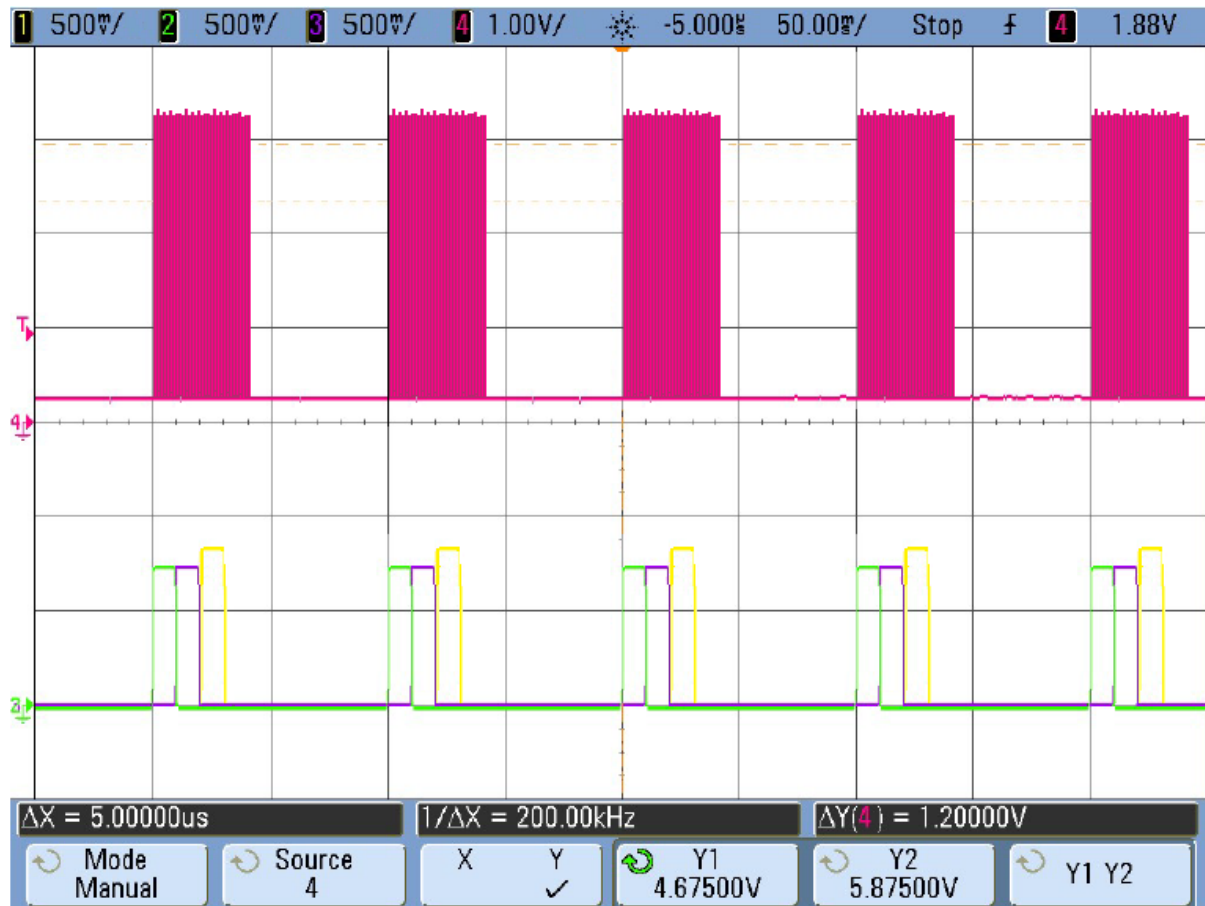


Figura 6.3: Immagine acquisita dall'oscilloscopio *MSO6014A* di Agilent. I tre segnali in basso (verde, giallo e viola) rappresentano la tensione in uscita alle DAC; il segnale in alto (in rosa) rappresenta l'attività dell'ADC.

## 6.2 Test sui soggetti

Una volta verificato il funzionamento del prototipo dal punto di vista elettronico, si è proceduto a verificare che il metodo implementato fosse effettivamente informativo da un punto di vista biologico: in altre parole, i segnali  $[O_2Hb]$  e  $[HHb]$  osservati devono avere il comportamento biologico atteso. Per raggiungere questo obiettivo è stato richiesto ai soggetti di svolgere tre tipi di attività:

1. Apnea inspiratoria;
2. Apnea espiratoria;

### 3. Iperventilazione.

Ogni sessione di test inizia con la ricerca del miglior posizionamento delle sonde: tale scelta viene effettuata valutando i valori degli istogrammi blu (indicativi della qualità del segnale) e degli indicatori SNR. Il tipico posizionamento della sonda è mostrato nella figura 6.4. È importante evidenziare che, nel caso di utilizzo del prototipo in modalità bicanale (con due sonde), emerge la necessità di posizionare entrambe le sonde emittenti sulle tempie del soggetto in modo da evitare che il fascio emesso da una sia intercettato dalla sonda ricevente dell'altra.



Figura 6.4: Tipico posizionamento della sonda sul soggetto: sonda emittente sulla tempia, rilevatore sulla fronte.

Le tre prove sono state effettuate su soggetti non fumatori in buone condizioni di salute seguendo il seguente protocollo: 1) al soggetto viene richiesto di rilassarsi (per circa 5-6 minuti), di chiudere gli occhi e respirare in maniera spontanea, in modo tale che l'andamento delle curve dell'emoglobina ossigenata e deossigenata sia stabile; 2) il soggetto entra nello stato di apnea o iperventilazione per un tempo di compreso tra i 40 ed i 60 secondi; 3) il soggetto torna ad assumere una respirazione naturale finchè le curve non tornano ad avere un andamento stabile (5-6 minuti). Tale protocollo è stato attuato al fine di rendere più ripetibili le acquisizioni.

Si anticipa che in tutti i grafici che saranno mostrati di seguito la curva rossa rappresenterà l' $[O_2Hb]$ , mentre la curva blu rappresenterà la  $[HHb]$ ; inoltre sull'asse delle ordinate verrà riportata la concentrazione dei due tipi di emoglobina in micro moli ( $\mu M$ ), mentre sull'asse delle ascisse verrà riportato il tempo in secondi (s).

### 6.2.1 Descrizione e Commento dei Risultati

La prima prova effettuata è l'apnea inspirata: al soggetto è richiesto entrare in uno stato di apnea subito dopo un'inspirazione. Il fenomeno che si è manifestato nella maggior parte dei casi è quello riportato nella figura 6.5: a circa 15-20 secondi dall'inizio dello stato di apnea (segnato dalle due barre nere) i vasi cerebrali si dilatano causando un aumento dei valori di emoglobina ossigenata, mentre la concentrazione di HHb rimane pressochè costante (o si abbassa di poco). Conclusa la fase di apnea, il soggetto torna a respirare normalmente; la prova si conclude quando  $[O_2Hb]$  e  $[HHb]$  tornano ai valori di partenza.

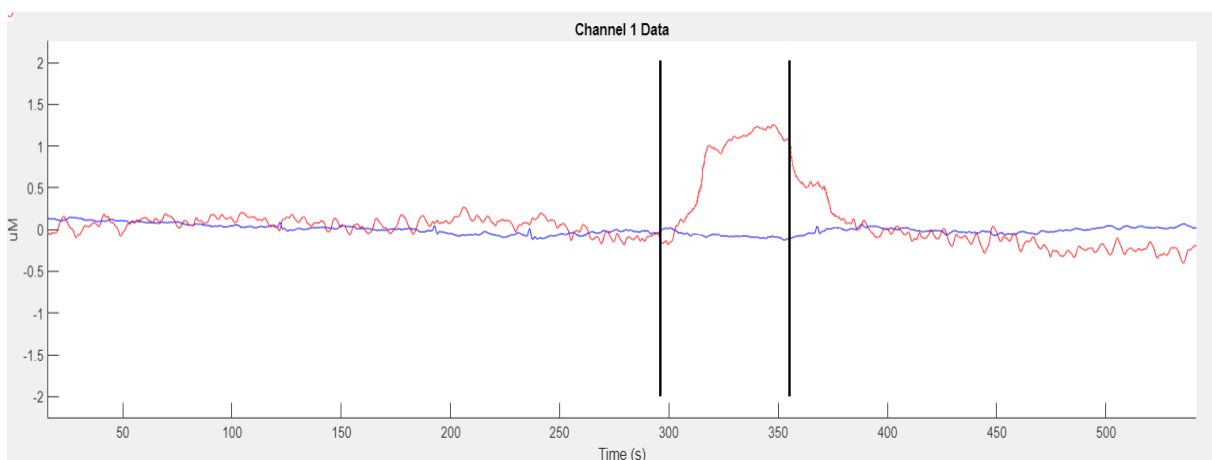


Figura 6.5: Risposta all'apnea inspirata.



La seconda prova effettuata è quella di apnea espirata (immagine 6.6): ai soggetti è stato richiesto di entrare in uno stato di apnea al termine di una espirazione e di protrarlo il più a lungo possibile. Il comportamento osservato durante queste prove è pressoché uguale a quello descritto in precedenza: l'emoglobina ossigenata cresce, mentre quella deossigenata mantiene un andamento costante. Unica differenza è la durata dell'apnea, più breve rispetto alla prova precedente. Anche in questo caso al termine dell'apnea i soggetti sono tornati a respirare normalmente e si è atteso che le curve di  $O_2Hb$  e  $HHb$  tornassero ai valori iniziali.

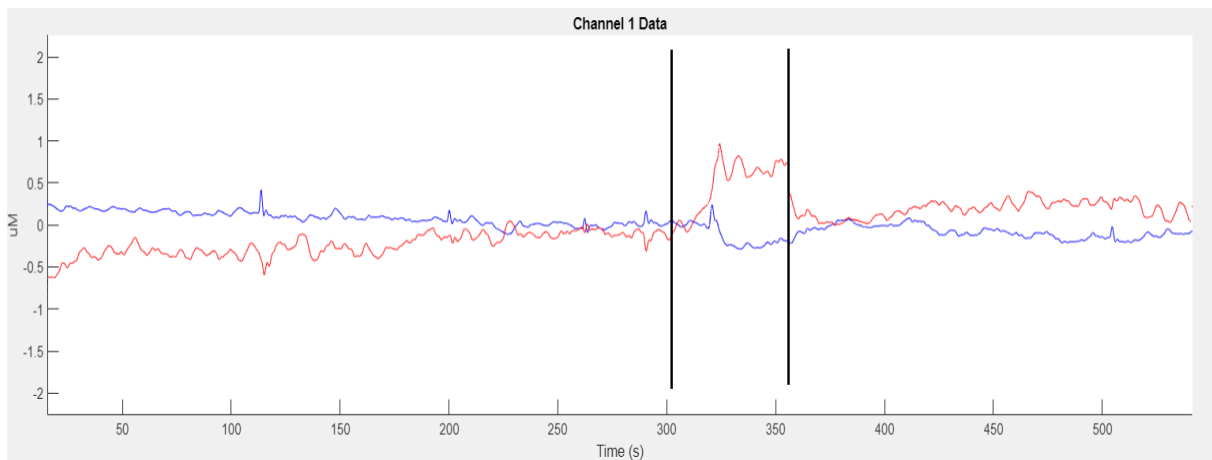


Figura 6.6: Risposta all'apnea espirata.

Terza ed ultima prova effettuata è l'iperventilazione. È stato richiesto ai soggetti di protrarre lo stato di iperventilazione per circa un minuto ed al termine della prova si è atteso che il segnale tornasse allo stato iniziale. Come si può vedere nell'immagine 6.8, la curva dell'emoglobina ossigenata si abbassa progressivamente scendendo al di sotto dell'emoglobina deossigenata. Una volta terminato lo stato di iperventilazione la curva torna ai valori iniziali. Questo fenomeno è dovuto al fatto che durante l'iperventilazione il cervello si protegge da un eccesso di ossigeno inducendo una costrizione dei vasi cerebrali. Su questa acquisizione è possibile notare degli artefatti da movimento, causati all'apertura degli occhi da parte del soggetto appena dopo la fine dello stato di iperventilazione.

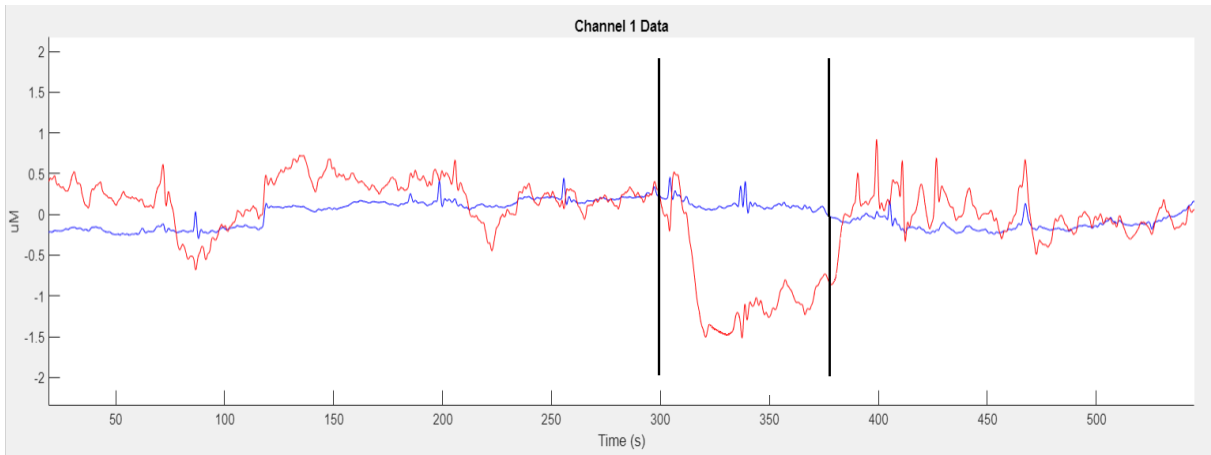


Figura 6.7: Risposta all'iperventilazione.

Poiché dall'analisi dei segnali acquisiti è emerso che il prototipo sviluppato può rilevare un segnale perfettamente conforme agli stimoli testati, lo abbiamo confrontato con un dispositivo commerciale.

### 6.3 Confronto con un Dispositivo Commerciale

Il dispositivo commerciale preso come riferimento durante il confronto è il *NIRO-200NX* di Hamamatsu (immagine 6.8). Questo *device* condivide con il prototipo sviluppato il numero di canali utilizzabili (due), ma si differenzia da esso per il metodo adottato per effettuare l'acquisizione, ossia l'onda continua (*continuous wave, CW*). Come già anticipato nel capitolo 2, questa tecnica consiste fondamentalmente nell'emissione di fasci di luce continua (tramite LED infrarossi) e nella misurazione dei cambiamenti di intensità di luce trasmessa attraverso il tessuto.


 Figura 6.8: *NIRO-200NX* di Hamamatsu.

Il problema più grande legato al *NIRO-200NX* è la portabilità: esso è un dispositivo discretamente ingombrante (254 x 279 x 190 mm) e pesante (circa 7 Kg). Inoltre, a causa della ridotta durata della batteria (circa 30 minuti), per poter effettuare più acquisizioni il *device* deve necessariamente essere collegato alla linea elettrica.

Per confrontare i due dispositivi è stato necessario trovare un soggetto che rispondesse agli stimoli in modo simile in entrambi gli emisferi cerebrali: tale verifica è stata fatta utilizzando il dispositivo Hamamatsu con entrambe le sonde applicate sulla fronte del soggetto. Una volta individuato il soggetto adatto, sono state effettuate le tre prove descritte in precedenza: apnea espirata, apnea inspirata ed iperventilazione.

### 6.3.1 Risultati del Confronto

Nelle immagini 6.9 e 6.10 sono riportate le curve acquisite rispettivamente con il *NIRO-200NX* e con il prototipo. Come si può vedere, il comportamento delle due curve è sovrapponibile. L'unica differenza evidente deriva dal fatto che il *device* Hamamatsu non filtra il segnale acquisito (ed è quindi più rumoroso), mentre il sistema sviluppato effettua anche il filtraggio. In entrambi i casi il segnale acquisito è coerente con la risposta fisiologica allo stimolo dell'apnea.

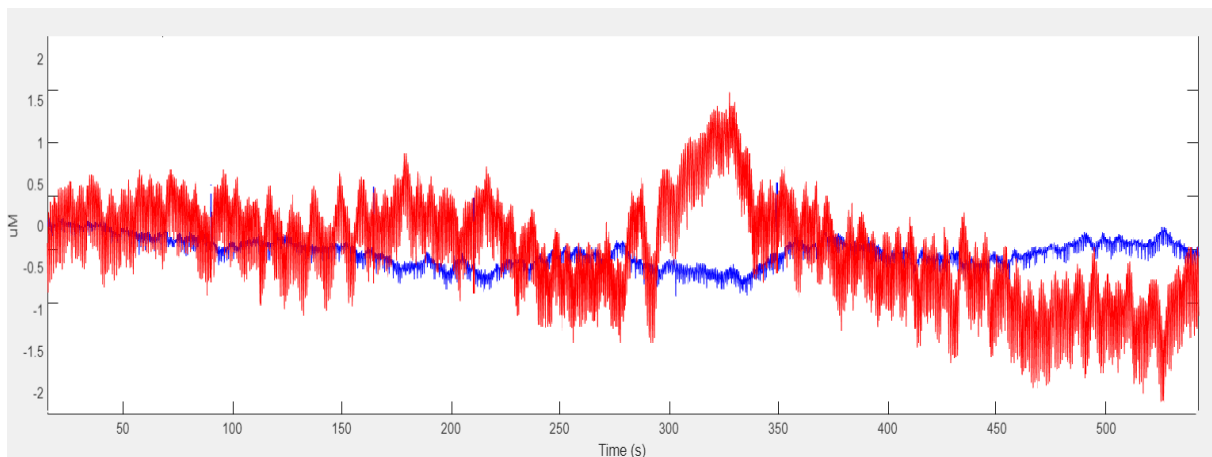


Figura 6.9: Risposta all'apnea inspirata misurata con l'Hamamatsu.

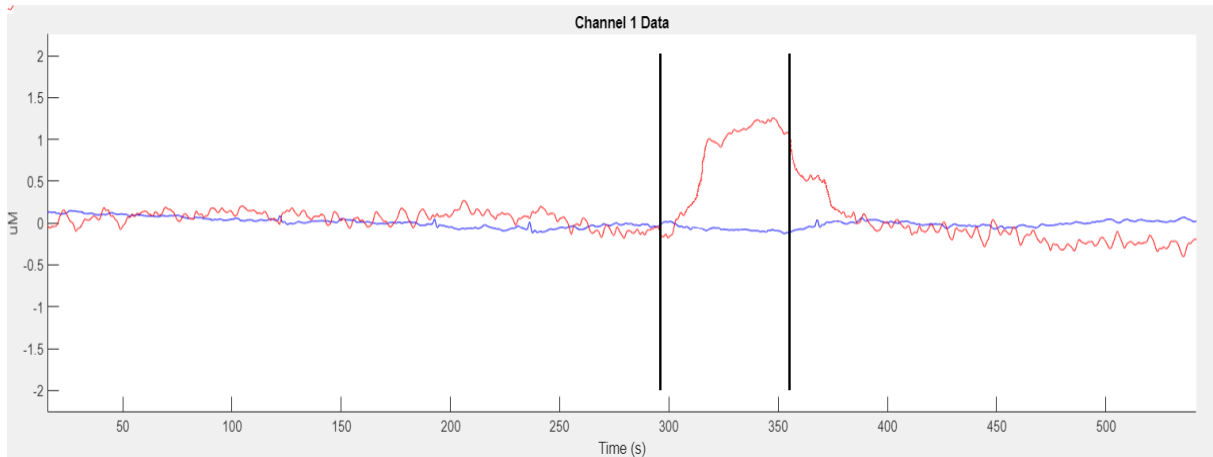


Figura 6.10: Risposta all'apnea inspirata misurata con il prototipo sviluppato.

Nelle immagini 6.11 e 6.12 sono riportate le curve acquisite ripettivamente con il *NIRO-200NX* e con il prototipo. Anche in questo caso il comportamento delle due curve è lo stesso, ad eccezione del maggior rumore presente sul segnale acquisito con il dispositivo commerciale. La durata dell'apnea (appena più breve) costituisce l'unica reale, ancorchè piccola, differenza rispetto al caso precedente, mentre il segnale acquisito è coerente con la risposta fisiologica allo stimolo dell'apnea.

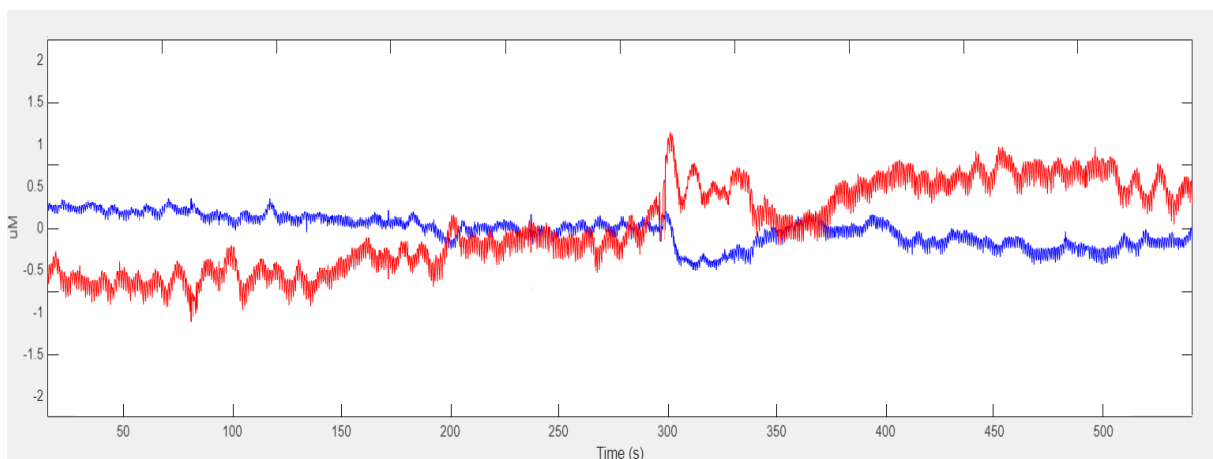


Figura 6.11: Risposta all'apnea espirata misurata con l'Hamamatsu.

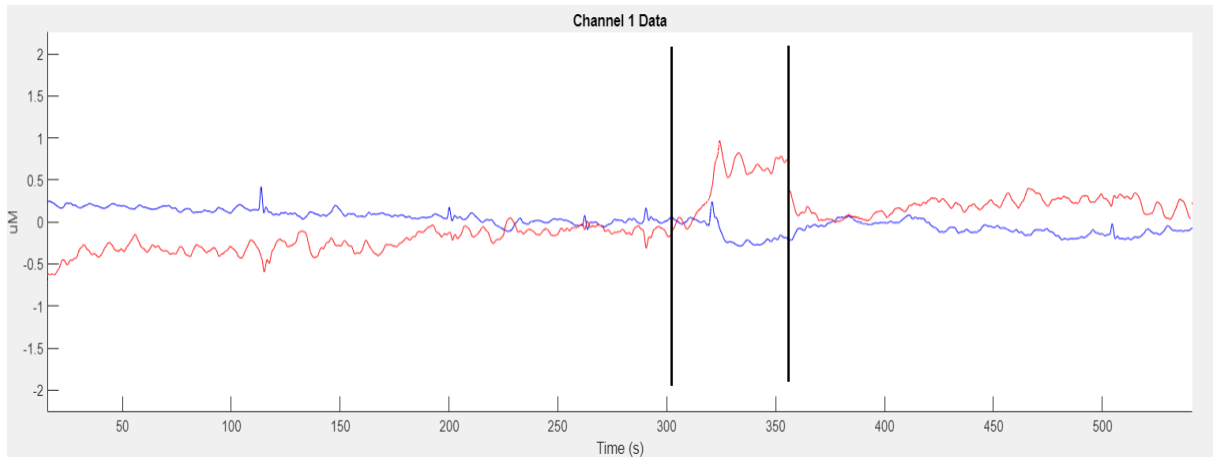


Figura 6.12: Risposta all'apnea espirata misurata con il prototipo sviluppato.

Nelle immagini 6.13 e 6.14 sono riportate le curve acquisite rispettivamente con il *NIRO-200NX* e con il prototipo. Anche in questo caso il comportamento delle due curve è lo stesso (e coerente allo stimolo di iperventilazione) ad eccezione del maggior rumore presente sul segnale acquisito con il dispositivo commerciale.

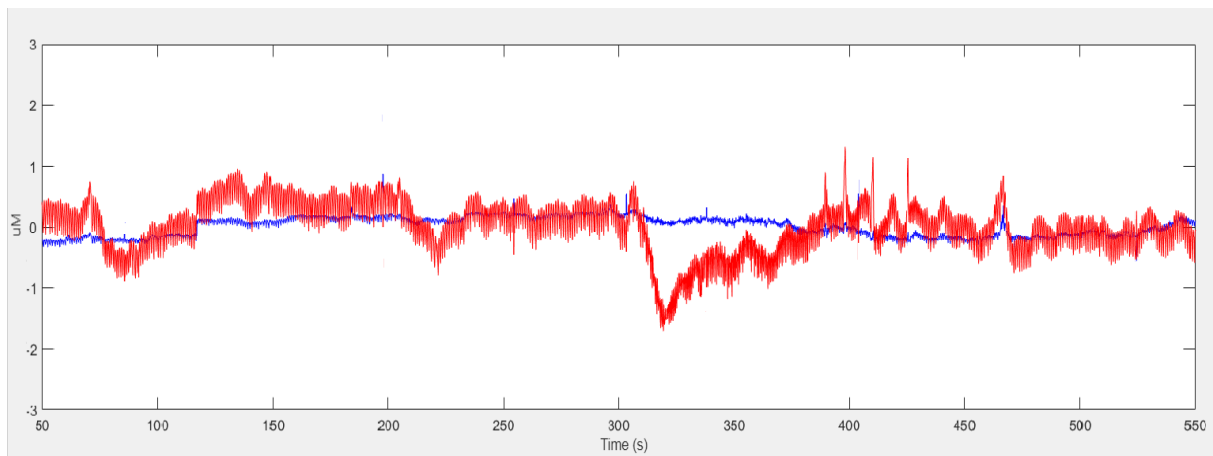


Figura 6.13: Risposta all'iperventilazione misurata con l'Hamamatsu.

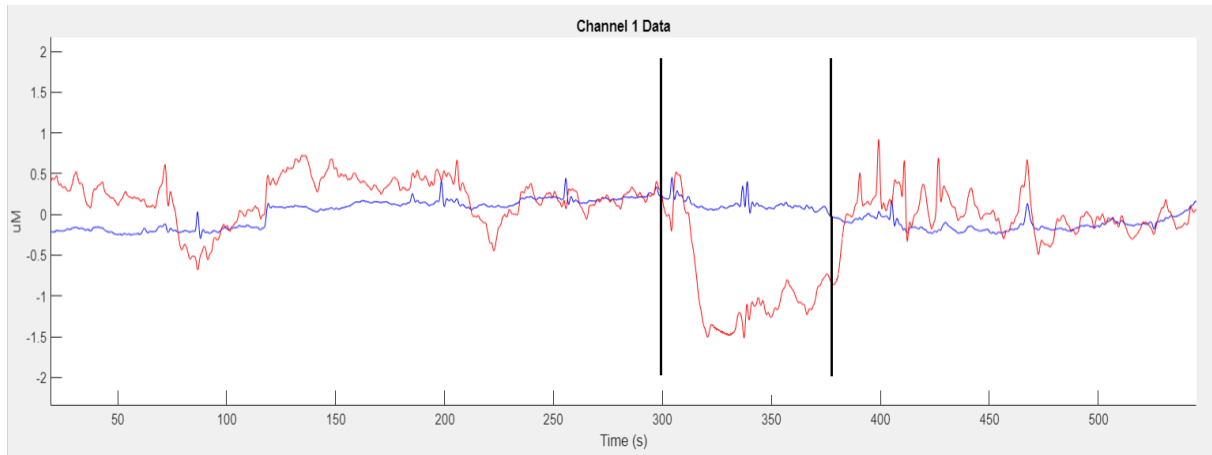


Figura 6.14: Risposta all'iperventilazione misurata con il prototipo sviluppato.

## 6.4 Criticità

Durante le numerose prove effettuate sono emerse alcune criticità.

La più rilevante consiste nella difficoltà di trovare la posizione ottimale delle sonde: infatti su ogni soggetto è stato necessario fare alcune prove prima di trovare la posizione migliore. Questo problema, riconducibile alle caratteristiche fisiche (dimensione e spessore) della scatola cranica di ogni individuo, è difficilmente risolvibile da un punto di vista tecnico.

La seconda criticità, invece, è dovuta alla presenza di artefatti da movimento causati nella maggior parte dei casi dal movimento degli archi sopraccigliari.

Un altro problema, derivante dal non corretto posizionamento delle sonde, si presenta se l'emettitore viene posizionato al di sopra un vaso sanguigno: in questo caso si nota una saturazione del segnale e diventa necessario utilizzare i cursori (descritti nel capitolo 5) per ridurre l'intensità della luce emessa dai led.

Ulteriore rilevante criticità consiste nella non ripetibilità del segnale NIRS in quanto esso è influenzato da numerosi fattori, quali lo stato emotivo del soggetto, la luminosità dell'ambiente, il rumore durante l'acquisizione. L'utilizzo del protocollo descritto in precedenza ci ha consentito di limitare questo problema. Nelle immagini 6.15 e 6.16 sono mostrati i segnali acquisiti con il prototipo e con il *device* Hamamatsu su un soggetto sottoposto ad apnea inspirata senza l'attuazione del protocollo. Come si può notare, la risposta registrata dai dispositivi non è compatibile con lo stimolo indotto dall'apnea:

l'emoglobina deossigenata si abbassa progressivamente e poi aumenta, mentre quella deossigenata si comporta in maniera opposta.

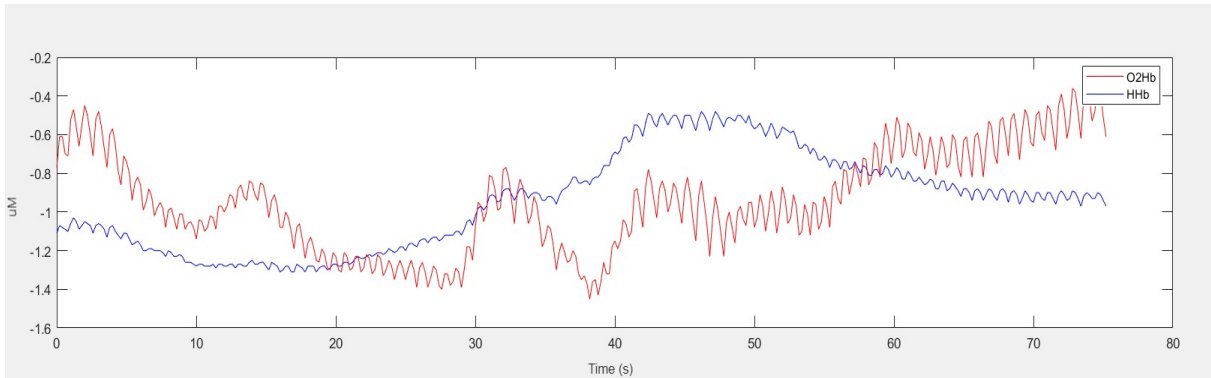


Figura 6.15: Risposta all'iperventilazione misurata con l'Hamamatsu.

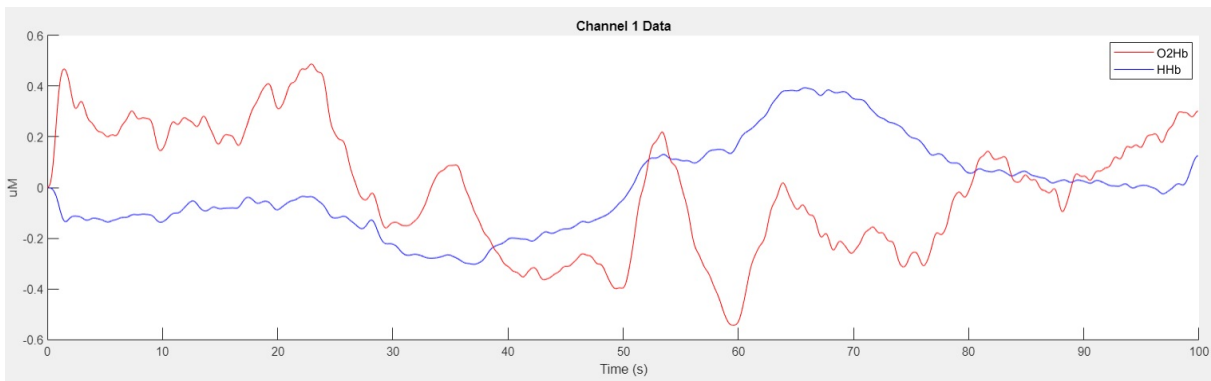


Figura 6.16: Risposta all'iperventilazione misurata con il prototipo sviluppato.

# Capitolo 7

## Conclusioni

Il lavoro di tesi si proponeva due obiettivi: il principale era quello di progettare e sviluppare un dispositivo NIRS portatile e compatto, capace di monitorare in tempo reale ed in diverse condizioni le variazioni di emoglobina ossigenata e deossigenata all'interno della scatola cranica di un soggetto; il secondo obiettivo era quello di creare un'interfaccia utente tramite la quale acquisire, visualizzare e processare il segnale NIRS.

Il prototipo è stato in grado di ottenere risultati coerenti con gli stati fisiologici studiati ed analoghi a quelli acquisiti con il *NIRO-200NX* di Hamamatsu (sistema già presente in commercio).

Rispetto al sistema preso come riferimento, il prototipo permette alcune funzioni aggiuntive:

- la possibilità di modulare l'intensità luminosa erogata dalla sonda emittente (in modo da adattare il *setting* di acquisizione al singolo soggetto);
- la possibilità di eseguire un processo di filtraggio del segnale che ne permette una migliore interpretazione;
- la portabilità (grazie al peso ed alle dimensioni decisamente più contenuti );
- la durata della batteria che supera le 10 ore (contromezz'ora);
- la possibilità di effettuare acquisizioni di segnale NIRS anche su soggetti in movimento, elemento suscettibile di interessanti sviluppi.



A fronte dei risultati descritti, è possibile sostenere che gli obiettivi della tesi siano stati centrati con successo. Il dispositivo sviluppato si propone, infatti, come un'alternativa compatta, portatile ed economica ai *device* attualmente presenti in commercio.

## 7.1 Sviluppi Futuri

Durante il lavoro di tesi è stato possibile partecipare alla realizzazione del circuito stampato del prototipo. Attualmente siamo in attesa dei componenti necessari per realizzare fisicamente il dispositivo e ci si aspetta che, una volta montato, le prestazioni generali rimangano invariate rispetto alla versione attuale e che siano suscettibili di ulteriori miglioramenti.

Un altro possibile sviluppo futuro potrebbe essere l'ottimizzazione e la commercializzazione del prototipo. In questa ottica è necessario specificare che il prototipo ha come unica destinazione d'uso la ricerca e quindi non è un dispositivo medico. Pertanto, deve soddisfare le direttive 2006/95/CE (relativa ai dispositivi a bassa tensione) e 2004/108/CE (relativa alla compatibilità elettromagnetica) e non la direttiva dispositivi medici 2017/745.

# Bibliografia

- [1] Alifia Tameem e Hari Krovvidi. “Cerebral physiology”. In: *Continuing Education in Anaesthesia, Critical Care & Pain* 13.4 (2013), pp. 113–118.
- [2] Peter Safar. “Cerebral resuscitation after cardiac arrest: a review.” In: *Circulation* 74.6 Pt 2 (1986), pp. IV138–53.
- [3] Bahram Mokri. “The Monro–Kellie hypothesis: applications in CSF volume depletion”. In: *Neurology* 56.12 (2001), pp. 1746–1748.
- [4] Frans F Jobsis. “Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters”. In: *Science* 198.4323 (1977), pp. 1264–1267.
- [5] Arno Villringer et al. “Near infrared spectroscopy (NIRS): a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults”. In: *Neuroscience letters* 154.1-2 (1993), pp. 101–104.
- [6] Judith H Meek et al. “Regional hemodynamic responses to visual stimulation in awake infants”. In: *Pediatric Research* 43.6 (1998), p. 840.
- [7] Miles Tsuji et al. “Near infrared spectroscopy detects cerebral ischemia during hypotension in piglets”. In: *Pediatric research* 44.4 (1998), p. 591.
- [8] Yoko Hoshi. “Functional near-infrared optical imaging: Utility and limitations in human brain mapping”. In: *Psychophysiology* 40.4 (2003), pp. 511–520.
- [9] R Boushel et al. “Monitoring tissue oxygen availability with near infrared spectroscopy (NIRS) in health and disease”. In: *Scandinavian journal of medicine & science in sports* 11.4 (2001), pp. 213–222.

- 
- [10] Christina Kolyva et al. “Cytochrome c oxidase response to changes in cerebral oxygen delivery in the adult brain shows higher brain-specificity than haemoglobin”. In: *Neuroimage* 85 (2014), pp. 234–244.
- [11] O-MH Richter e B Ludwig. “Cytochrome c oxidase—structure, function, and physiology of a redox-driven molecular machine”. In: *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. Springer, 2003, pp. 47–74.
- [12] DT Delpy et al. “Quantitation of pathlength in optical spectroscopy”. In: *Oxygen Transport to Tissue XI*. Springer, 1989, pp. 41–46.
- [13] David T Delpy et al. “Estimation of optical pathlength through tissue from direct time of flight measurement”. In: *Physics in Medicine & Biology* 33.12 (1988), p. 1433.
- [14] Britton Chance et al. “Phase modulation system for dual wavelength difference spectroscopy of hemoglobin deoxygenation in tissues”. In: *Time-Resolved Laser Spectroscopy in Biochemistry II*. Vol. 1204. International Society for Optics e Photonics. 1990, pp. 481–491.
- [15] Sergio Fantini et al. “Frequency-domain multichannel optical detector for noninvasive tissue spectroscopy and oximetry”. In: *Optical engineering* 34.1 (1995), pp. 32–43.
- [16] Adelina Pellicer e Maria del Carmen Bravo. “Near-infrared spectroscopy: a methodology-focused review”. In: *Seminars in fetal and neonatal medicine*. Vol. 16. 1. Elsevier. 2011, pp. 42–49.
- [17] Felix Scholkmann et al. “A review on continuous wave functional near-infrared spectroscopy and imaging instrumentation and methodology”. In: *Neuroimage* 85 (2014), pp. 6–27.