

POLITECNICO DI TORINO

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

*Sviluppo e caratterizzazione di un dispositivo per la
misura della velocità di propagazione di un'onda di
pressione nelle vene (vPWV)*



Relatore:

Prof. Carlo Ferraresi

Candidato:

Daiana Billia

Correlatore:

Prof. Silvestro Roatta

Anno Accademico 2020/2021

ABSTRACT

L'analisi dello stato volemico (SV) rappresenta un passaggio fondamentale nell'ambito dell'inquadramento clinico di un paziente o della pianificazione di una terapia trasfusionale intravenosa, specialmente in soggetti critici.

È stato recentemente proposto che un'indicazione dello SV possa essere fornita, in maniera totalmente non invasiva, a partire dalla misura della velocità di propagazione dell'onda pulsatoria (Pulse Wave Velocity) nelle vene (vPWV).

La finalità di questa tesi è la progettazione e realizzazione di un prototipo di dispositivo portatile, economico e compatto per la misura oggettiva della vPWV. Tale misura richiede di generare un'onda di pressione mediante compressione rapida dell'estremità di un arto e di misurarne la velocità di propagazione andando a rilevare il passaggio dell'onda, a distanza nota, in una vena prossimale, tramite eco-Doppler. Per maggiore stabilità della misura, è necessario che l'istante di stimolazione pneumatica avvenga in sincronia con l'attività cardiaca e respiratoria.

In particolare, il presente lavoro ha richiesto: la scelta della componentistica hardware per il blocco di acquisizione e controllo, l'implementazione dell'algoritmo per la lettura e il processing dei segnali d'interesse (ECG, respiro ed eco-Doppler) finalizzato alla generazione del segnale per l'avvio della compressione pneumatica e al calcolo della velocità, la verifica/validazione delle routine sviluppate e l'esecuzione di una prova sperimentale su un soggetto sano a dispositivo assemblato.

L'esito delle prove di acquisizione e caratterizzazione ha dimostrato il buon funzionamento del dispositivo e il raggiungimento degli obiettivi prefissati, in particolare per quanto riguarda la velocità di esecuzione dei punti cruciali dell'algoritmo (introduzione di latenze piccole e considerate sufficientemente

accettabili). Anche i risultati sperimentali sono molto confortanti per la stabilità della misura e la sua sensibilità a variazioni di pressione nel vaso.

Nei primi capitoli viene fatta un'introduzione generale sul funzionamento del sistema cardiovascolare (capitolo 1) e sul concetto di propagazione di un'onda pressoria nei vasi sanguigni (capitolo 2). Segue la parte dedicata alla descrizione del dispositivo, degli algoritmi e del protocollo di misura (capitolo 3). Successivamente, è presentato il capitolo contenente le prove di caratterizzazione del dispositivo e quelle sperimentali effettuate su un soggetto volontario (capitolo 4). Al termine, un capitolo con le considerazioni conclusive (capitolo 5).

INDICE

1.	Il sistema cardiovascolare	1
1.1	Panoramica	1
1.2	Il ciclo cardiaco	4
1.3	Resistenza, flusso e pressione.....	6
1.4	Compliance vascolare.....	7
1.5	Determinanti della gittata cardiaca	9
1.6	Pressione venosa centrale	12
1.7	Pressione sistemica media di riempimento.....	13
2.	Pulse Wave Velocity.....	16
2.1	Definizione	16
2.2	PWV nel distretto venoso (vPWV)	18
2.3	Utilità clinica della vPWV.....	19
2.4	Obiettivo e stato dell'arte	20
3.	Materiali e Metodi.....	25
3.1	Layout del dispositivo	25
3.2	Sistema di prelievo dei segnali d'interesse.....	26
3.2.1	Respiro	26
3.2.2	ECG	28
3.2.3	Doppler	31
3.3	Sistema di acquisizione	34
3.3.1	Raspberry Pi 4B.....	34

3.3.2	Convertitore A/D	36
3.3.3	Scelta delle frequenze di acquisizione.....	38
3.3.4	Protocollo SPI.....	39
3.4	Integrazione HW pneumatico.....	39
3.5	Programmazione ed elaborazione.....	40
3.5.1	Software utilizzati.....	40
3.5.2	Sincronizzazione con attività cardiaca e respiratoria	40
3.5.3	Trigger ritardato.....	42
3.5.4	Gestione valvole	42
3.5.5	Processing segnale Doppler.....	43
3.5.6	Diagramma di flusso.....	45
4.	Risultati.....	48
4.1	Verifica prestazioni.....	48
4.1.1	Frequenza di campionamento	48
4.1.2	Latenza onda R – trigger di inizio compressione	51
4.1.3	Trigger ritardato.....	53
4.1.4	Latenza trigger – inizio acquisizione Doppler.....	55
4.2	Prova sperimentale	61
4.2.1	Prova preliminare.....	61
4.2.2	Acquisizione in condizioni basali.....	64
4.2.3	Acquisizione con variazione di pressione.....	66
5.	Conclusioni	68
A.	Schema dispositivo	72
	Bibliografia	73

1. Il sistema cardiovascolare

1.1 Panoramica

Il sistema cardiovascolare consiste in un sistema chiuso di *vasi* entro i quali il *sangue* scorre grazie all'azione pompante del *cuore*. Esso si occupa del trasporto di sostanze grazie alla circolazione del flusso sanguigno nei vari distretti corporei. In particolare, consente l'apporto di nutrienti e ossigeno e l'eliminazione di prodotti di scarto e anidride carbonica e regola in modo opportuno la distribuzione dei fluidi nei tessuti, tutte azioni indispensabili per garantire un corretto funzionamento cellulare [1].

Lo scambio di materiale è reso veloce dalla fitta rete di vasi i quali sono distinti per funzione e calibro in tre tipologie: arterie, capillari e vene. Le *arterie* hanno il compito di trasportare il sangue dal cuore verso tutti i tessuti. Essendo sottoposte a grandi regimi pressori, sono dotate di pareti spesse ad alto contenuto di elastina. Queste si ramificano via via in condotti di calibro minore detti arteriole che regolano la distribuzione del sangue nei letti capillari. I *capillari* sono i vasi a diametro più piccolo e presentano pareti sottili costituite da un singolo strato di cellule endoteliali. Sono deputati allo scambio di sostanze tra flusso sanguigno e liquido interstiziale secondo meccanismi che variano in base al tipo di sostanza. Le *vene*, insieme alle venule, raccolgono il sangue deossigenato dalla periferia e lo riportano al cuore con l'ausilio di valvole a coda di rondine antireflusso [2].

Il sistema vascolare è suddiviso in due circuiti:

- *circolazione sistemica* (o grande circolazione): il sangue ricco di ossigeno e sostanze nutritive (sangue arterioso) proveniente dai polmoni viene espulso dal ventricolo sinistro (una delle quattro camere cardiache) nell'arteria aorta e da qui indirizzato al resto del corpo. Il sangue ricco di

anidride carbonica e prodotti di scarto (sangue venoso) ritorna al cuore, nell'atrio destro, attraverso le vene cave;

- *circolazione polmonare* (o piccola circolazione): il ventricolo destro spinge il sangue deossigenato nelle arterie polmonari. L'ossigeno viene prelevato a livello degli alveoli e il sangue ritorna mediante le vene polmonari dirette all'atrio sinistro.

[1]

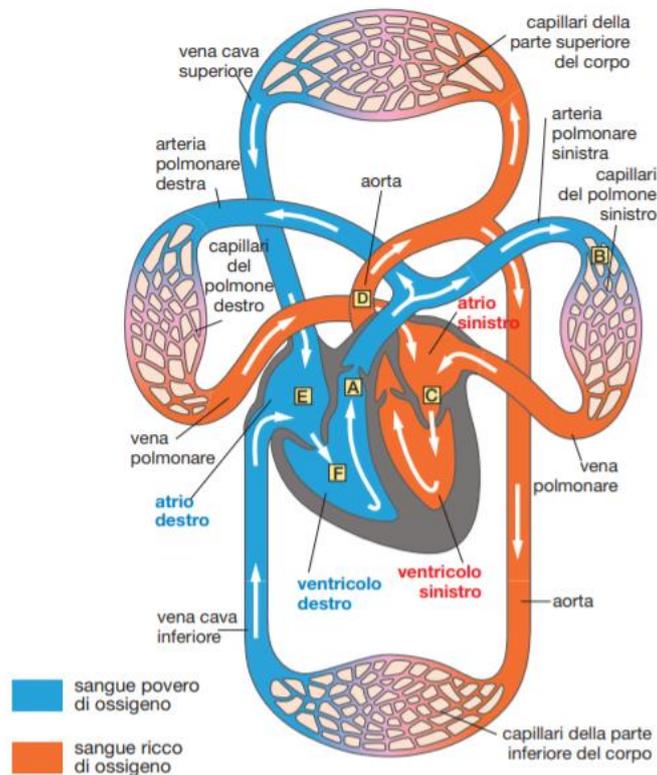


Figura 1.1 Circolazione sanguigna attraverso il sistema cardiovascolare [32].

Il cuore è l'organo centrale del sistema cardiovascolare. Esso agisce da pompa muscolare in grado di generare la forza necessaria a immettere il sangue nel circolo e regola altri importanti parametri cardiovascolari. Collocato all'interno della cavità toracica, tra i polmoni e dietro allo sterno, questo muscolo si presenta cavo al suo interno e suddiviso funzionalmente in due metà: *cuore sinistro* (anche detto cuore arterioso, che spinge il sangue verso organi e tessuti) e *cuore destro* (anche

detto cuore venoso, che raccoglie il sangue di ritorno dalla periferia e lo pompa nel circolo polmonare). A sua volta, ciascuna metà è costituita da un *atrio* (camera superiore) e un *ventricolo* (camera inferiore), per un totale di quattro camere cardiache. Il flusso dapprima fa il suo ingresso negli atri, che fungono da serbatoi di raccolta, e successivamente viene trasferito nei ventricoli che lo eiettano fuori dal cuore. Dal momento che la pressione esercitata per la contrazione ventricolare deve essere elevata, le pareti di questa camera sono più spesse di quelle atriali. Inoltre, la muscolatura ventricolare sinistra, quella responsabile dell'apporto di sangue a tutti gli organi del corpo, è maggiore della relativa porzione destra. [1]

L'unidirezionalità del flusso è garantita dalle valvole cardiache. Ne esistono quattro:

- due *valvole atrio-ventricolari* (*valvola tricuspide* e *valvola mitrale*): consentono il solo spostamento da atrio a ventricolo;
- due *valvole semilunari* (*valvola aortica* e *valvola del tronco polmonare*): situate tra ventricoli e arterie, dettano come unica direzione di moto consentita quella in uscita dal cuore.

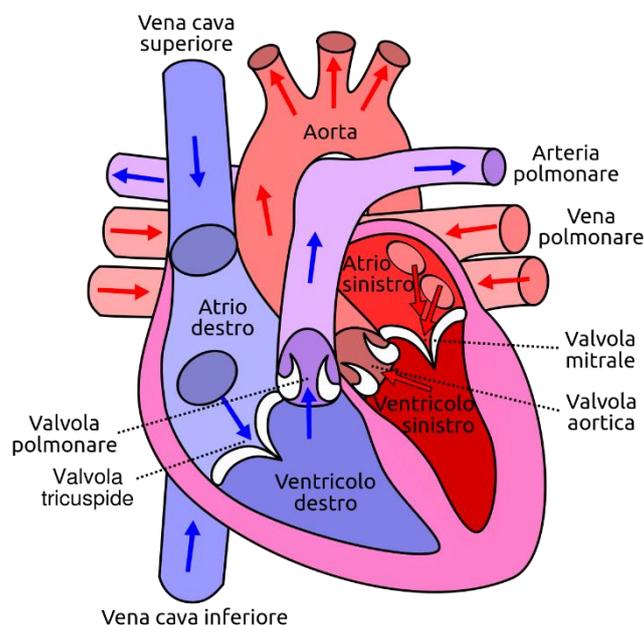


Figura 1.2 Anatomia del cuore [33].

1.2 Il ciclo cardiaco

All'interno del sistema cardiovascolare il sangue può circolare grazie all'attività pulsatile del cuore lungo percorsi predefiniti. Il tutto continua a svolgersi col ripetersi del cosiddetto ciclo cardiaco: un alternarsi di un evento di *sistole* e di *diastole*. La diastole corrisponde alla fase di rilassamento di una camera cardiaca. Fase entro cui può avvenire l'afflusso di sangue. La sistole coincide invece con la fase di contrazione muscolare con conseguente fuoriuscita del flusso sanguigno verso l'esterno.

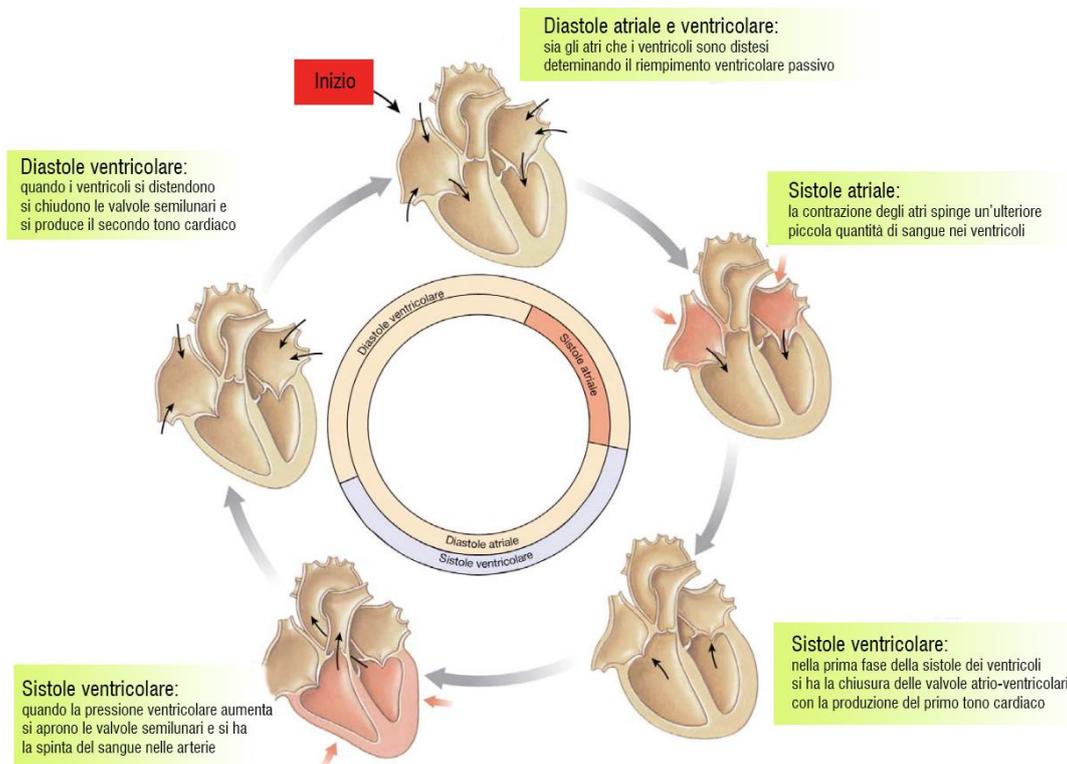


Fig. 1.3 Fasi del ciclo cardiaco [34].

Il cuore si contrae in maniera sincrona. La coordinazione è infatti un elemento indispensabile per un pompaggio ottimale del sangue. Il battito viene generato in maniera autonoma dal muscolo stesso (attività miogena) e l'origine del potenziale

d'azione ha luogo a livello di un gruppo di cellule muscolari cardiache autoritmiche dette *cellule pacemaker*. Queste ultime sono localizzate principalmente a livello del nodo seno-atriale, situato tra la vena cava superiore e l'atrio destro. Da qui, la propagazione dell'impulso elettrico avviene in modo ordinato passando per vie di conduzione specifiche: il nodo atrio-ventricolare, il fascio di His e le fibre del Purkinje [2].

Durante un ciclo cardiaco, le fasi di riempimento e svuotamento delle camere sono accompagnate da variazioni di pressione e volume. I cambiamenti pressori consentono la corretta apertura e chiusura delle valvole che garantiscono così l'unidirezionalità del flusso.

Il volume di sangue presente nel ventricolo al termine di una diastole è detto *volume telediastolico* (EDV, End-Diastolic Volume) e corrisponde al massimo volume ventricolare raggiungibile prima dell'eiezione. Dopo l'eiezione, il minimo quantitativo di sangue rimasto nel ventricolo coincide con il *volume telesistolico* (ESV, End-Systolic Volume). La differenza tra i due rappresenta la *gittata sistolica* (SV, Stroke Volume), cioè il volume di sangue che il cuore può pompare ad ogni battito [1].

$$SV = EDV - ESV$$

Il quantitativo di sangue eiettato da un ventricolo in un minuto è indicato con il termine di *gittata cardiaca* (CO, Cardiac Output). Tale indice rappresenta il legame tra gittata sistolica e frequenza cardiaca (HR, Heart Rate), cioè il numero di battiti al minuto [1].

$$CO = HR \times SV$$

Il valore di gittata cardiaca è il medesimo per entrambi i ventricoli, in caso contrario si rischierebbero accumuli di sangue nel circolo polmonare o sistemico.

Lo stesso vale per la frequenza cardiaca dal momento che le due camere si contraggono in modo sincrono ad ogni battito [1].

1.3 Resistenza, flusso e pressione

Il sangue scorre all'interno del sistema cardiovascolare seguendo le stesse leggi fisiche che regolano il flusso dei fluidi, cioè secondo gradiente di pressione.

Il cuore, mediante la sua azione pompante, innalza il valor medio della pressione aortica, anche conosciuta come pressione arteriosa media, imponendo così una differenza di pressione tra arterie e vene [1]. Il dislivello imposto muove il sangue da una regione a pressione maggiore a una a pressione minore.

Le grandezze fondamentali per lo studio del comportamento di un fluido in movimento sono: flusso, pressione e resistenza. Tali grandezze sono legate dalla seguente relazione:

$$F = \frac{\Delta P}{R}$$

Se ne deduce che il flusso, a parità di resistenza, dipende solo dalla differenza di pressione, non dal valore assoluto, e aumenta all'aumentare di quest'ultima. Inoltre, esso risulta essere inversamente proporzionale alla resistenza, cioè quell'insieme di fattori che si oppongono allo scorrimento (caratteristiche geometriche del condotto e caratteristiche reologiche del fluido).

Esiste una relazione, valida sotto le ipotesi di moto laminare stazionario di liquido omogeneo in condotto cilindrico dalla sezione costante, che permette di ricavare il valore della resistenza vascolare, la *legge di Poiseuille*:

$$R = \frac{8L\eta}{\pi r^4}$$

Dove η rappresenta la viscosità del fluido, L la lunghezza del condotto e r il raggio. Quest'ultimo incide maggiormente sul valore della resistenza poiché essa dipende dal raggio alla quarta potenza. Ciò significa che una piccola variazione del calibro, che sia dettata da una vasocostrizione o vasodilatazione, causa una notevole modifica di R e conseguentemente del flusso F .

Anche il regime di moto influenza la resistenza: tipicamente il moto del sangue è di tipo laminare, tuttavia possono presentarsi zone di turbolenza (biforcazioni o stenosi). Tali regioni aumentano la resistenza offerta allo scorrimento.

Convenzionalmente, il valore di pressione del sangue è misurato in millimetri di mercurio (*mmHg*) e la pressione atmosferica è assunta come riferimento, quindi vengono prese in esame grandezze relative.

A livello del circolo sistemico, si assiste a una forte caduta di pressione dovuta all'aumentare della resistenza offerta dalla vascolatura. In particolare, si passa dal valore più alto ottenuto in corrispondenza dell'aorta a quello minimo a ridosso della vena cava. Il 60% della resistenza viene offerto dalle arteriole a causa del loro diametro ridotto [1].

1.4 Compliance vascolare

Le pareti vasali non sono rigide, bensì deformabili. I vasi sono in grado di adattare il proprio calibro, per assecondare i cambiamenti nel flusso sanguigno o per modificarlo, grazie alla presenza, nella tunica media, di muscolatura liscia. Quest'ultima, sotto il controllo del sistema nervoso autonomo, consente infatti di compiere azioni di vasodilatazione o vasocostrizione [3].

A ciò si aggiunge l'abilità tipica di qualsiasi struttura cava, e quindi anche di un vaso sanguigno, di espandersi e contrarsi passivamente in funzione dei cambiamenti di pressione. Le caratteristiche meccaniche delle pareti, in particolare il loro contenuto elastico, fanno sì che alcune strutture siano più facilmente distensibili di altre. Le arterie, dotate di pareti più rigide e spesse, si deformano di meno rispetto alle vene. Queste, invece, sono costituite da pareti sottili e facilmente

estensibili ed è sufficiente un piccolo incremento della pressione sanguigna per aumentare notevolmente la propria sezione [1].

Per le ragioni sopracitate, il sistema venoso arriva a racchiudere, in condizioni normali, il 75% del volume ematico totale presente nel circolo [3]. Esso agisce dunque da serbatoio di volume pronto, in caso di necessità, ad essere trasferito al circolo arterioso mediante un aumento del ritorno venoso [1].

In fisiologia, tale caratteristica di deformabilità della vascolatura sanguigna va sotto il nome di *compliance*. Essa è definita come variazione di volume per unità di variazione di pressione di distensione o pressione trasmurale.

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta(p_{interna} - p_{esterna})}$$

Graficamente tale parametro è individuato dalla pendenza della retta che unisce due punti sul grafico P-V.

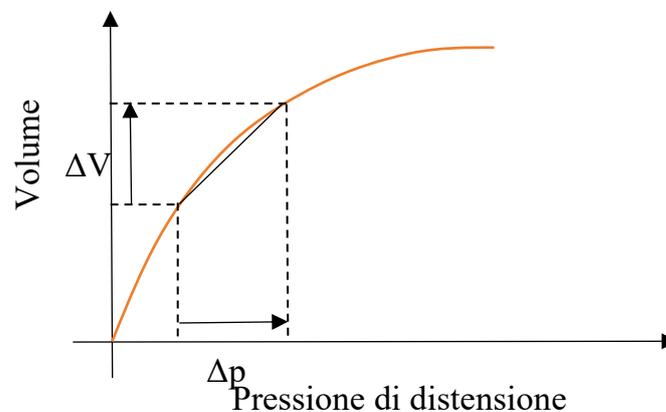


Figura 1.4 Illustrazione grafica del concetto di compliance.

La curva P-V per un condotto biologico non è lineare, ciò è dovuto all'eterogeneità del tessuto vascolare. A elevati valori di pressione e volume la pendenza diminuisce poiché i vasi tendono a essere più rigidi.

La compliance venosa è maggiore di quella arteriosa: a basse pressioni è circa 10-20 volte superiore. Il sistema venoso necessita di elevati valori di distensibilità per adattarsi ai cambiamenti fisiologici, causati da modifiche nella postura, che causano grandi variazioni nella distribuzione del volume ematico [3].

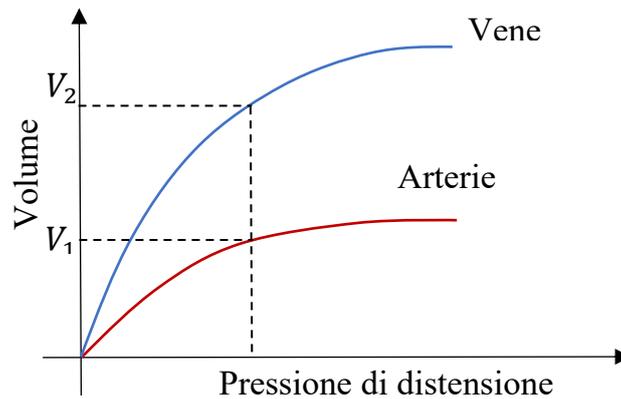


Figura 1.5 Differenza nelle curve di compliance venosa e arteriosa.

La compliance vascolare non è un parametro statico ma può essere influenzato dallo stato di contrazione della muscolatura liscia del vaso. La vasodilatazione ha come effetto l'aumento della pendenza della curva. La vasocostrizione, viceversa, sposta la curva verso il basso diminuendone la pendenza.

Per quanto riguarda il comparto venoso, la modulazione del tono vascolare, con influenza sulla compliance, è di fondamentale importanza perché influisce sulla regolazione della pressione venosa, a sua volta legata al ritorno venoso.

1.5 Determinanti della gittata cardiaca

La capacità del cuore di pompare la quantità ottimale di sangue verso organi e tessuti asseconda i cambiamenti del fabbisogno dell'organismo dettati dalle necessità. Il sistema cardiovascolare è infatti dotato di strategie di regolazione del

flusso sanguigno grazie alle quali può garantire il mantenimento di un determinato parametro fisiologico costante nel tempo.

La gittata cardiaca non è costante ma può aumentare o diminuire. Il controllo sul suo valore avviene con la modifica dei due parametri da cui essa dipende, cioè la *frequenza cardiaca* (HR) e il *volume di eiezione ventricolare* (SV).

La frequenza cardiaca (HR) cambia molto sia tra soggetti diversi sia sul singolo ed è influenzata da differenti fattori quali età, sesso, stati emozionali e livello di attività muscolare. Le uniche responsabili della variazione del numero di battiti al minuto sono le cellule pacemaker del nodo senoatriale. In ogni istante, il cuore regola la frequenza delle contrazioni ricevendo simultaneamente input da entrambi i rami del sistema nervoso autonomo. Un'aumentata attività del sistema simpatico, le cui fibre innervano il nodo SA, incrementa la frequenza dei potenziali d'azione delle cellule pacemaker poiché rende più rapida la depolarizzazione spontanea e abbassa la soglia di insorgenza del potenziale. D'altra parte, l'aumento di attività del sistema parasimpatico causa diminuzione dei bpm [1].

La gittata sistolica (SV) dipende da: *contrattilità ventricolare*, *postcarico* e *volume telediastolico*.

Con il termine contrattilità ventricolare si intende la capacità della camera ventricolare di generare forza. Tale capacità è modulata dal sistema simpatico: un'aumentata attività simpatica porta i ventricoli a contrarsi con più forza e incrementa il volume di sangue eiettato [1].

Il postcarico influenza la gittata sistolica poiché rappresenta l'entità della forza da vincere per poter spingere il sangue fuori dal cuore. Esso dipende principalmente dalla pressione arteriosa. Un aumento di tale parametro rende più difficoltosa l'azione di pompa del cuore e con esso diminuisce il volume eiettato.

Il volume telediastolico rappresenta la quantità di sangue presente nel ventricolo un istante prima della sistole, anche detto *precarico*. In particolare, esso agisce sull'entità di stiramento del miocardio ventricolare in fase di riempimento e aumenta con l'aumentare del ritorno venoso. Il cuore si adatta alla variazione di volume in ingresso seguendo la cosiddetta *legge di Starling*. Secondo tale

meccanismo, il muscolo cardiaco, entro i limiti fisiologici, è capace di accogliere tutto il sangue proveniente dal circolo venoso e di regolare il flusso in uscita di conseguenza [4]. Uno stiramento provocato da un aumento del volume telediastolico consente alle fibre muscolari il raggiungimento della lunghezza ottimale di contrazione. Di conseguenza, la forza sviluppata con la contrazione sarà molto più elevata e il volume eiettato maggiore [1].

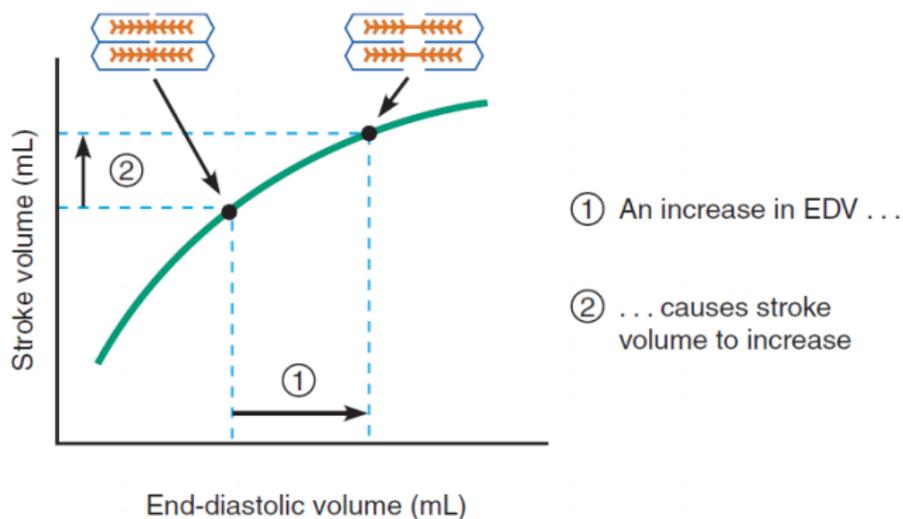


Figura 1.6 Curva di Starling [1].

Il precarico dipende dall'entità del gradiente pressorio instauratosi tra vene periferiche e atrio destro [1]. Tale dislivello dipende da due valori: la *pressione venosa periferica*, misurata in vena periferica, e la *pressione venosa centrale*, rilevata nel tratto terminale della vena cava superiore riflette la pressione in atrio destro.

1.6 Pressione venosa centrale

La pressione venosa centrale (Central Venous Pressure, CVP) è un indicatore del precarico cardiaco e può essere utile per comprendere le variazioni nella gittata cardiaca [5]. Essa è influenzata da quattro fattori [1]:

- la pompa respiratoria: durante l'inspirazione la gabbia toracica si espande e il diaframma scende verso il basso, di conseguenza, la pressione intratoracica si riduce mentre quella addominale aumenta. Si instaura così un gradiente pressorio che movimentata il sangue verso le vene centrali e aumenta la CVP;
- la pompa muscolare scheletrica: la contrazione dei muscoli scheletrici genera la compressione dei vasi venosi e spinge il sangue verso il cuore;
- volemia: è il volume di sangue circolante, un suo incremento aumenta la pressione venosa;
- tono venomotorio: è lo stato di contrazione della muscolatura liscia della parete vascolare modulato dall'innervazione autonoma e da agenti chimici. Un suo aumento determina l'innalzamento della pressione interna del sangue che forza il ritorno venoso al cuore.

[1]

In ambito clinico, la pressione venosa centrale è un buon indicatore dello stato cardiocircolatorio del paziente, in unione con altri indici, ed è frequentemente utilizzata per indagare gli effetti di una terapia dei fluidi in soggetti malati [6].

La misurazione è di tipo invasivo poiché prevede l'inserzione di un catetere nella vena succlavia o a livello della vena giugulare interna. I rischi di

complicazione sono pertanto significativi [7]. Col tempo si è dunque cercato di sviluppare metodologie non invasive, ad esempio mediante tecniche ad ultrasuoni.

1.7 Pressione sistemica media di riempimento

La pressione sistemica media di riempimento (Mean Systemic Filling Pressure, MSFP) è considerata un parametro emodinamico chiave poiché identifica la pressione a monte che genera il gradiente grazie al quale il flusso sanguigno ritorna al cuore [8].

In particolare, essa descrive lo stato di riempimento del sistema circolatorio in condizioni di flusso nullo, a seguito di arresto della pompa cardiaca [8]. In caso di arresto cardiaco, infatti, per il principio dei vasi comunicanti, la pressione in tutto il sistema si equilibra.

La MSFP dipende esclusivamente da parametri vascolari poiché non è più legata all'azione cardiaca in quanto interrotta. Tali parametri sono: la volemia e la compliance vascolare.

Un aumento del volume ematico all'interno dei vasi (dovuto a trasfusione di sangue o infusione di liquidi) determina, a parità di CVP e resistenza, l'incremento della MSFP poiché la spinta del sangue contro le pareti aumenta.

Occorre specificare, però, che, affinché una certa quantità di sangue possa effettivamente esercitare forza sul vaso, si deve superare una soglia. La capacità vascolare, infatti, può essere suddivisa in *unstressed* e *stressed volume*.

Il primo corrisponde al volume sufficiente per dare forma al condotto, il secondo rappresenta il volume aggiuntivo che può essere raccolto e che è tale da generare una pressione sul letto vascolare [9]. Maggiore è l'*unstressed volume*, maggiore è la MSFP e conseguentemente il ritorno venoso [10].

Anche il tono vascolare ha la sua influenza sul parametro. L'azione vasocostrittoria o vasodilatatoria (dovuta ad esempio all'assunzione di farmaci) ha effetto sulla compliance venosa e modifica la MSFP poiché aumenta o riduce la porzione di stressed volume.

La misurazione della pressione sistemica media di riempimento richiederebbe l'arresto cardiaco ottenuto sperimentalmente portando il cuore in fibrillazione. Nella pratica clinica è però possibile ricavare tale valore secondo altre procedure. Si può infatti stimare il valore di MSFP interpolando la curva del ritorno venoso ottenuta con misurazioni successive di CO facendo variare la CVP con l'utilizzo della ventilazione meccanica e della tecnica "inspiratory holds" [11].

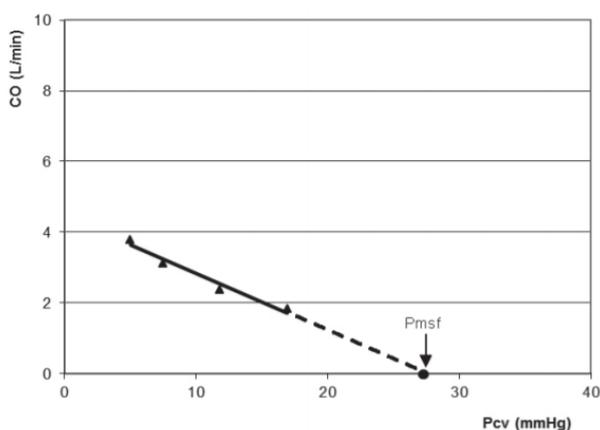


Figura 1.7 Relazione tra ritorno venoso (CO) e pressione venosa centrale (CVP) per un paziente sottoposto alla tecnica "inspiratory holds" per l'inferenza della MSFP [11]

Osservando la *curva del ritorno venoso* in figura 1.8 è inoltre possibile notare graficamente come i parametri (volume ematico e compliance) influiscano sulla pressione di riempimento e sul flusso diretto verso il cuore. Sperimentalmente si osserva, per valori di PVC intorno a 0 mmHg o negativi, la presenza di un plateau. Ulteriori diminuzioni della pressione venosa centrale non incrementano il flusso di ritorno a causa del collasso delle vene.

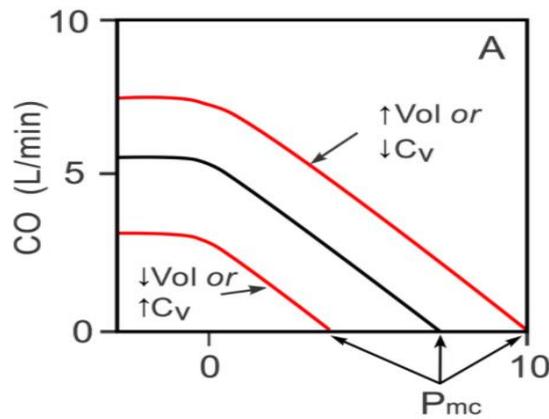


Figura 1.8 Curva di ritorno venoso: effetto dei parametri volemia (Vol) e compliance (Cv) sulla pressione media di riempimento (Pmc) [35].

È opportuno sottolineare che l'aumento ritorno venoso non sempre determina un incremento della gittata CO. A causa di inefficienza cardiaca è possibile che ad un aumento di volemia non segua un aumentato flusso in uscita.

Tale fenomeno è visibile con la rappresentazione su uno stesso grafico della curva del ritorno venoso e dalla curva di funzionalità cardiaca come in figura 1.9. La loro intersezione rappresenta il punto di equilibrio che definisce il CO. In caso di scarsa efficienza, la curva della funzionalità cardiaca si abbassa e il nuovo equilibrio si assesta a valori più bassi di gittata. Il sistema è in grado di mettere in atto meccanismi compensatori, tuttavia questo avviene a spese di un ulteriore sovraccarico sul muscolo cardiaco in termini di CVP e pressione venosa.

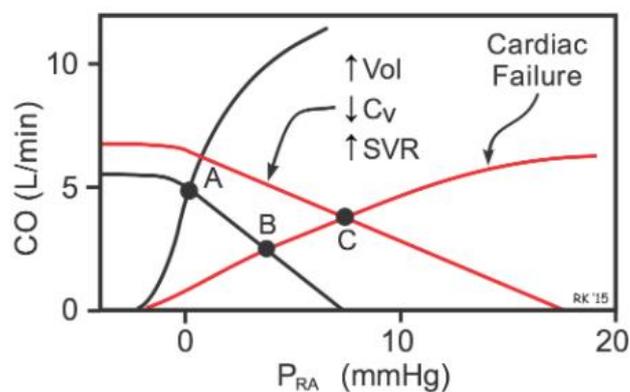


Figura 1.9 Intersezione della curva di funzionalità cardiaca con quella del ritorno venoso [35].

2. Pulse Wave Velocity

2.1 Definizione

Un'onda pressoria è una perturbazione che si propaga in un mezzo a seguito di fenomeni locali di compressione e decompressione.

In ambito vascolare, conoscere le velocità con le quali un'onda meccanica si propaga all'interno di un mezzo, il sangue, consente di ottenere informazioni importanti non solo sulle caratteristiche fisiche dello stesso ma anche sulle proprietà del condotto entro cui scorre, le pareti vascolari, e sulla resistenza al flusso. In particolare, tali osservazioni permettono di dedurre le condizioni fisiche dei vasi sanguigni da cui trarre indicazioni utili dal punto di vista fisiologico e clinico.

La *Pulse Wave Velocity* (PWV) è la stima della velocità con la quale un'onda pressoria si trasmette all'interno del sistema circolatorio, ossia del tempo impiegato nel percorrere una prefissata distanza in un vaso.

Esiste una relazione teorica che illustra il legame tra la velocità dell'onda e i parametri meccanici del condotto che attraversa detta *equazione di Moens-Korteweg* [12]:

$$PWV = \sqrt{\frac{Eh}{2r\rho}}$$

dove E è il modulo elastico di Young, h lo spessore della parete vascolare, r il raggio del vaso e ρ la densità del sangue.

Dalla precedente equazione segue un'altra relazione nota come *legge di Bramwell-Hill* [12]:

$$PWV = \sqrt{\frac{V \cdot dP}{\rho \cdot dV}}$$

dove dV è la variazione di volume e dP la variazione di pressione.

Da tale espressione si evince che la propagazione di un'onda pressoria è legata in modo inversamente proporzionale al concetto di *distensibilità vascolare* D (con $D = \frac{dV}{V \cdot dp}$):

$$PWV = \frac{1}{\sqrt{\rho \cdot D}}$$

La distensibilità vascolare è anche legata al concetto di compliance vascolare C dalla relazione $D = C/V$.

È noto che distensibilità e compliance si riducono progressivamente con l'invecchiamento e in presenza di patologie croniche [13]. Essendo la PWV strettamente legata a tali parametri meccanici, essa è ad oggi considerata il gold standard per la determinazione della rigidità dei grandi vasi, principalmente nel comparto arterioso, e rappresenta un importante indice indipendente di rischio cardiovascolare [14].

Con l'avanzare dell'età e con l'incremento della pressione arteriosa si assiste a un irrigidimento delle pareti vascolari che si riflette nell'aumento della velocità dell'onda pulsata. Quest'ultima condizione determina l'accrescimento dell'ampiezza della pressione differenziale (differenza tra pressione sistolica e diastolica) e causa maggiore stress meccanico per vasi e pompa cardiaca [15].

L'individuazione della PWV arteriosa può essere svolta in maniera del tutto non invasiva mediante tecniche diverse: tonometrica, impedenziometrica, piezoelettrica e Doppler [16].

La misura prevede, in ogni caso, la registrazione del passaggio dell'onda in due differenti siti dell'albero arterioso. Ricavato il tempo di percorrenza dell'onda e nota la distanza tra i due punti di registrazione, è possibile ottenere il valore di velocità.

$$PWV = \frac{\Delta L}{\Delta t}$$

La PWV in distretto arterioso si misura tipicamente in aorta, in quanto essa rappresenta il percorso vascolare a maggiore interesse fisiopatologico, scegliendo come siti di misura la carotide comune e la femorale comune [16].

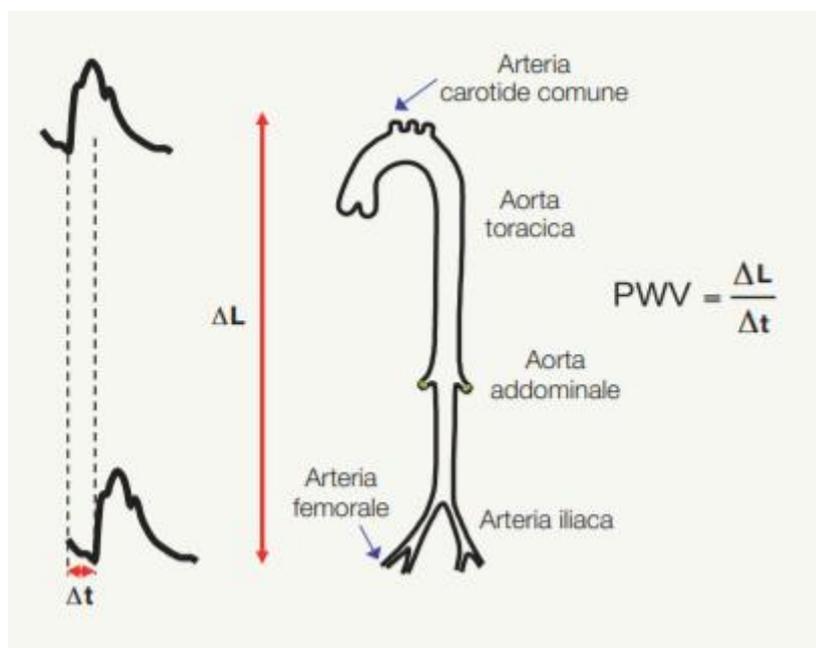


Figura 2.1 Misurazione della PWV carotideo-femorale [16].

2.2 PWV nel distretto venoso (vPWV)

La PWV è oggetto di numerosi studi, soprattutto in ambito arterioso, poiché ampiamente riconosciuta come indice di rischio cardiovascolare [14]. Diversamente, la misura della *venous Pulse Wave Velocity (vPWV)*, ossia della velocità dell'onda pulsata nel distretto venoso, è meno diffusa e scarsamente documentata [17].

Il flusso venoso differisce da quello arterioso in termini di pulsatilità e pressioni. La scarsa pulsatilità naturale, causata dalla propagazione retrograda delle modifiche pressorie che avvengono nell'atrio destro [18], non è regolare e

l'ampiezza delle pulsazioni è piccola e difficilmente rilevabile specie se la loro misura è disturbata dall'attività respiratoria e cardiaca [17].

È possibile effettuare una misura della vPWV in maniera del tutto non invasiva grazie alla generazione artificiale di un impulso di compressione all'estremità di un arto, per superare le limitazioni imposte dalla scarsa pulsatilità del flusso, e registrando il passaggio dell'onda pressoria in direzione prossimale tramite ultrasonografia Doppler [17]. Il tutto sincronizzato con il ciclo cardiaco e respiratorio [17].

2.3 Utilità clinica della vPWV

In ambiente ospedaliero, è molto utile effettuare una valutazione circa lo stato emodinamico di un paziente. Nel caso di soggetti critici, quali i ricoverati in reparti di terapia intensiva o rianimazione, tale valutazione è importante per identificare in maniera precoce alterazioni dell'attività cardiovascolare e per gestire il trattamento terapeutico.

L'analisi dello *stato volemico* rappresenta uno step indispensabile in questo processo. Tale parametro è un indicatore del volume di sangue totale presente nell'organismo e ha influenza sul ritorno venoso, sull'adeguato riempimento delle camere cardiache e conseguentemente sulla gittata cardiaca e sulla pressione aortica.

La volemia gioca un ruolo importante soprattutto nell'ambito della terapia trasfusionale intravenosa. Essa permette di decidere necessità e quantitativo di un'infusione e dunque è importante misurarla con degli indicatori.

Poiché il distretto venoso costituisce la principale riserva di sangue dell'organismo, la vPWV si configura come un parametro adatto nel determinare lo stato volemico di un paziente in quanto misura la rigidità delle vene e quindi indirettamente determina il loro stato di riempimento, ossia la volemia. Variazioni

della velocità riflettono così i cambiamenti nello stato di contrazione e riempimento del comparto venoso [17]. Grazie a queste relazioni, il monitoraggio della vPWV consente di pianificare il trattamento trasfusionale.

La trasfusione, nella rianimazione di pazienti critici ed ipotesii, determina l'aumento del ritorno venoso e serve a ripristinare valori normali di gittata cardiaca e pressione. L'aumento del precarico cardiaco, conseguente a quello del ritorno venoso, permette così un aumento del cardiac output CO, come descritto dalla legge di Starling [1].

La presenza di insufficienze cardiache e circolatorie, tuttavia, può ostacolare il successo della terapia: le prime non consentono al cuore un pompaggio adeguato, le altre impediscono un corretto ritorno venoso. In altri termini, la *fluid responsiveness* del paziente, ovvero la capacità di incrementare significativamente il CO a seguito di un'espansione volemica [19], non è sempre la stessa e, di conseguenza, la decisione di effettuare una trasfusione non è banale e né rapida [20]: un'ipovolemia non curata comporta ipoperfusione d'organo e rischio ischemico [21], un eccesso di liquidi causa sovraccarico circolatorio [21] [22] .

È importante dunque stabilire se un paziente è *responder* e, a tale scopo, la misura di vPWV è utile per verificare la risposta del soggetto a test dinamici il cui obiettivo è valutare le differenze, rispetto alla condizione a riposo, nella gittata cardiaca, a seguito di modifiche del precarico [20].

2.4 Obiettivo e stato dell'arte

La buona efficacia predittiva della vPWV nella valutazione dello stato volemico e della tollerabilità alle terapie infusionali, in quanto molto sensibile a piccole modifiche di pressione venosa e di volume ematico, è stata dimostrata in precedenza con la messa a punto di un protocollo di misura sperimentale non invasivo che fornisce risultati oggettivi e ripetibili [23] .

Tale risultato fa luce sull'opportunità di realizzare uno strumento portatile e compatto per la misurazione della velocità di un'onda pressoria nel comparto venoso che possa trovare impiego in futuro in ambiente ospedaliero o di ricerca.

Ad oggi, le differenti metodiche per l'inquadramento della fluid responsiveness che sono basate su indici emodinamici diversi dalla vPWV presentano delle limitazioni che invece possono essere superate dall'applicazione che si intende sviluppare.

Tra queste possono essere citate:

- *Caval Index (CI)*: si tratta di un indice, espresso tra 0 e 1, che valuta la variazione del diametro della vena cava inferiore (IVC) durante un ciclo respiratorio [24]. Tale indicatore è correlato con la pressione in atrio destro e pertanto offre una stima della pressione venosa centrale CVP [25] da cui è possibile inferire lo stato volemico. Il CI viene ricavato in maniera non invasiva per mezzo dell'ultrasonografia Doppler. Tuttavia, esso presenta una scarsa affidabilità poiché la sua misura è operatore-dipendente ed estremamente variabile tra i cicli respiratori. Infine, l'utilizzo del concetto di diametro su una sezione vascolare, che spesso non risulta perfettamente circolare, può risultare inappropriato e fornire una misura non rappresentativa.
- *Cardiac Output monitor e PLR*: questa metodica valuta la sensibilità del cuore a modifiche del precarico cardiaco in termini di aumento della gittata cardiaca. Tali modifiche vengono simulate mediante l'innalzamento degli arti inferiori o Passive Leg Raising (PLR). Durante la manovra, il CO deve essere misurato in maniera diretta e continuativa in tempo reale [26]. Il monitoraggio spesso richiede strumentazione costosa e implementa tecniche o complesse quali la PCA, Pulse Contour Analysis [26], che tuttavia fornisce una misura indiretta del CO, o discusse quali l'impedenziometria. È da notare, infine, che tale metodica

non si adatta né a un monitoraggio continuo, poiché è indicativa solo dell'istante in cui vengono sollevati gli arti, né all'applicazione su pazienti non mobilizzabili.

- *VeinPress GmbH*: è uno strumento commerciale per la misura della pressione venosa centrale. Esso consiste in un trasduttore di pressione connesso tramite un tubo flessibile ad una camera contenente una miscela di acqua e glicerina. Tale camera può essere fissata sulla testa di una sonda ecografica. Quest'ultima viene posizionata in prossimità del tratto venoso d'interesse. La CVP misurata coincide col valore letto dal sensore in corrispondenza del punto di collasso del vaso, visibile con l'ecografo e ottenuto mediante compressione della sonda sulla pelle [27]. L'approccio è non invasivo ma l'affidabilità della misura è inficiata dalla comprimibilità dei tessuti molli circostanti il vaso, cosa che rende più preferibile la tecnica del Caval Index.
- *Venus 2000 CVP*: è un dispositivo che misura la pressione venosa centrale con tecnica non invasiva sfruttando la variazione di assorbimento ottico nel vicino infrarosso di un vaso venoso durante un ciclo respiratorio. Da tale variazione si inferisce indirettamente una misura della CVP. La tecnica presenta alcune limitazioni: difficoltà nel corretto posizionamento del sensore sul collo all'altezza della vena giugulare e scarsa accuratezza [28].

	Tecnologia proposta	Caval Index	CO monitor + PLR	VeinPress GmbH	Venus 2000 CVP
Misura indipendente dall'operatore	+	-	-/+	+	-
Misura oggettiva	+	-	+	+	+
Non invasiva	+	+	+	+	+
Basso costo	+	+	-/+	+	-
Monitoraggio continuo	+	-	-	-	+
Adatta a pazienti non mobilizzabili	+	+	-	+	+
Misura indiretta di volemia	-	+	+	-	-
Misura di pressione venosa	-	-	-	+	+
Misura di elasticità vascolare	+	-	-	-	-
Valutazione risposta ai fluidi	+	+	+	-	-

Tabella 2.1 Riassunto delle caratteristiche del dispositivo da sviluppare messo a confronto con lo stato dell'arte [28].

Dall'analisi dello stato dell'arte si evince la potenzialità dell'applicazione proposta. L'obiettivo di questo lavoro di tesi è pertanto lo sviluppo e la caratterizzazione di un dispositivo per la misura della *venous Pulse Wave Velocity* vPWV.

Il progetto prevede due grandi aree di lavoro:

1. sviluppo hardware portatile e valutazione di tecnologie alternative per la generazione dello stimolo compressivo
2. l'ambito elettronico che prevede lo sviluppo hardware e software del sistema di acquisizione dati e controllo del circuito pneumatico

Il presente lavoro è stato incentrato sul secondo compito. A partire dal prototipo esistente che consta di svariati strumenti da laboratorio (PC, sistema di acquisizione dati, amplificatore per ECG...) si è voluto sviluppare un dispositivo ad hoc, portatile e a basso costo in grado di poter gestire in autonomia il controllo del circuito pneumatico, l'acquisizione dei segnali biologici d'interesse e la misura della vPWV. Il progetto ha richiesto: 1) la scelta di una piattaforma low-cost con possibilità di acquisizione di segnali, 2) lo sviluppo di un algoritmo per l'acquisizione e il processing di ECG e segnale respiratorio finalizzato a pilotare la compressione in maniera ad essi sincronizzata, 3) la generazione dei segnali digitali di controllo delle elettrovalvole per lo sviluppo della compressione pneumatica, 4) l'acquisizione e processing del segnale velocitometrico Doppler per il calcolo della PWV, 5) una verifica e validazione delle routine implementate e una prova sperimentale come esempio applicativo. Queste attività saranno dettagliate nelle sezioni seguenti.

3. Materiali e Metodi

3.1 Layout del dispositivo

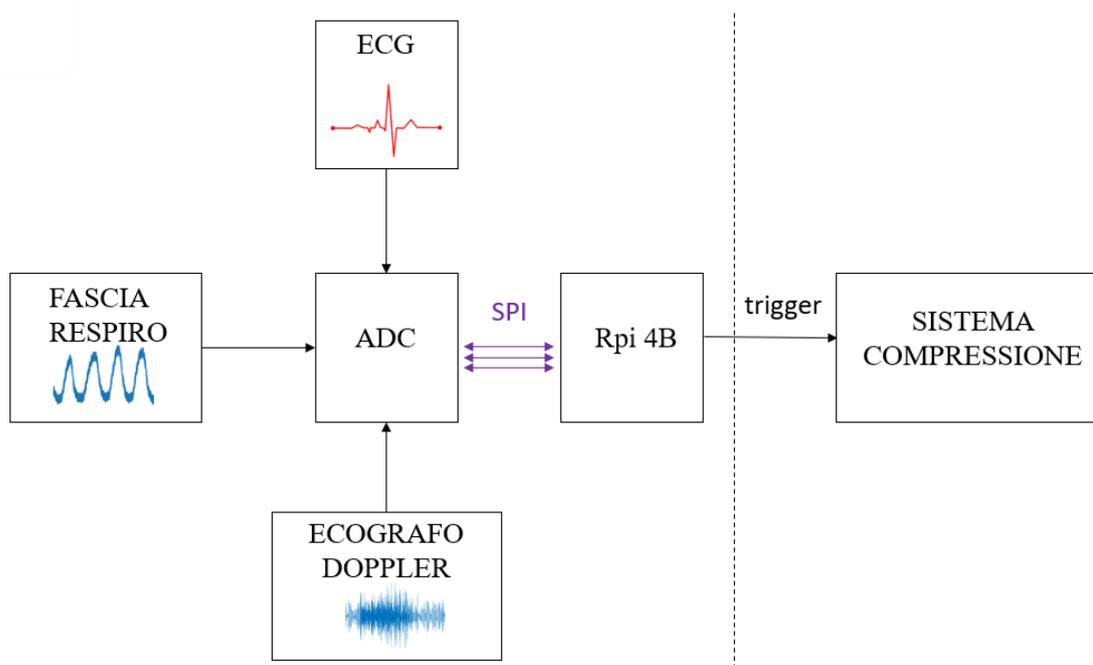


Figura 3.1 Rappresentazione schematica del dispositivo.

Lo schema a blocchi in figura 3.1 fornisce una panoramica delle principali componenti del dispositivo che si vuole realizzare. A sinistra, è rappresentato il sistema di controllo/acquisizione/elaborazione finalizzato alla generazione del trigger di inizio compressione. A destra, separato dalla linea tratteggiata, vi è la parte relativa alla compressione che, in questa sede, non è oggetto di progettazione e, al fine della verifica di funzionamento del dispositivo, si basa ancora su componente hardware non portatile/ingombrante.

Gli elementi costitutivi fondamentali sono:

1. Sistema di generazione dell'onda pressoria, nel distretto venoso dell'arto, consiste in:

- Manicotto gonfiabile (49x15 cm, GIMA, Gessate, Italia),
 - Compressore,
 - Elettrovalvole digitali monostabili a due vie (SMCVXE2330-02F-6D01, SMC, Tokyo, Giappone) per il gonfiaggio e lo sgonfiaggio del manicotto.
2. Sistema di rilevazione del passaggio dell'onda pressoria:
 - Dispositivo Eco Doppler con sonda
 3. Sensoristica per il monitoraggio di parametri fisiologici (segnale elettrocardiografico e respiro)
 4. Unità di controllo ed elaborazione:
 - Raspberry Pi 4B + convertitore A/D

3.2 Sistema di prelievo dei segnali d'interesse

3.2.1 Respiro

Per acquisire il segnale respiratorio si utilizza una fascia toracica, realizzata in materiale elastico, di spessore 1 mm, altezza 3 cm, facilmente regolabile per adattarsi a diverse circonferenze toraciche e richiudibile tramite fibbia.

Su di essa è integrato un sensore resistivo (strain gage) che monitora le variazioni di volume della gabbia toracica. Al variare dell'espansione di quest'ultima, infatti, il sensore si deforma meccanicamente e genera un segnale di tensione proporzionale alla deformazione subita.



Figura 3.2 Fascia elastica per il prelievo del segnale respiratorio.

Il segnale in uscita è molto lento e ha un andamento di tipo sinusoidale: i tratti crescenti corrispondono alla fase inspiratoria, quelli decrescenti rappresentano la fase espiratoria.

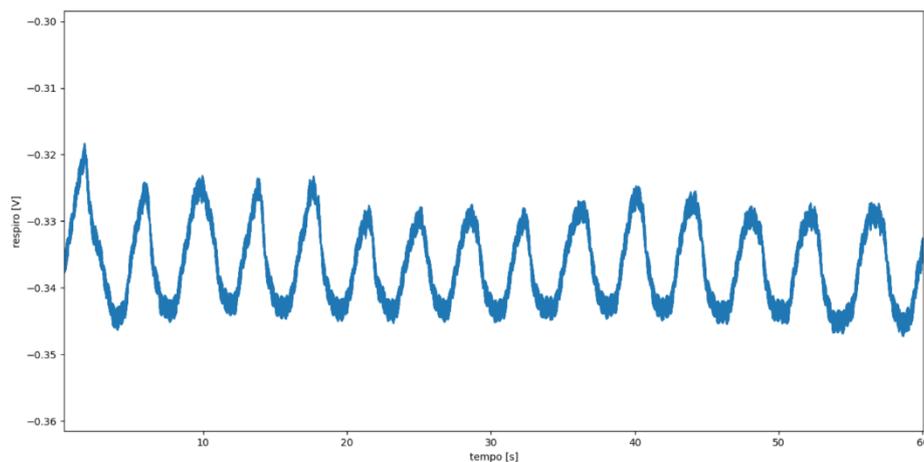


Figura 3.3 Segnale respiratorio.

Per ottenere una buona misurazione del respiro, la fascia deve essere ben allacciata e tesa ma non eccessivamente. Per il posizionamento si sceglie la zona dove è massimamente sentita la variazione dei movimenti toracici: occorre quindi verificare se il soggetto respira più di pancia o di petto.

La fascia è alimentata a batteria (9V).

3.2.2 ECG

Il segnale elettrocardiografico (ECG) viene, in un primo momento, prelevato grazie a un sistema d'acquisizione apposito (Grass Physiodata Amplifier Model 15LT, Astro-Med Inc., West Warwick, USA) che amplifica e filtra il segnale in ingresso. Settaggi e parametri dell'acquisizione vengono impostati con l'ausilio del software dedicato su PC.

La scelta di utilizzare il GRASS è semplicemente dovuta alla necessità di avere a disposizione un segnale fisiologico reale con cui poter verificare il corretto funzionamento del dispositivo da realizzare.

Poiché in futuro, il sistema deve essere portatile e a basso costo, è stato individuato un front-end analogico per ECG che soddisfacesse i seguenti requisiti:

- CMRR di almeno 80 dB
- Costo contenuto
- Amplificazione adeguata
- Facilità di interfacciamento con il sistema di acquisizione scelto

L'*AD8232 SparkFun Single Lead Heart Monitor* risulta adatto allo scopo. Si tratta di una schedina che monta il chip AD8232, un blocco di condizionamento integrato per segnale ECG. Esso è progettato per estrarre, amplificare e filtrare piccoli segnali biopotenziali in condizioni rumorose quali quelle dovute al movimento degli elettrodi sulla cute.

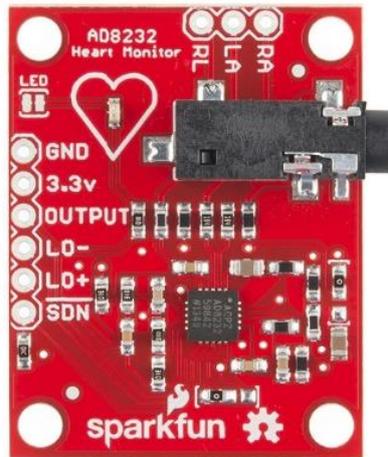


Figura 3.4 AD8232 SparkFun Lead Heart Rate Monitor [36].

Modello	AD8232 Single Lead Heart Rate Monitor
Azienda	SparkFun
Chip	AD8232
Interfaccia	SPI
Alimentazione [V]	3.3. V
CMRR [dB]	80
Amplificazione	100
Ingressi	3 (elettrodi)
Uscita	analogica
Caratteristiche	-Jack 3.5 mm per connessione elettrodi -Indicatore LED -Leads-off detection -Filtro RFI

Tabella 3.1 Specifiche front-end analogico per ECG.

L'ECG è un segnale quasi periodico caratterizzato dalla presenza di tre caratteristici tipi di onde [1]:

- onda P, una deflessione verso l'alto che coincide con la depolarizzazione atriale;
- complesso QRS, una serie di deflessioni a punta verso l'alto (onda R) e verso il basso (Q e S) che rappresentano la depolarizzazione ventricolare;
- onda T, una deflessione verso l'alto corrispondente alla ripolarizzazione ventricolare.

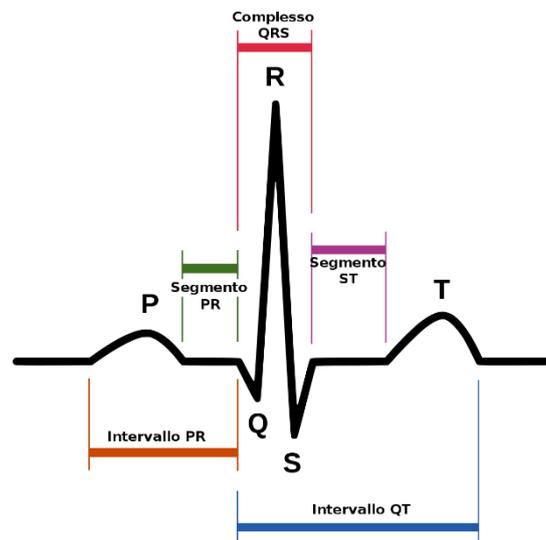


Figura 3.5 Componenti del segnale ECG [37].

Il segnale viene prelevato per mezzo di elettrodi adesivi monouso posti sulla cute in corrispondenza di precisi siti di registrazione. Coppie di elettrodi definiscono una *derivazione*.

In questo caso, l'obiettivo della misura è l'individuazione del picco dell'onda R. A tale scopo, è sufficiente acquisire una singola derivazione e pertanto utilizzare una sola coppia di elettrodi di cui uno posto sulla clavicola e l'altro sull'osso del bacino. Un terzo elettrodo funge da riferimento e viene applicato sul polso tramite

un polsino precedentemente bagnato per migliorare l'accoppiamento con la pelle e diminuire gli artefatti da movimento.

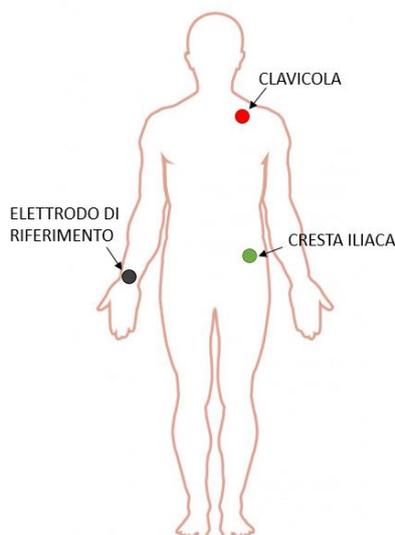


Figura 3.6 Esempio di uno schema posizionamento elettrodi per la misura dell'ECG.

3.2.3 Doppler

L'onda di pressione, generata artificialmente dal gonfiaggio del manicotto all'estremità di un braccio o di una gamba, è rilevabile prossimalmente a livello di una grossa vena dell'arto (es. vena brachiale per il braccio) grazie all'utilizzo di un dispositivo Eco-Doppler (MyLab 25 Gold, ESAOTE, Genova, Italia) equipaggiato con sonda lineare (LA523, ESAOTE, Genova, Italia).

Tale misura si basa sull'utilizzo degli ultrasuoni ed è assolutamente non-invasiva. In particolare, poiché la determinazione della vPWV prevede l'analisi del flusso venoso, l'ecografo di cui sopra viene usato in modalità flussimetro.

La *flussimetria Doppler* è un'applicazione che si basa sul principio fisico noto come *effetto Doppler*. Esso stabilisce che, se c'è un moto relativo tra sorgente e ricevitore, la frequenza dell'onda emessa viene percepita da quest'ultimo in maniera diversa e proporzionale alla velocità e alla direzione del moto. Se c'è

avvicinamento la frequenza percepita sarà maggiore, viceversa, se c'è allontanamento sarà più bassa.

Nel caso in esame, la sonda ecografica rappresenta la sorgente che insona un bersaglio in movimento, i globuli rossi del sangue in circolazione nei vasi sanguigni. Questi ultimi, date le dimensioni più piccole rispetto alla lunghezza d'onda del fascio a US, riflettono e diffondono l'onda (*principio di diffusione di Rayleigh*) verso il trasduttore che si comporta da ricevente.

La variazione di frequenza che si registra tra onda trasmessa e onda riflessa, anche nota come *scarto Doppler*, è:

$$\Delta f = \frac{2fv\cos\theta}{c}$$

dove f è la frequenza della sorgente, c la velocità di propagazione degli US nel mezzo (nel sangue è pari a 1560 m/s), θ è l'angolo tra la direzione del fascio e quella del flusso sanguigno e v è la velocità del sangue incognita. Una volta ottenuto lo shift in frequenza è possibile ricavare v .

Normalmente la sonda emette a frequenze dell'ordine dei MHz mentre lo scarto è dell'ordine dei kHz (tra i 20 Hz e i 20 kHz), cioè nella banda dell'udibile umano. Per questo motivo, durante l'indagine ecografica è possibile ascoltare il suono dovuto al flusso sanguigno.

Dalla formula precedente si deduce che la condizione di misurazione migliore si ha con $\cos\theta = 1$, soluzione che tuttavia non è praticabile poiché prevede l'orientamento del fascio di ultrasuoni al flusso in esame. Se si impone un angolo di 90° , invece, il risultato è uno scarto nullo e la misura non è utile. Ai fini pratici,

l'angolo di posizionamento ottimale dell'asse della sonda risulta essere compreso tra 40° e 60° rispetto all'asse del vaso.

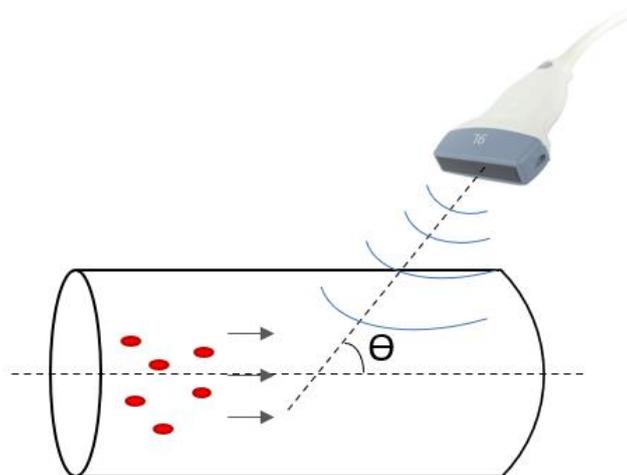


Figura 3.7 Flussimetria Doppler

Il segnale Doppler visibile sullo schermo dell'ecografo è la trasformata tempo-frequenza del segnale ricevuto dal trasduttore.

Nel protocollo di misura della vPWV seguito, la sonda viene collocata a livello della vena basilica, in posizione distale rispetto all'ascella, trasversalmente al vaso e con un angolo di incidenza di circa 60° . La posizione viene mantenuta durante l'esecuzione delle misure grazie all'ausilio di un supporto metallico. L'individuazione del vaso venoso viene facilitata dalla codifica a colori visibile a schermo: trattandosi di flusso in avvicinamento, la sezione venosa da ricercare è quella rappresentata in blu. Trovato il vaso si posiziona il cursore dell'ecografo al centro della sua sezione. Il segnale Doppler visibile a schermo (nel dominio della tempo-frequenza) corrisponderà a quello della regione selezionata. Il passaggio dell'onda pressoria è facilmente individuabile dalla variazione in frequenza che essa comporta e che si riflette sullo spettrogramma.

Per rilevare il passaggio dell'onda si utilizza però il segnale Doppler nel dominio del tempo. L'ecografo fornisce in uscita tale segnale audio che viene leggermente amplificato attraverso una schedina appositamente realizzata per poter poi essere correttamente acquisito.

3.3 Sistema di acquisizione

Il cuore del dispositivo è l'unità di controllo e acquisizione che deve occuparsi di acquisire gli input analogici, cioè tutti i segnali d'interesse, e processarli. Nell'ottica di una soluzione portatile ed economica, si è scelto di implementare questo blocco tramite un Raspberry Pi Model B. Il costo relativamente basso, il fattore di forma ridotto simile a quello di una carta di credito e la versatilità rendono il Rpi un candidato ideale per la realizzazione del dispositivo.

3.3.1 Raspberry Pi 4B

Il *Raspberry Pi 4 Model B* è un single-board computer, cioè un calcolatore implementato su una scheda elettronica singola, sviluppato dalla Raspberry Pi Foundation. Esso si basa su una tecnologia System-on-a-Chip (SoC) di Broadcom: monta un processore BCM2711 quad-core 64 bit ARM Cortex-A72 da 1.5 GHz. Il modello scelto offre una memoria RAM da 4GB e numerose porte di input/output. Esso è dotato, inoltre, di una scheda SD per il boot e per la memoria non volatile.

Rpi utilizza un sistema operativo Linux, in particolare il *Raspberry Pi OS* (in precedenza noto come Raspbian), un sistema operativo basato sulla distribuzione Debian. In alternativa, è possibile installare altre versioni a seconda delle necessità (es. Kali Linux, Ubuntu Core...).

Di seguito le principali caratteristiche:

- 1.5 GHz 64-bit quad-core Cortex-A72 CPU
- 4 GB di LPDDR4 SDRAM
- 2 porte USB 3.0 e 2 porte USB 2.0
- 2 porte micro-HDMI
- 40 pin GPIO (Seriale, I2C, SPI)
- Dual-band 802.11ac wireless rete e Bluetooth 5.0

- Slot micro-SD per boot OS e archiviazione dati
- Porta DSI per connessione display
- Presa di alimentazione USB-C

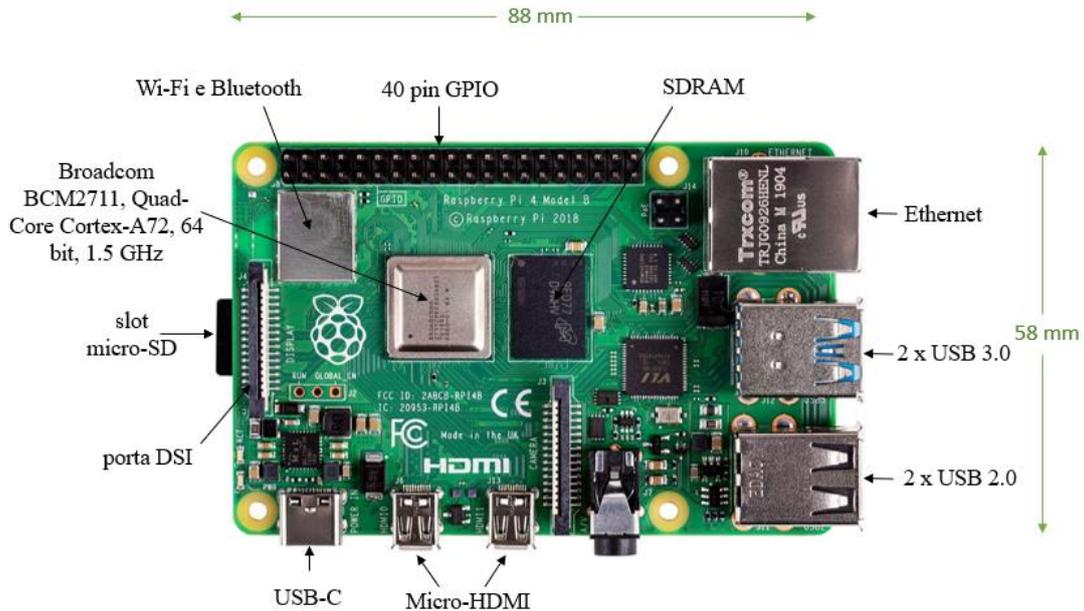


Figura 3.8 Raspberry Pi 4 Model B [38].

Per accedervi da remoto è possibile collegarlo alla rete Internet e sfruttare il *protocollo SSH* (Secure Shell), che va abilitato dall'apposita schermata di configurazione.

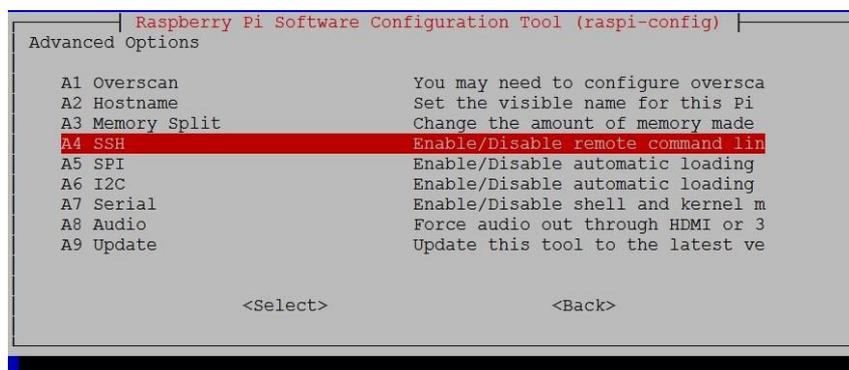


Figura 3.9 Configurazione SSH.

L'accesso può così essere effettuato, ad esempio, tramite il software *Putty*. Quest'ultimo consente di lavorare sulla linea di comando di Rpi. In alternativa, se si desidera visualizzare anche il Desktop, è possibile installare un server di accesso remoto quale *TightVNC*.

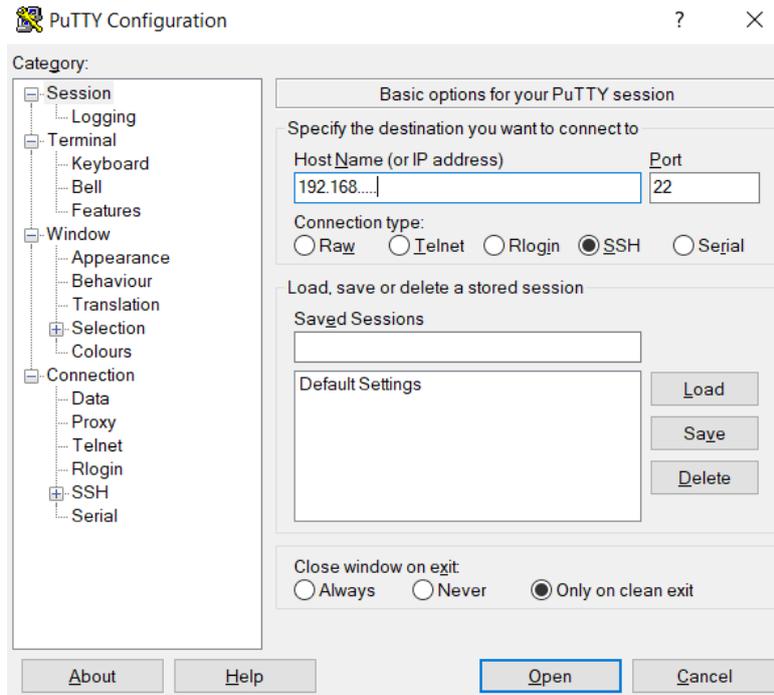


Figura 3.10 Software Putty.

3.3.2 Convertitore A/D

I segnali da acquisire sono di tipo analogico mentre Raspberry Pi supporta solo ingressi digitali pertanto è necessario inserire un convertitore analogico-digitale.

Per scegliere l'ADC adatto sono stati presi in considerazione i seguenti requisiti:

- compatibilità con Raspberry Pi 4B
- frequenza di campionamento adeguata ai segnali d'interesse (f_{max} almeno 10 kHz per il segnale Doppler)
- minimo 4 ingressi analogici

High-Precision AD/DA Board di Waveshare soddisfa tali specifiche. Si tratta di una scheda per la conversione analogico-digitale che monta l'integrato

ADS1256, con 8 canali single-ended, risoluzione 24 bit, frequenza massima di campionamento pari a 30 kHz e interfaccia GPIO (General Pin Input Output). Quest'ultima caratteristica consente un rapido assemblaggio della scheda direttamente sui pin di Raspberry evitando l'utilizzo di altri cavi per il collegamento o breadboard di supporto.

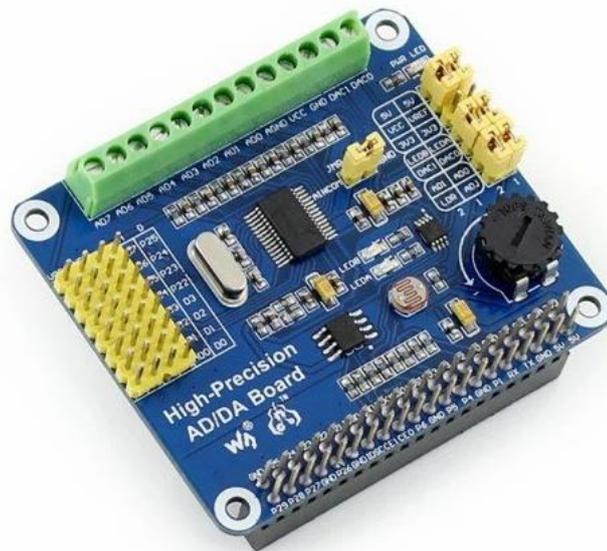


Figura 3.11 High-Precision AD/DA Board [41].

Il convertitore campiona i segnali analogici e comunica le letture a Raspberry Pi tramite l'interfaccia SPI (Serial Peripheral Interface). Il codice sorgente per la configurazione e la gestione dei comandi dell'ADC è scritto in linguaggio Python ed è messo a disposizione dalla casa produttrice Waveshare.

Modello	AD/DA High Precision Board
Azienda	Waveshare
Chip	ADS1256
Canali input	8
Tipologia ingressi	Single-ended, differenziale
Risoluzione [bit]	24
Frequenza di campionamento [Hz]	2.5,5,10,50,60,100,500,1000,2000,3750,7500,15000,30000
Interfaccia	SPI
Input range [V]	0-5.25
Tensione di alimentazione [V]	3 o 5
Caratteristiche	PGA, MUX, GPIO, reiezione 50-60 Hz

Tabella 3.2 Specifiche principali del convertitore.

3.3.3 Scelta delle frequenze di acquisizione

Come specificato nel paragrafo 3.3.2, il convertitore consente di impostare una frequenza di campionamento (f_s) variabile compresa tra 2.5 Hz e 30 kHz. Nell'attuale configurazione vengono acquisiti in totale tre segnali e la scelta delle f_s viene fatta sulla base del loro contenuto frequenziale:

- Respiro: si tratta di un segnale sinusoidale molto lento. In un soggetto adulto normalmente si hanno 12-20 atti respiratori/min, cioè una distanza tra due atti pari a 10s circa. Pertanto, è sufficiente campionare a frequenze basse per cogliere l'andamento del segnale. Si è scelto di impostare una f_s pari a 50 Hz.
- ECG: essendo la banda del segnale ecografico compresa tra 0.01 Hz e 250 Hz, la minima frequenza di campionamento possibile risulta 500 Hz.
- Doppler: è un segnale ad alta frequenza e occorre leggerlo a una frequenza minima di 10 kHz.

3.3.4 Protocollo SPI

L'interfaccia *SPI* è un bus sincrono di collegamento generalmente utilizzato per lo scambio di dati tra microcontrollori e periferiche associate (es. sensori o schede di memoria). Esso si basa sull'*architettura master-slave*: un dispositivo principale singolo, detto master, comunica con uno o più slaves.

Il protocollo di comunicazione utilizza 4 linee:

- SCK: è il segnale di clock, viene generato solo dal master
- MOSI: Master Output Slave Input, è la linea che va dal master all'ingresso dello slave
- MISO: Master Input Slave Output, è la linea che va dallo slave all'ingresso del master
- SS: Slave Select, serve a scegliere con quale periferica comunicare

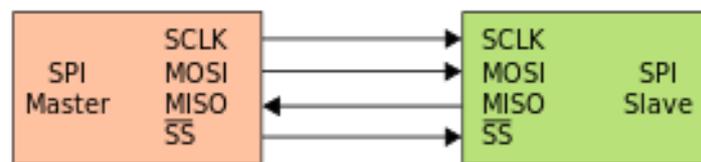


Figura 3.12 Schema collegamenti SPI [39].

3.4 Integrazione HW pneumatico

Una volta connessi i sensori alla schedina per l'acquisizione, per controllare la parte dedicata alla compressione e pilotare le elettrovalvole correttamente è necessario interporre un piccolo circuito costituito tra un transistor (Philips Semiconductors, BSX32) uno per ogni valvola. L'obiettivo è consentire al segnale digitale in uscita da Raspberry (3.3 V) la fornitura della potenza necessaria per attivare il relé collegato alle valvole, che invece è pilotato a 5V e soprattutto richiede una corrente elevata.

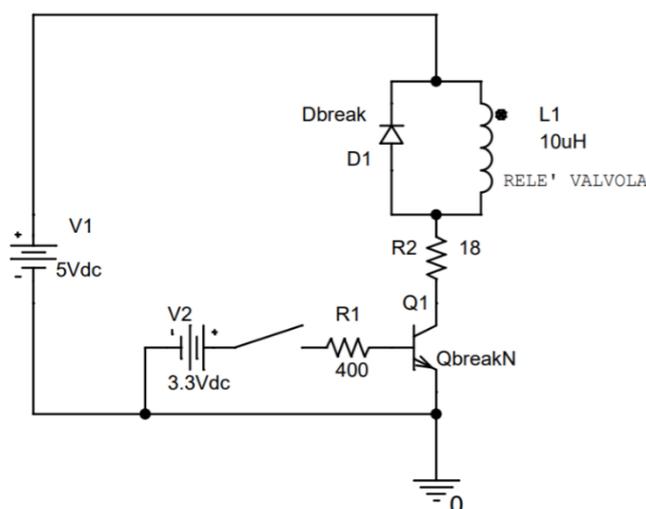


Figura 3.13 Circuito per il controllo delle valvole.

3.5 Programmazione ed elaborazione

3.5.1 Software utilizzati

Tutti gli algoritmi utili al funzionamento dell'unità di controllo e acquisizione del dispositivo sono stati sviluppati in ambiente *Python*.

La verifica di corretto funzionamento del prototipo è stata effettuata con l'ausilio del software di acquisizione *Spike2* collegato al sistema di acquisizione CED (Cambridge Electronic Design) modello Micro1401-3. I dati da esso forniti sono stati per semplicità esportati in file.MAT e analizzati e confrontati con quelli provenienti dal dispositivo in progettazione grazie all'utilizzo del software *Matlab R2020b*.

3.5.2 Sincronizzazione con attività cardiaca e respiratoria

Come già detto in precedenza, il valore della vPWV è notevolmente influenzato dal battito cardiaco e dal respiro. Al fine di ridurre le variabilità nella misura, le compressioni devono essere eseguite nella stessa fase cardiaca e respiratoria.

La sincronizzazione con il respiro avviene nella fase di fine espirazione poiché risulta la condizione più facilmente ripetibile: l'inspirazione dipende dal soggetto e da quanto espande la cassa toracica, l'espirazione invece è un'azione passiva determinata dal semplice rilassamento della muscolatura toracica.

L'individuazione della fase di fine espirazione è resa automatica grazie all'implementazione di un algoritmo, per l'analisi del segnale di tensione proveniente dalla fascia toracica, che si basa sull'attraversamento di una soglia. Tale soglia viene inizializzata effettuando la media del segnale respiratorio acquisito su una finestra di 20 s, in modo da poter includere diversi cicli respiratori ed avere una stima più accurata.

Il programma, che acquisisce un campione alla volta, memorizza le letture all'interno di un vettore di lunghezza pari all'equivalente in campioni della finestra da 20 s. Ogni volta che si legge un nuovo campione, questo viene accodato al suddetto vettore e contemporaneamente si scarta il primo elemento dall'altro capo: in questo modo la lunghezza rimane fissa.

Man mano che l'acquisizione procede, la routine verifica che sia trascorso un tempo pari a 2 s dall'aggiornamento precedente e nel caso ricalcola la soglia, sempre effettuando l'operazione di media del segnale su una finestra di 20 s. La revisione della soglia si rende necessaria per evitare possibili problemi nel riconoscimento della fase espiratoria causate da lente derive a cui può essere soggetto il segnale.

Il programma identifica l'evento di fine espirazione nell'istante in cui il valore letto scende al di sotto della soglia. In aggiunta, è stato predisposto un controllo per accertarsi di essere nella fase discendente del segnale sinusoidale, quella coincidente con l'espirazione: dopo 0.5 s dall'individuazione del primo evento (lettura < soglia), si ricontrolla che la lettura sia ancora al di sotto della soglia e che il suo valore sia più piccolo del campione precedente (quindi sia in fase decrescente). Solo passato questo ultimo accertamento si segnala l'evento di fine espirazione.

Infine, è inserito un controllo per verificare che ogni evento espiratorio sia sempre preceduto da un'inspirazione.

Per quanto riguarda il segnale ECG, si procede con la sincronizzazione dell'impulso pressorio con l'onda R. L'algoritmo di rilevazione del battito si basa su una soglia che è fissa e definisce l'ampiezza minima sopra la quale è possibile individuare il picco R. La scelta del valore della soglia viene fatta sulla base dell'osservazione di un esempio di tracciato ecografico e in questo caso è stato fissato a 0.25 V (per il segnale acquisito con il GRASS) o 2.5 V (per il segnale acquisito con l'AD8232).

3.5.3 Trigger ritardato

Il flusso venoso presenta una, seppur piccola, pulsatilità naturale dovuta alla propagazione retrograda dell'onda di pressione generata con la contrazione dell'atrio destro (paragrafo 2.2).

Al fine di avere un riconoscimento chiaro del footprint dell'onda pulsatoria è indispensabile che questa cada laddove l'ampiezza delle pulsazioni naturali è minima. È quindi utile poter ritardare l'invio del segnale di compressione di un intervallo di tempo fisso (in modo che la compressione rimanga sincronizzata con l'ECG) ma regolabile dall'utente (in modo che la compressione cada nella fase desiderata).

Per poter implementare tale richiesta si è pensato di sfruttare la presenza del potenziometro montato sull'ADC e impostare il valore di ritardo sulla base della tensione letta sul canale collegato al potenziometro.

3.5.4 Gestione valvole

L'operazione di gonfiaggio e sgonfiaggio viene eseguita mediante l'utilizzo di un segnale digitale (alto o basso) inviato alle valvole tramite i pin GPIO di Raspberry.

Importando il modulo Python *Rpi.GPIO*, è sufficiente scegliere quali pin adibire a tali operazioni e modificarne lo stato tramite le opzioni True o False. Le durate dei due segnali digitali vengono imposte sfruttando la libreria *time* e l'istruzione *sleep*. Per il gonfiaggio si è scelto di imporre una durata pari a 400 ms, per lo sgonfiaggio 5 s.

Di seguito un esempio di codice per il controllo di un GPIO pin:

```
import Rpi.GPIO as GPIO
GPIO.setmode(GPIO.BCM)
GPIO.setwarnings(False)
GPIO.setup(pin, GPIO.OUT)
GPIO.output(pin, True) #ON
time.sleep(sec) #durata accensione
GPIO.output(pin, False) #OFF
```

Una volta dato il segnale di inizio compressione, la funzione per il pilotaggio delle elettrovalvole deve essere eseguita contemporaneamente all'acquisizione del segnale Doppler da parte di Raspberry. A tale scopo, è stata importata la libreria *multiprocessing* con la quale viene implementato il calcolo in parallelo.

3.5.5 Processing segnale Doppler

Il segnale audio proveniente dall'ecografo viene acquisito ad alta frequenza immediatamente dopo l'invio del segnale di inizio compressione. Il Raspberry legge e salva brani di segnale della durata di 1 s. Ogni brano viene elaborato al fine di estrarre una misura del tempo d'insorgenza dell'onda pressoria (*footprint*) dall'apertura della valvola di gonfiaggio. Il footprint è il punto dell'onda più ripetibile [29] e meno soggetto alla distorsione della forma d'onda nel suo propagarsi [30], per questi motivi è scelto come punto di riferimento del passaggio dell'onda.

L'algoritmo di detezione del footprint lavora su epoche di segnale di 1 s misurate a partire dall'istante di apertura della valvola di gonfiaggio t_0 . Esegue su una finestra mobile di 3000 campioni l'involuppo rms (positivo) che viene poi smussato mediante regressione locale usando il metodo pesato dei minimi quadrati e un modello polinomiale di 1° grado.

Il footprint del profilo velocitometrico viene identificato all'istante t_1 in cui l'involuppo raggiunge il 5 % del massimo della curva.

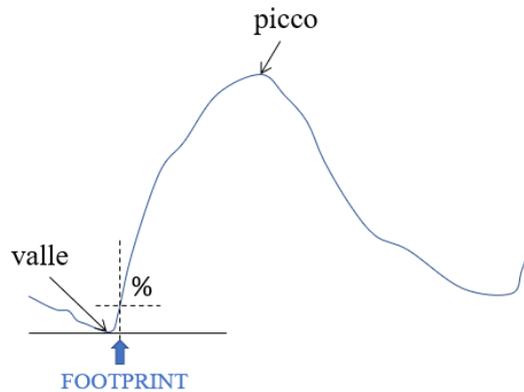


Figura 3.14 Metodo per l'individuazione del footprint.

Il protocollo di misura sviluppato in precedenza prevede che il tempo di transito effettivo della PW venga ricavato come $\Delta t = t_1 - t_e$ dove t_e rappresenta l'istante di inizio reale della compressione con il superamento di un valore di pressione all'interno del manicotto di 4 mmHg. Tale informazione deriva dalla lettura di un sensore di pressione che nella configurazione attuale, tuttavia, non è ancora stato integrato. Pertanto, per il momento, la velocità viene calcolata sulla base del Δt tra t_1 , cioè l'istante di detezione del footprint, e l'invio del trigger t_0 . Nota la distanza Δx tra manicotto e sonda ecografica è possibile ricavare la velocità come $v_{PWV} = \Delta x / \Delta t$.

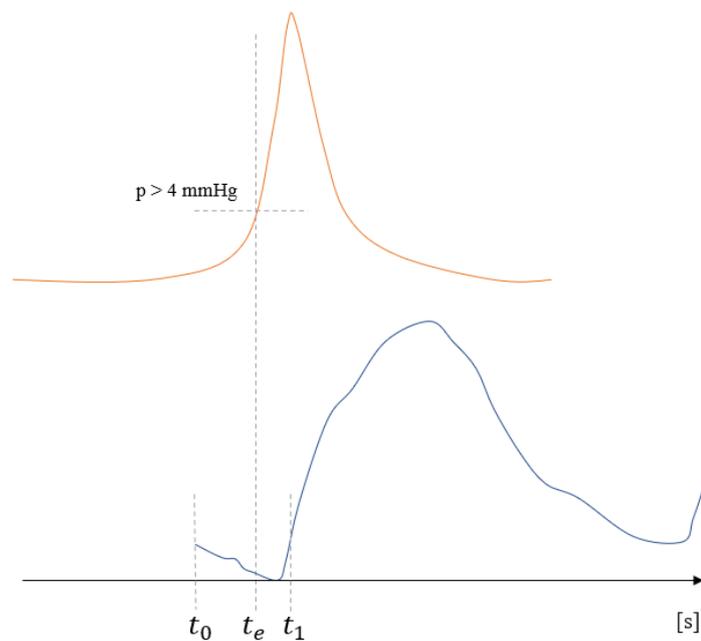


Figura 3.15 Metodo teorico per il calcolo del tempo di transito della PW, attualmente non ancora implementato. In alto il segnale pressorio, in basso l'involuppo del segnale Doppler.

L'algoritmo, così come è stato descritto, originariamente implementato in ambiente Matlab, è stato successivamente tradotto in linguaggio Python per poter essere eseguito direttamente su Raspberry.

3.5.6 Diagramma di flusso

Di seguito una rappresentazione riassuntiva sottoforma di diagramma di flusso dei vari step realizzati dall'algoritmo e descritti in precedenza: dal riconoscimento della fase di fine espirazione, all'individuazione dell'onda R sul tracciato ECG, all'acquisizione e processing del segnale Doppler finalizzato al calcolo della velocità.

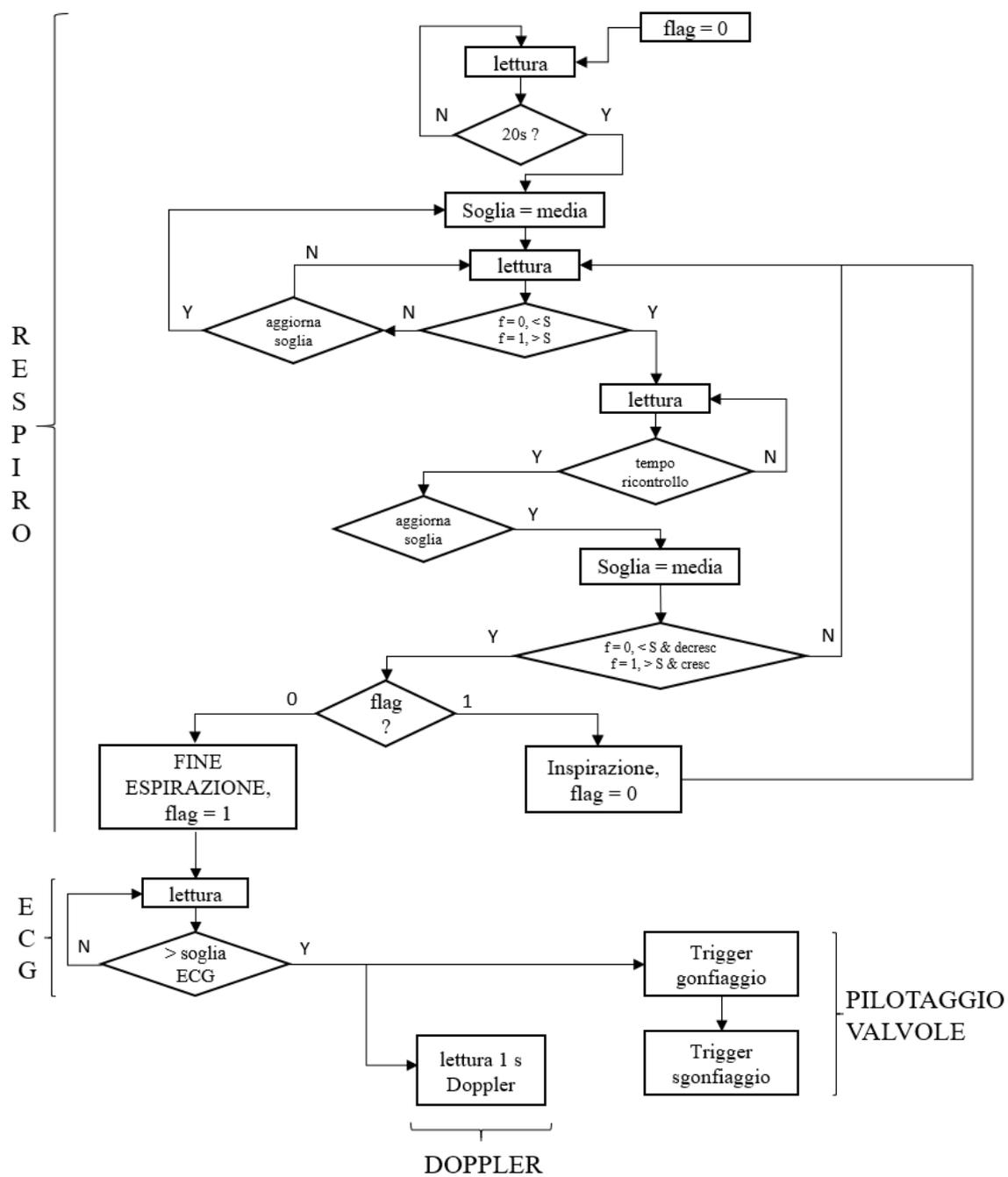


Figura 3.16 Algoritmo per l'invio del trigger di compressione e acquisizione Doppler.

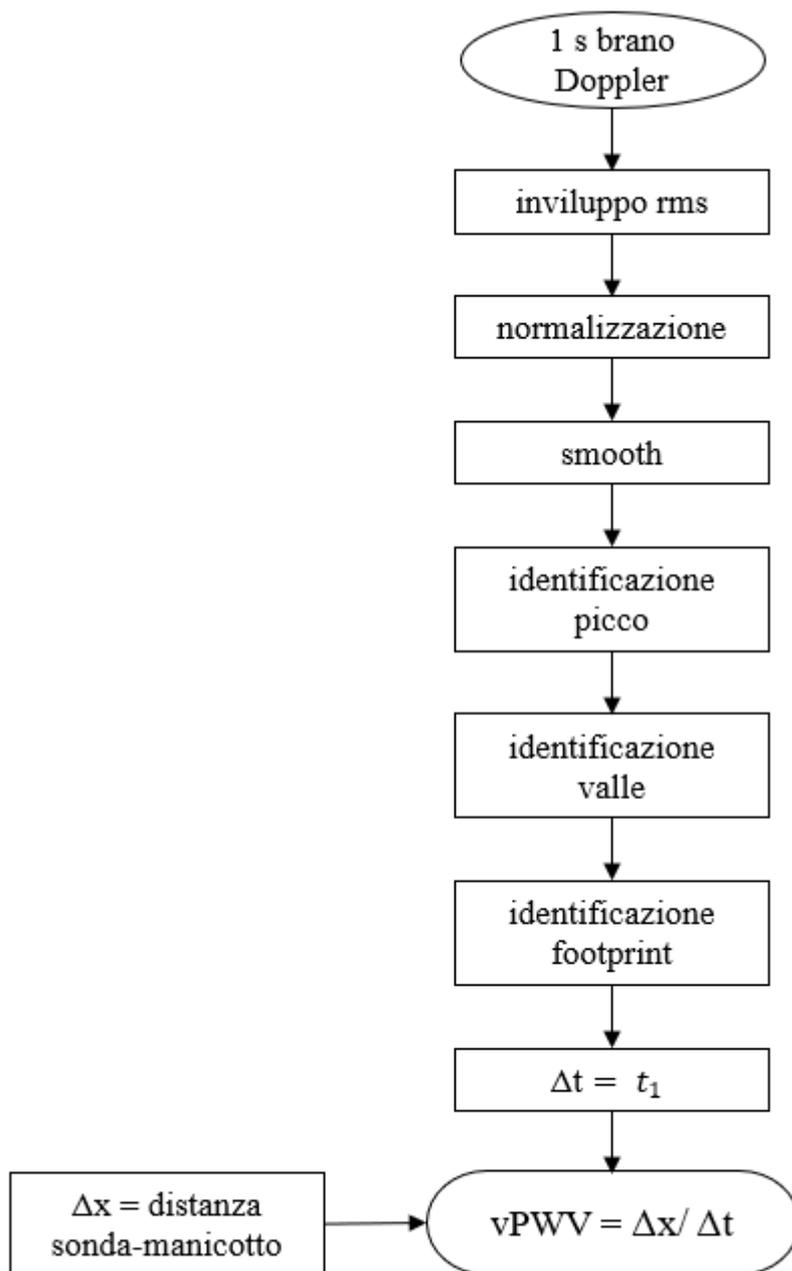


Figura 3.17 Algoritmo per la determinazione della vPWV.

4. Risultati

4.1 Verifica prestazioni

Questa sezione è dedicata alla presentazione dei risultati della caratterizzazione delle prestazioni del sistema di acquisizione (Raspberry + ADC) in termini di velocità di lettura e latenze introdotte negli step cruciali dell'algoritmo.

4.1.1 Frequenza di campionamento

Il convertitore a disposizione consente la lettura di più canali grazie alla presenza del multiplexer. Nello specifico, i tre canali sono acquisiti uno alla volta a frequenze diverse secondo quanto stabilito nel paragrafo 3.3.3.

Secondo il datasheet del chip ADS1256 [31], è possibile impostare due differenti modalità di lettura con i comandi RDATA e RDATAAC.

RDATA (Read DATA) consente ottenere il risultato di una singola conversione: ogni campione viene letto solo dopo avere inviato il comando.

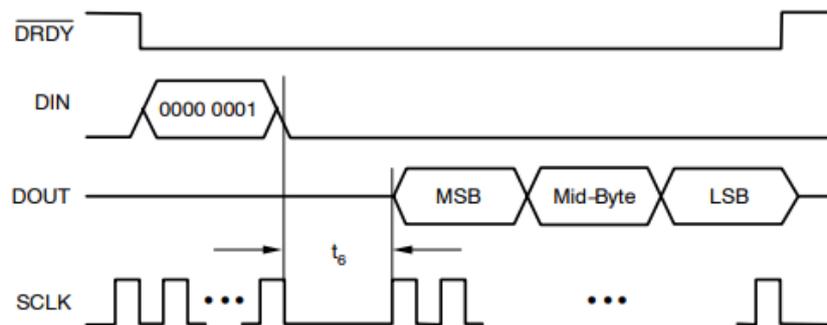


Figura 4.1 Sequenza comandi RDATA [31].

RDATAAC (Read DATA Continuously) permette invece di acquisire continuamente un canale senza il ripetersi del comando, come avviene nell'altra modalità, e per il tempo desiderato.

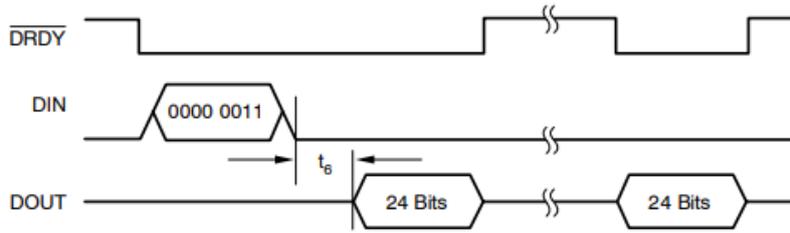


Figura 4.2 Sequenza comandi RDATAAC [31].

Di seguito vengono mostrati i confronti tra le tempistiche di lettura (RDATA vs RDATAAC) tramite istogrammi che rappresentano le *frequenze effettive* di campionamento ottenute dal convertitore a seguito dell'impostazione delle seguenti *frequenze teoriche* di campionamento:

- 50 Hz per il respiro
- 500 Hz per ECG
- test frequenze Doppler: 7500 Hz, 15 kHz

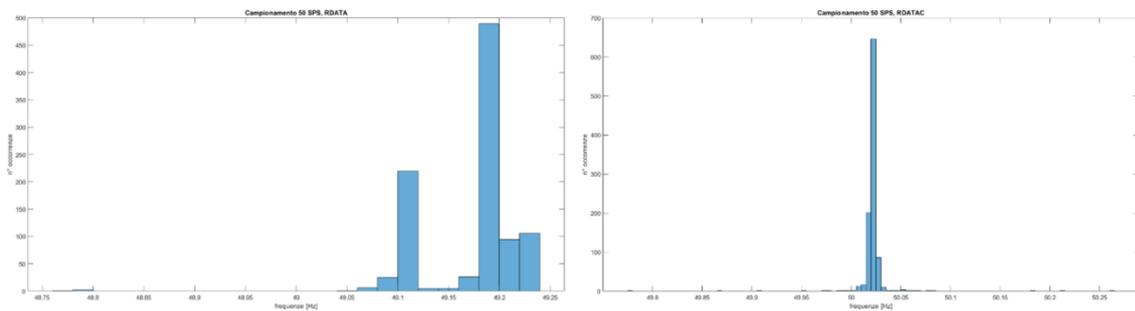


Figura 4.3 Distribuzione dei valori di frequenze effettiva assunta frequenza teorica pari a 50 Hz: a sinistra RDATA, a destra RDATAAC.

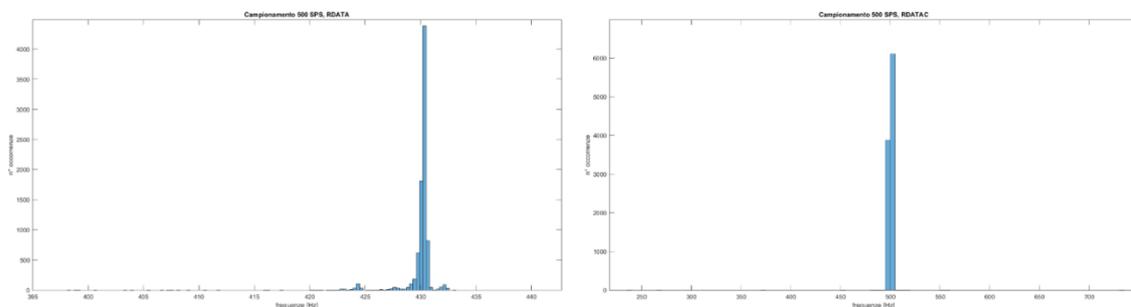


Figura 4.4 Distribuzione dei valori di frequenze effettiva assunta frequenza teorica pari a 500 Hz: a sinistra RDATA, a destra RDATAAC.

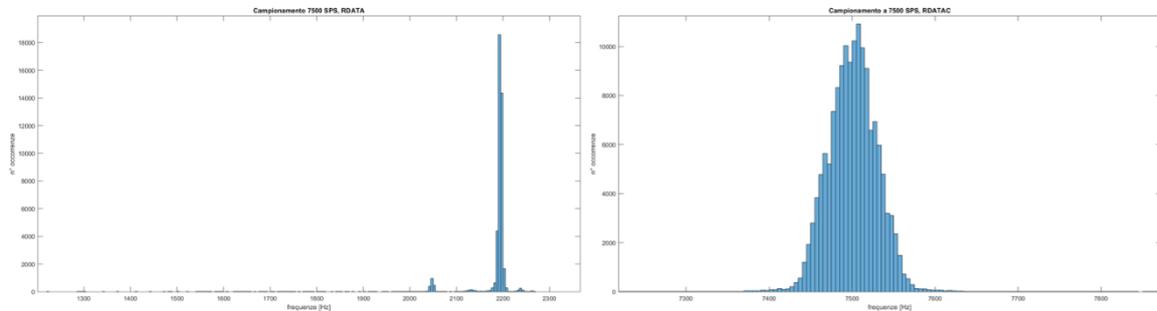


Figura 4.5 Distribuzione dei valori di frequenze effettiva assunta frequenza teorica pari a 7500 Hz: a sinistra RDATA, a destra RDATAAC.

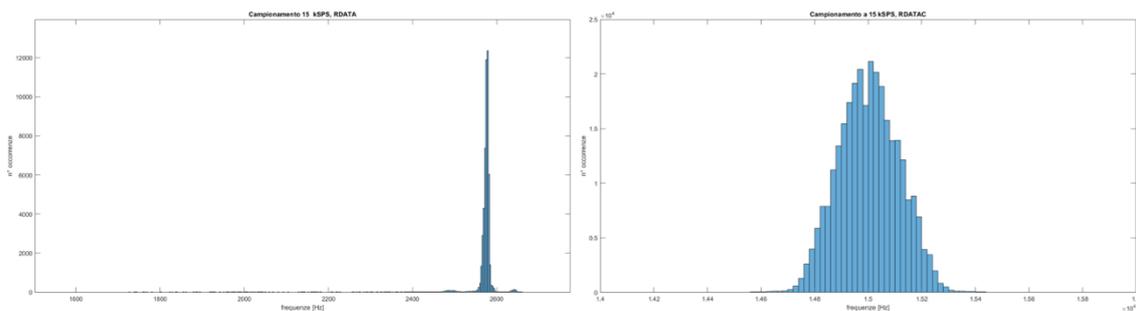


Figura 4.6 Distribuzione dei valori di frequenze effettiva assunta frequenza teorica pari a 15 kHz: a sinistra RDATA, a destra RDATAAC.

È sin da subito evidente che la frequenza di campionamento non è costante in entrambe le situazioni. La ragione può essere dovuta o al codice Python per la lettura dell'ADC che non risulta ottimizzato e introduce ritardi o al sistema operativo che non lavora in real-time e che essendo multi-purpose coordina contemporaneamente anche altri processi in background che potrebbero rallentare quello di acquisizione.

La modalità RDATA, tuttavia, presenta gli errori maggiori che aumentano al crescere della frequenza di campionamento. A 7500 Hz di campionamento teorico, la frequenza reale diminuisce del 70%, mentre a 15 kHz teorici la frequenza effettiva diminuisce di circa l'86%.

La modalità RDATAAC, invece, si presenta come quella più efficiente poiché evita la ridondanza nell'invio del comando per la lettura di campioni di segnale relativi a un singolo canale con conseguente miglioramento nelle performance di acquisizione. Inoltre, la distribuzione delle frequenze effettive è centrata sul valore teorico con un range di variazione limitato. Poiché l'algoritmo sviluppato prevede di processare un segnale alla volta, implementare l'acquisizione tramite il comando RDATAAC risulta la scelta più opportuna e conveniente in termini di tempistiche.

4.1.2 Latenza onda R – trigger di inizio compressione

Per quantificare il ritardo dal riconoscimento dell'onda R all'invio del segnale di gonfiaggio si sfrutta il software Spike2 collegato al sistema di acquisizione CED.

Su quest'ultimo si predispone un'uscita digitale che simuli il segnale ECG da fornire in ingresso al Raspberry, per semplicità lo si rappresenta come un'onda quadra. Mediante l'utilizzo del graphical sequencer del programma, si impostano i parametri della forma d'onda in uscita:

- 20 ms ON (5V)
- periodo 2 s

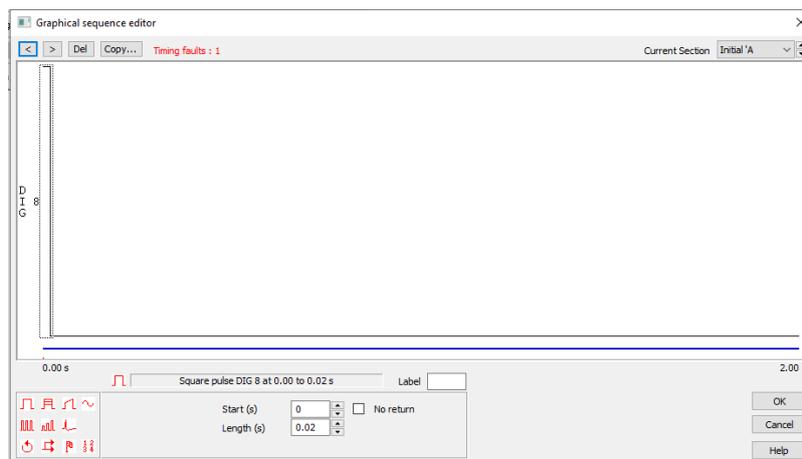


Figura 4.7 Graphical sequencer: onda quadra.

Si lancia il programma di lettura dell'ECG e invio del trigger su Raspberry e contemporaneamente Spike si occupa di monitorare quest'ultimo.

Il ritardo tra ECG simulato e trigger di inizio compressione viene ricavato misurando la distanza temporale tra i fronti di salita dei due segnali.

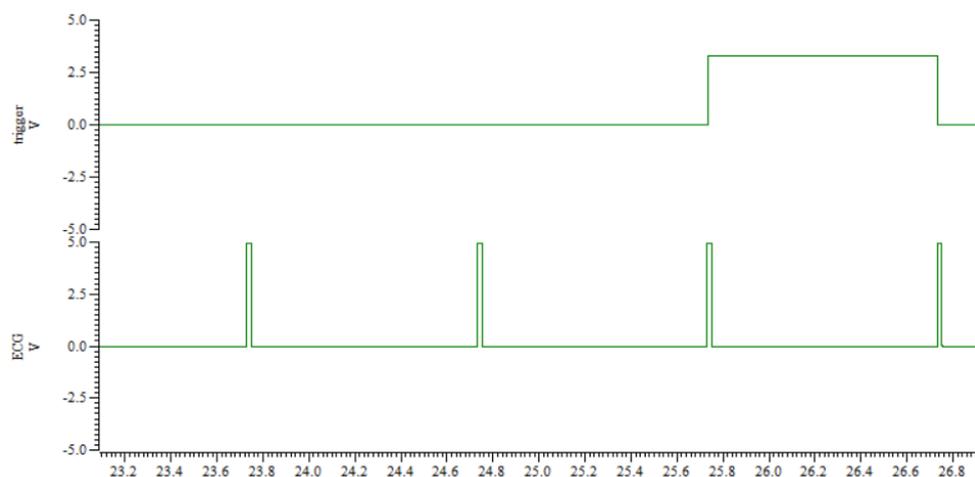


Figura 4.8 Rappresentazione del segnale ECG simulato e trigger sul software Spike2.

Sono state raccolte in totale 116 misure di latenza. 3 valori sono stati catalogati come outliers (superiori a tre volte la deviazione standard) e pertanto esclusi.

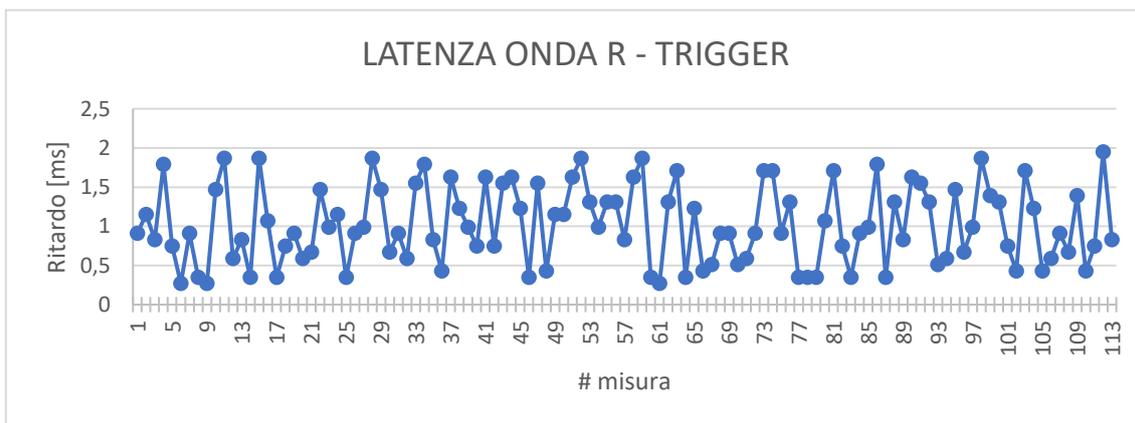


Figura 4.9 Andamento dei valori di latenza durante la prova.

In figura 4.9 l'andamento delle misure ricavate nel corso di un'acquisizione. Il ritardo non è costante ma oscilla intorno a un valore medio di circa 1 ms. La

ragione dell'instabilità è probabilmente dovuta al sistema operativo di Raspberry che può introdurre ritardi variabili a seconda delle priorità da esso assegnate ai vari processi in esecuzione.

Di seguito è invece rappresentata la distribuzione di frequenza delle misure effettuate.

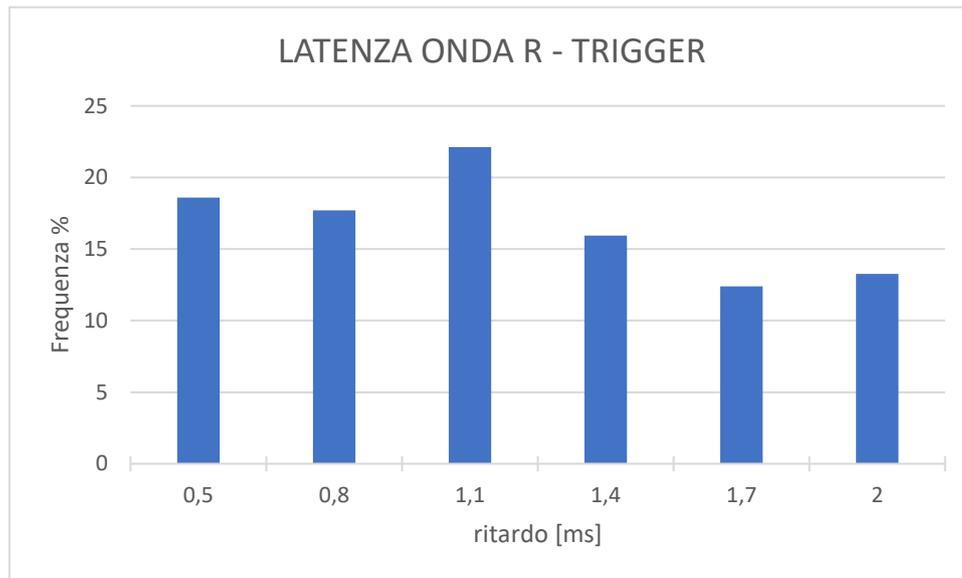


Figura 4.10 Istogramma dei valori di latenza in ms tra onda R e segnale trigger.

Come si può osservare in figura 4.10, la distribuzione dei ritardi è all'incirca uniforme ma limitata su un range di valori piuttosto ristretto e quindi l'attivazione della valvola per il gonfiaggio è molto rapida (entro i 2 ms).

4.1.3 Trigger ritardato

Al fine di posizionare in maniera ottimale l'onda di pressione tra le pulsazioni cardiache spontanee del flusso venoso, è utile poter introdurre un ritardo fisso (ma regolabile) tra l'onda R e il trigger di gonfiaggio.

La gestione del ritardo del trigger è implementata grazie all'utilizzo del potenziometro in dotazione al convertitore. La tensione fornita dal potenziometro rappresenta l'input fornito all'algoritmo dall'operatore per settare la temporizzazione per l'invio dell'impulso. L'input, opportunamente convertito

secondo la seguente relazione $ritardo_{trigger} = \frac{V_{potenziometro}}{5}$, viene poi utilizzato come variabile temporale argomento della funzione `time.sleep()` di Python.

In questo paragrafo è stata effettuata una prova di verifica della precisione con cui viene realizzato tale ritardo.

A titolo d'esempio, è stato impostato una latenza di circa 200 ms risultato della conversione del valore di tensione letto sul potenziometro, $V_{potenziometro}$, pari a 1V nel caso in esame.

Sono state realizzate in totale *100 misure*. Si evidenzia da subito una distribuzione ristretta a un range di valori piuttosto limitato (dell'ordine di 2-3 ms). Inoltre, si è in linea con i ritardi misurati nel paragrafo precedente poiché se alle latenze in esame si sottrae il ritardo imposto (pari a 200 ms) si riottengono misure che ricadono all'interno dell'intervallo di valori mostrati in figura 4.11.

L'impostazione del ritardo è da ritenersi quindi piuttosto affidabile.

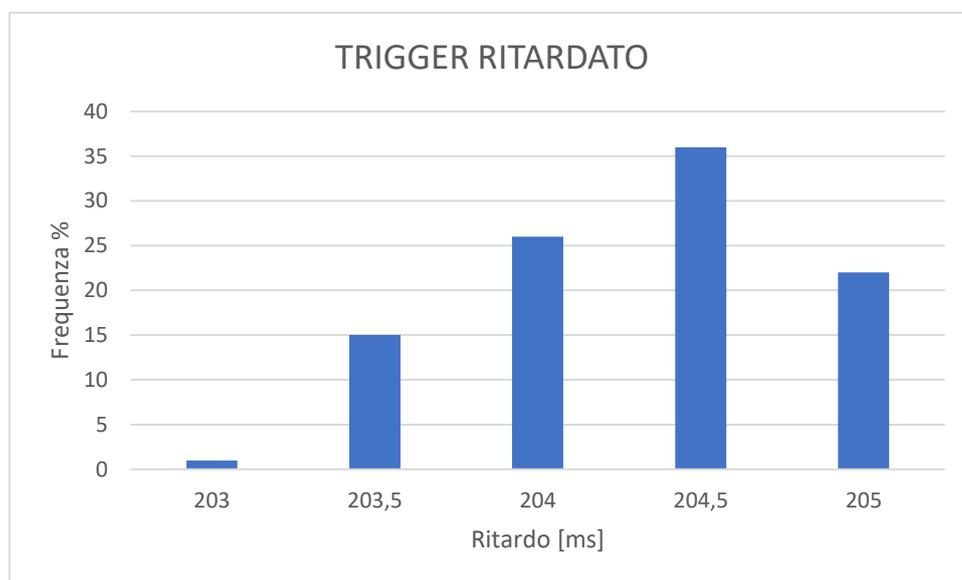


Figura 4.11 Istogramma delle latenze con un ritardo imposto di 200 ms.

4.1.4 Latenza trigger – inizio acquisizione Doppler

È fondamentale che l'acquisizione del brano Doppler che rileva il passaggio dell'onda pressoria stimolata inizi appena dopo l'invio del segnale di apertura della valvola. Anche in questo caso, per la verifica di questa latenza, si utilizza Spike2 unitamente al CED.

Il segnale Doppler viene simulato per semplicità con una rampa i cui parametri vengono impostati sul sequencer:

- da 0 V a 5 V in 1 s

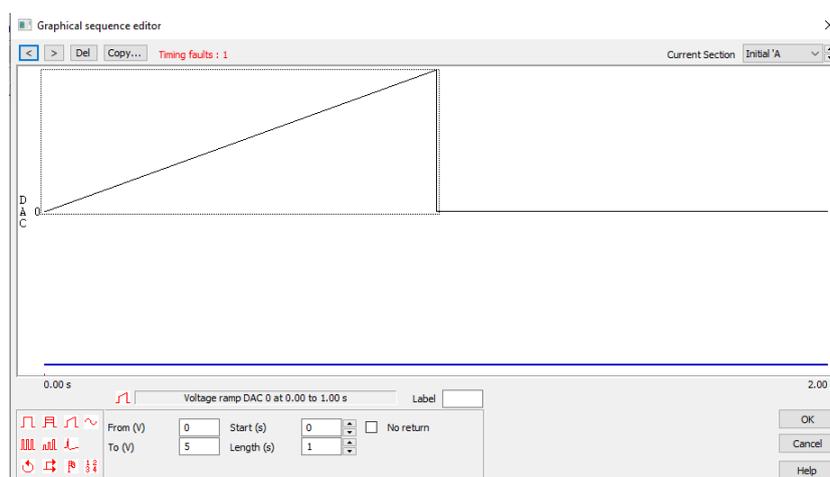


Figura 4.12 Graphical sequencer: rampa.

In alternativa, si può simulare un'onda quadra:

- 20 ms ON
- 980 ms OFF

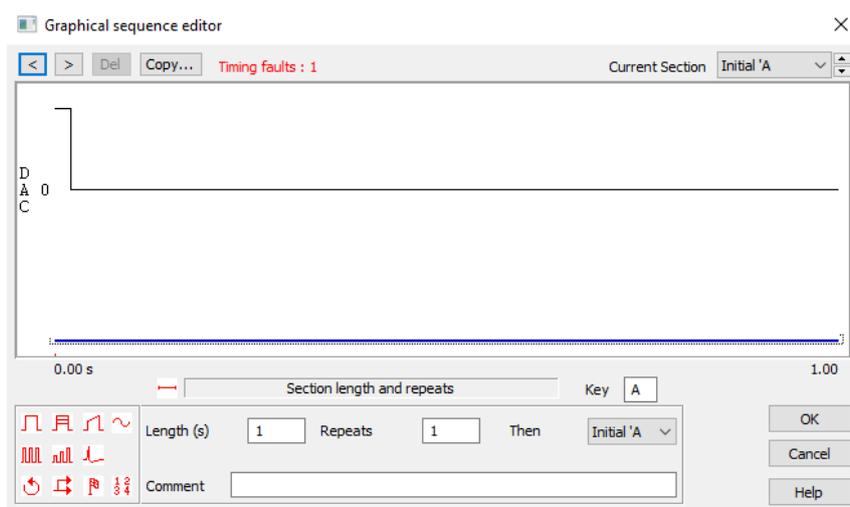


Figura 4.13 Graphical sequencer: onda quadra.

Sono stati analizzati i risultati dell'acquisizione del Doppler simulato da parte di Raspberry alle frequenze di lettura selezionabili sul convertitore e vicine ai 10 kHz richiesti e cioè: 7500 Hz e 15 kHz.

Nella ricostruzione della rampa/onda quadra campionata si può notare che in alcune occasioni e in maniera del tutto casuale i brani acquisiti presentano dei *glitches*, ossia brevi impulsi di tensione diversi dal valore reale del segnale acquisito. Il glitch può essere causato da un'interferenza, un loop di terra, da aliasing o dal convertitore stesso. In quest'ultimo caso, il problema potrebbe essere a livello del codice che gestisce i comandi per la configurazione dell'ADS1256.

In figura 4.14 e 4.15 sono rappresentati in linea continua i brani campionati da Raspberry, in linea tratteggiata l'andamento ideale della rampa. Ogni glitch rappresenta un campione alterato. Sulla base delle acquisizioni effettuate, è possibile osservare però che il numero di letture errate è bassissimo se confrontato col totale dei campioni acquisiti. In figura 4.14, ad esempio, il totale dei campioni acquisiti è pari a 7500×50 (50 brani da 1 s campionati a 7500 Hz) mentre il numero di campioni errati è 11, cioè lo 0.003% . In figura 4.15, invece, si hanno 22 glitches su un totale di 15000×50 letture, lo 0.003% .

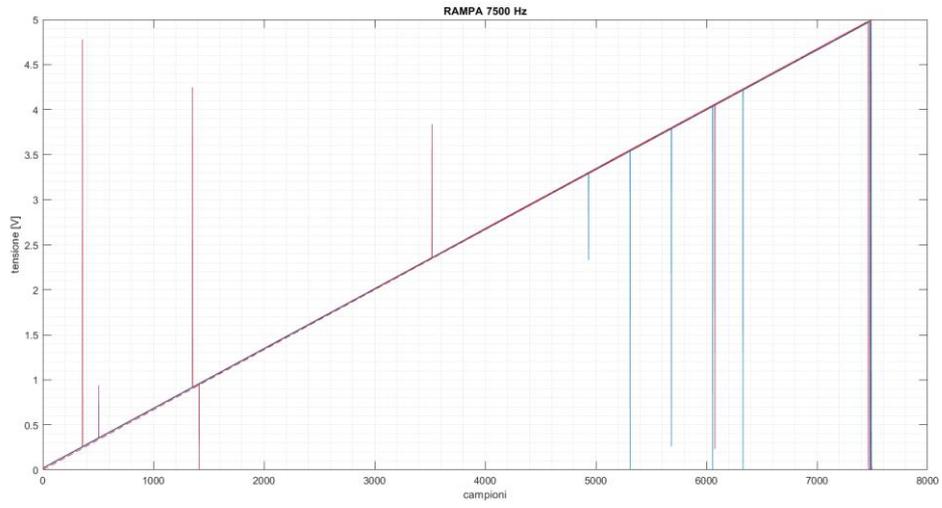


Figura 4.14 Ricostruzione 50 brani rampa campionata a 7500 Hz.

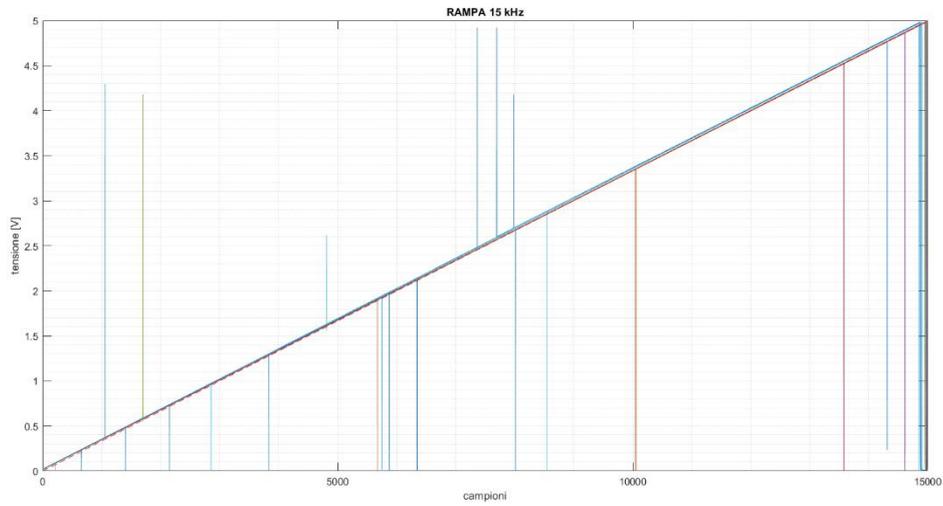


Figura 4.15 Ricostruzione 50 brani rampa campionata a 15 kHz.

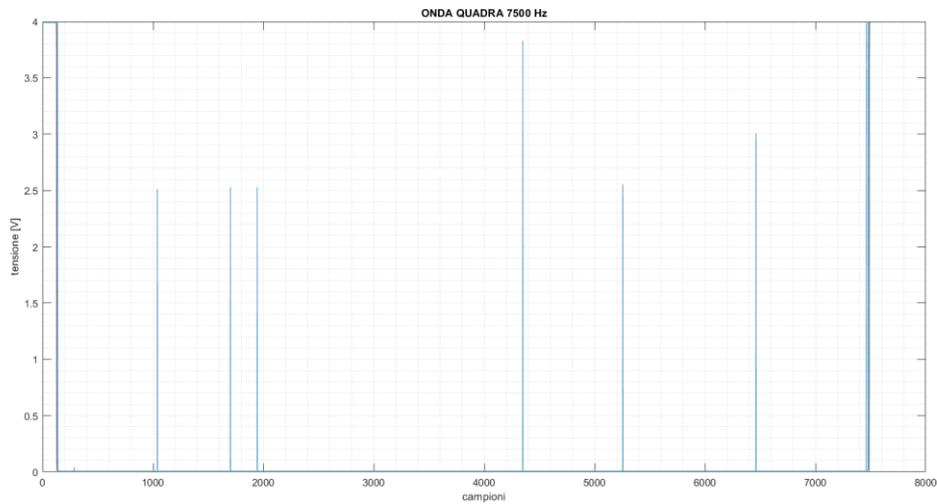


Figura 4.16 Ricostruzione onda quadra a 7500 Hz. L'onda quadra è visibile sul lato sinistro. Poiché la sua acquisizione inizia in ritardo, è possibile notare il fronte di salita dell'onda quadra successiva sul lato destro, al termine della finestra di acquisizione di 1s.

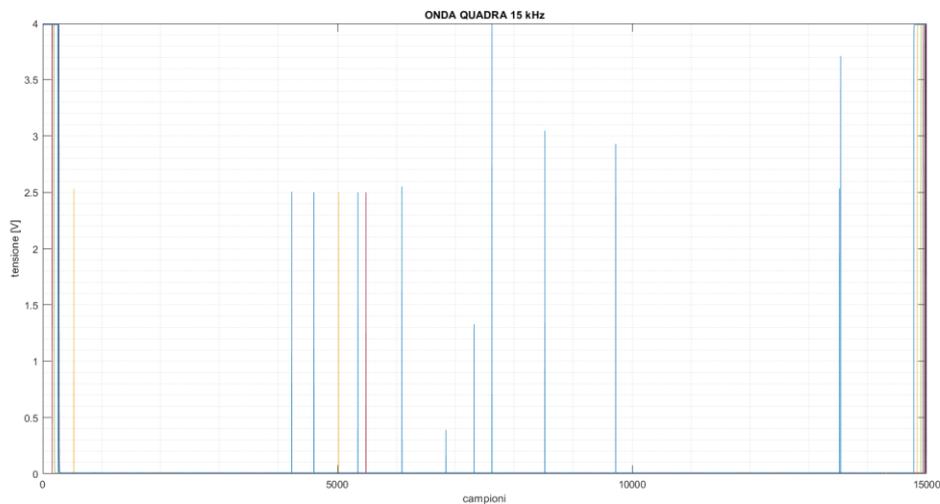


Figura 4.17 Ricostruzione onda quadra a 15 kHz. L'onda quadra è visibile sul lato sinistro. Poiché la sua acquisizione inizia in ritardo, è possibile notare il fronte di salita dell'onda quadra successiva sul lato destro, al termine della finestra di acquisizione di 1s.

In figura 4.16 e 4.17 è presentato il segnale a onda quadra ricostruito da Raspberry. Anche in questo caso, sono presenti sporadici picchi di tensione improvvisi.

Per stimare il ritardo dell'inizio dell'acquisizione del segnale Doppler rispetto all'invio del segnale trigger sono stati adottati due metodi:

- Per il segnale simulato mediante una rampa, si considera il valore numerico corrispondente al primo campione letto e, nota la pendenza α del segnale, si ricava il tempo t , trascorso dall'inizio teorico della rampa secondo la formula $t = x / \alpha$.
- Per il segnale simulato mediante onda quadra, nota la durata in campioni della fase ON, si conta il numero di campioni acquisiti e si confrontano con quello teorico. La differenza in campioni, poi convertita in tempo, corrisponde al ritardo cercato.

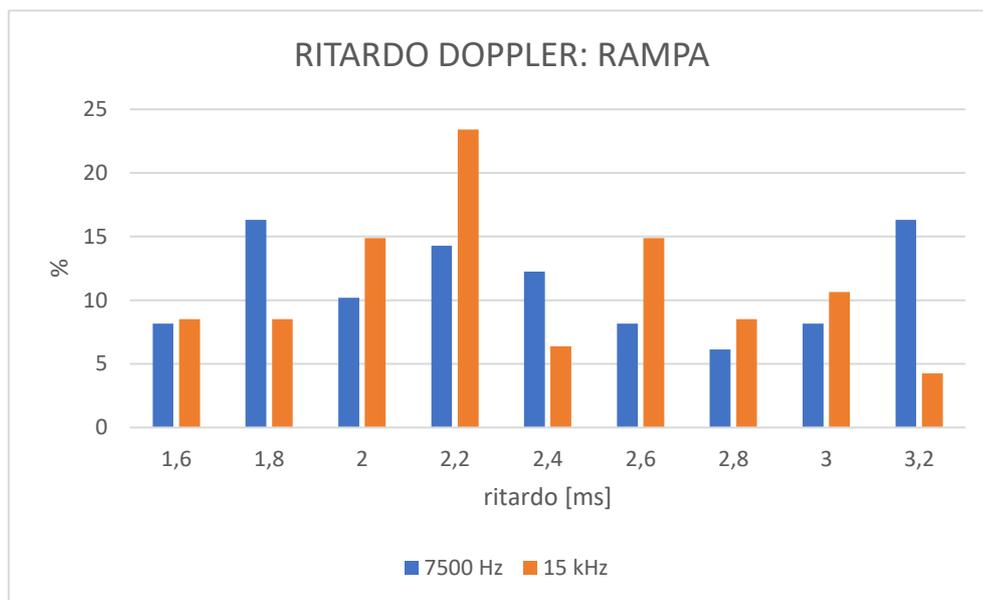


Figura 4.18 Ritardo nell'inizio acquisizione del canale Doppler rispetto al trigger. Segnale Doppler simulato con una rampa.

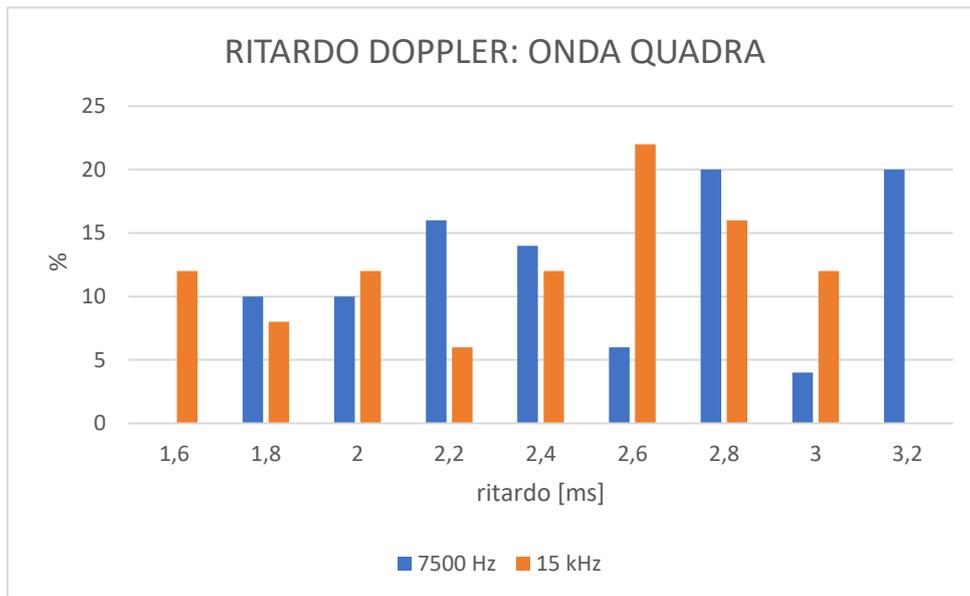


Figura 4.19 Ritardo nell'inizio acquisizione del canale Doppler rispetto al trigger. Segnale Doppler simulato con un'onda quadra.

I ritardi riscontrati nell'inizio dell'acquisizione del canale sono simili sia nel caso in cui il Doppler sia simulato con una rampa, sia nel caso in cui venga simulata un'onda quadra. In particolare, si evidenzia una distribuzione piuttosto uniforme delle misure su un range di valori entro i 3 ms circa. Tale ritardo può essere considerato sufficientemente accettabile.

4.2 Prova sperimentale

4.2.1 Prova preliminare

È stato effettuato un primo test di verifica del corretto funzionamento delle routine implementate sul dispositivo per la misura della vPWV su un soggetto sano. In questa prova il segnale ECG viene prelevato per semplicità dal GRASS e non viene ancora introdotto il ritardo sull'invio del trigger.

L'utilizzo del sistema di acquisizione CED unitamente al software Spike2 serve da supporto alla validazione dei risultati ottenuti da Raspberry.

Spike2 si occupa di acquisire il segnale di inizio compressione inviato dal dispositivo (individuando così l'evento di inizio compressione denominato Vgonf) e pilotare l'attivazione delle elettrovalvole (poiché il pilotaggio diretto con Raspberry non è ancora utilizzato nella presente prova). Inoltre, legge continuamente il segnale Doppler proveniente dall'ecografo e il segnale pressorio proveniente dal sensore di pressione del manicotto pneumatico utili alla successiva validazione dei risultati ottenuti dal dispositivo.

Offline, a partire dagli istanti Vgonf si estraggono manualmente i brani da 1 secondo di segnale Doppler provenienti da Spike2. Si applica poi la funzione di processing del segnale per l'identificazione del footprint sia ai brani ricavati da Spike2 sia a quelli salvati dal nostro dispositivo. Ai fini del corretto confronto si è reso necessario riallineare ciascuna coppia di brani mediante metodo della cross-correlazione per annullare il ritardo, introdotto dal software Spike2, nel riconoscimento del segnale trigger fornito dai GPIO. A causa di tale ritardo, l'evento Vgonf, a partire dal quale si sono estratti i brani di Spike2, è individuato con una latenza variabile, intorno ai 6 ms, rispetto all'inizio dell'acquisizione da parte di Raspberry che risulta quindi in anticipo sul reale inizio della compressione.

Sono state effettuate in totale 6 compressioni. L'acquisizione di 2 brani è stata scartata poiché il segnale velocimetrico non era visibile a causa dello spostamento della sonda ecografica dovuta al movimento del soggetto.

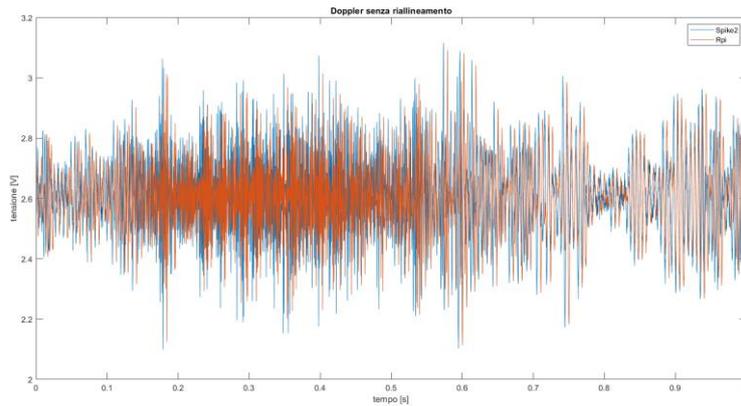


Figura 4.20 Brani Doppler senza riallineamento.

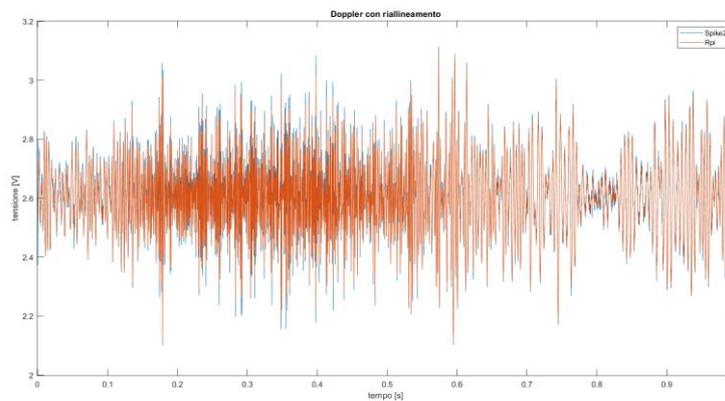


Figura 4.21 Brani Doppler dopo il riallineamento.

In figura 4.22 è rappresentato il confronto sull'andamento temporale delle latenze ricavate a partire dall'istante di inizio compressione segnalato dal software Spike2. Come si può notare, l'andamento delle misure di latenza ricavate dal dispositivo in esame è in linea con quello di riferimento e presentano una buona ripetibilità (coefficiente di variazione $CoV = dev.std/mean = 3.1 \%$).

Lo scarto % tra ciascuna coppia di misure (Raspberry vs Spike2) è in genere molto piccolo, $0.8 \pm 0.5 \%$, come mostrato in figura 4.23. La ragione delle differenze tra i risultati è imputabile al brano Doppler salvato da Raspberry che appare in qualche modo sottostimato rispetto al segnale reale acquisito da Spike2. Ciò può essere dovuto alla frequenza di campionamento non costante del convertitore o piccoli errori di offset o guadagno del convertitore A/D. Inoltre, laddove la frequenza di campionamento è inferiore a quella adottata da Spike2, i

picchi delle variazioni rapide possono non essere colti dal dispositivo e di conseguenza il segnale che deriva dall'acquisizione appare attenuato.

La differenza tra ciascuna coppia di brani sottoposta a confronto si riflette su una differente morfologia dell'involuppo del segnale che viene poi utilizzato per l'individuazione del footprint.

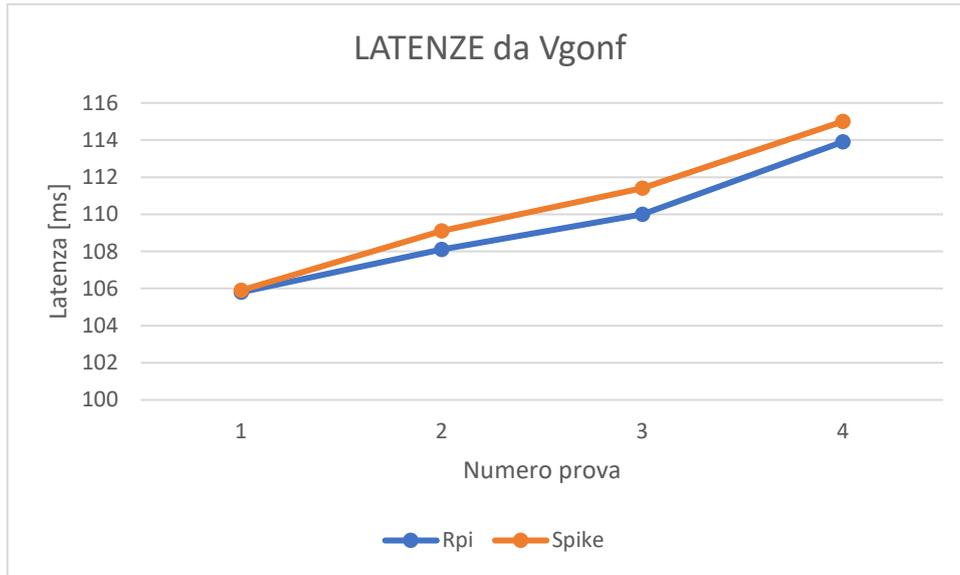


Figura 4.22 Andamento temporale delle latenze misurate a partire da Vgonf.

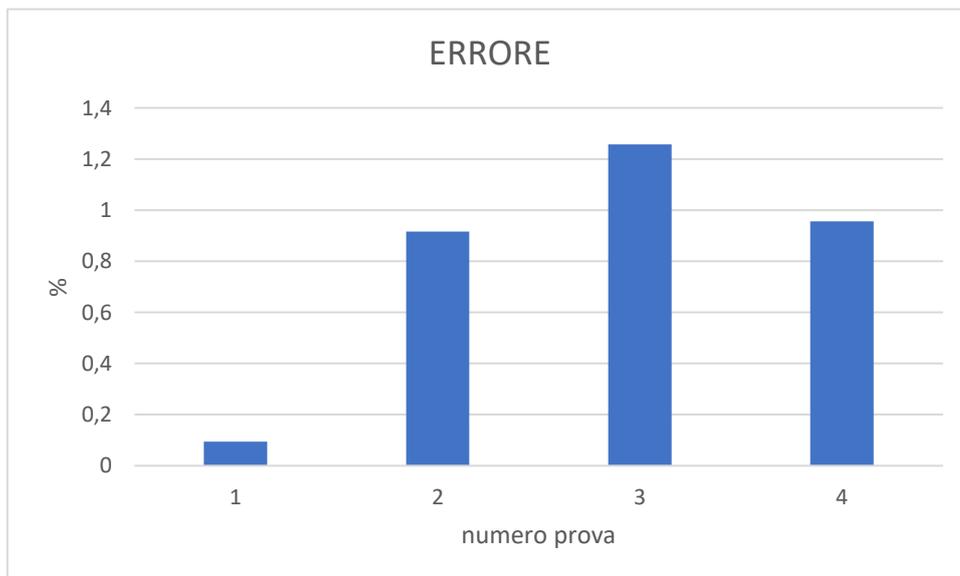


Figura 4.23 Errore tra i risultati Spike2 vs Raspberry.

Con il valore di latenza precedentemente misurato, infine, si calcola la vPWV (Rpi: 2.74 ± 0.08 m/s, Spike2: 2.72 ± 0.09 m/s) assumendo una distanza sonda-manicotto pari a 30 cm.

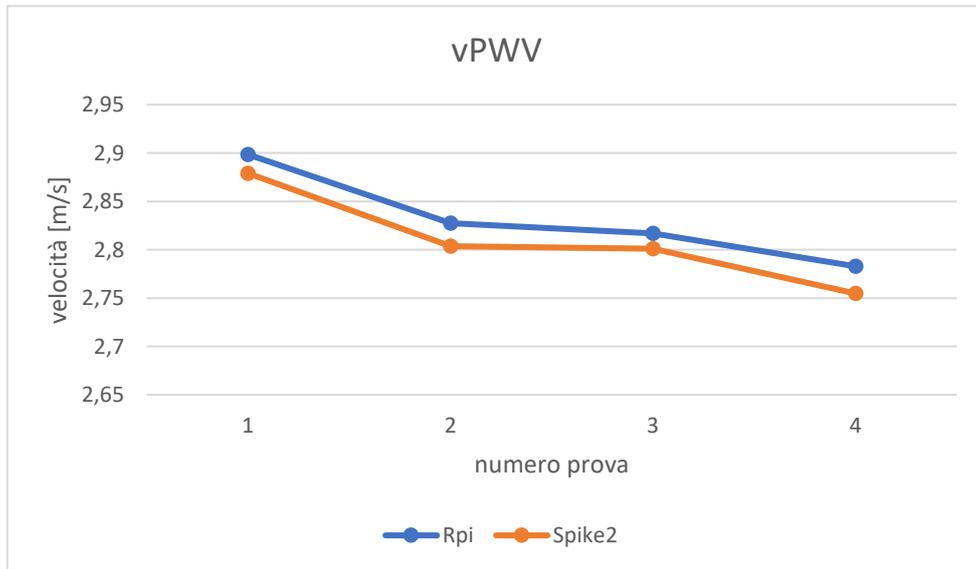


Figura 4.24 Andamento vPWV durante le prove.

4.2.2 Acquisizione in condizioni basali

È stata eseguita una prova sperimentale su un soggetto sano al fine di misurare la vPWV in condizioni basali (soggetto disteso e a riposo). L'intera procedura di acquisizione e pilotaggio valvole è svolta in autonomia dal dispositivo sviluppato. Rispetto alle prove preliminari è stato aggiunto il circuito elettrico con transistor per il controllo delle elettrovalvole e l'ECG è stato prelevato per mezzo del front-end analogico AD8232 già descritto nel paragrafo 3.2.2. Ai fini della misura della latenza effettiva della PW si è scelto di non integrare per il momento l'informazione derivante dal segnale pressorio che quindi non viene acquisito in parallelo dal software Spike2. Il tempo di transito dell'onda pressoria viene stimato tenendo unicamente conto dell'istante di individuazione del footprint rispetto a quello di attivazione della valvola di gonfiaggio.

Sono stati analizzati i valori di velocità relativi a 26 compressioni a livello del polso. In precedenza, sono stati esclusi i brani che presentavano anomalie, quali spike rumorosi o assenza del segnale velocimetrico dovuto probabilmente al movimento della sonda ecografica.

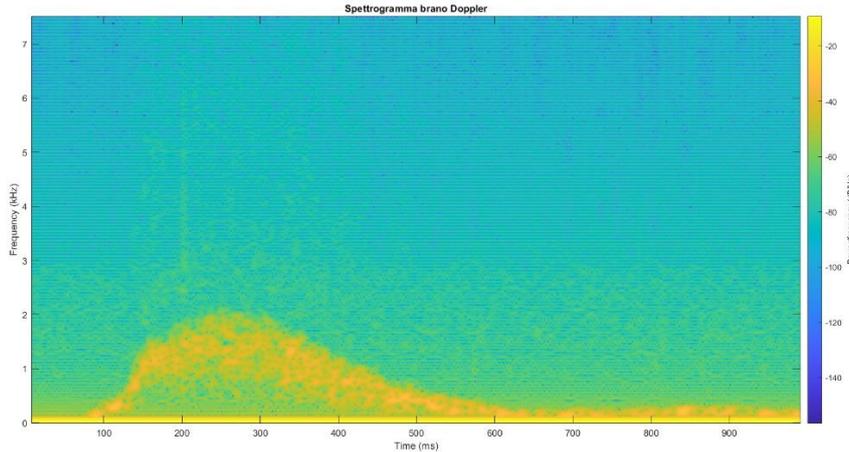


Figura 4.25 Spettrogramma di un brano di segnale Doppler con passaggio della PW.

La misura di vPWV in condizioni basali mostra una piccola variabilità nel soggetto stesso così come espresso dal coefficiente di variazione, $CoV = 2.28 \%$.

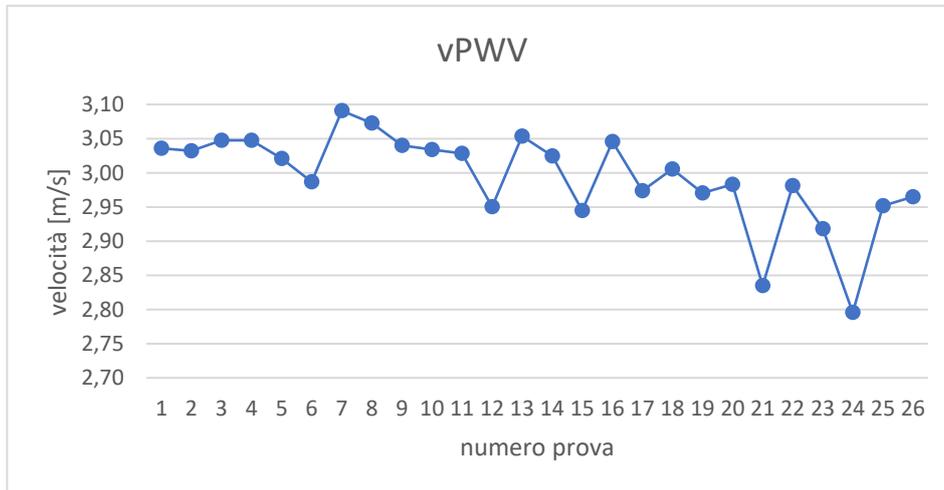


Figura 4.26 Andamento della velocità vPWV nel corso delle prove.

La velocità è ricavata tenendo conto di una distanza sonda-manicotto di 32 cm e risulta essere pari a $2.99 \pm 0.07 \text{ m/s}$. Tale valore è in realtà puramente indicativo

e non è da considerarsi esattamente conforme a quello reale. Infatti, occorre tenere in considerazione che alle latenze, estratte col metodo del footprint, va aggiunto il ritardo esistente tra il trigger di compressione e l'istante di inizio dell'acquisizione del brano Doppler da parte di Raspberry (caratterizzato nel paragrafo 4.1.4). Inoltre, andrebbe introdotto un ritardo variabile nell'invio dell'impulso di pressione (secondo le modalità descritte nel paragrafo 3.5.3, capitolo 3) in modo che questo cada in zone di assenza di flusso nel segnale eco-Doppler. Nella prova eseguita, il ritardo del trigger non è ancora implementato e ciò può aver influito sulla corretta individuazione del punto di insorgenza della PW con conseguenti misure falsate dalla sovrapposizione dell'onda pulsatoria sul flusso basale. In ultimo, va integrata l'informazione del sensore di pressione del manicotto, indice di effettivo inizio dello stimolo compressivo.

4.2.3 Acquisizione con variazione di pressione

In questa prova sperimentale si è voluto misurare col dispositivo sviluppato l'andamento della vPWV in risposta a variazioni di pressione venosa rispetto alla condizione basale tramite la tecnica dell'occlusione venosa.

I cambiamenti pressori sono stati ottenuti mediante l'utilizzo di un manicotto, in aggiunta a quello già utilizzato per fornire la compressione artificiale, posizionato prossimalmente, vicino all'ascella. La cuff viene gonfiata manualmente da un operatore sino al valore di pressione desiderato. Un feedback visivo viene fornito da un monitor sul quale è possibile visualizzare l'andamento del segnale di pressione proveniente dal manicotto in questione e acquisito da Spike2.

La pressione viene fatta variare da 0 mmHg a 60 mmHg a passi di 30 mmHg. Si effettua una serie di misure in salita (0 mmHg – 30 mmHg – 60 mmHg) e una serie in discesa (60 mmHg – 30 mmHg – 0 mmHg) con ritorno alla condizione basale (0 mmHg), per un totale, quindi, di 6 livelli di pressione. Per ognuno si effettuano 4 compressioni/acquisizioni.

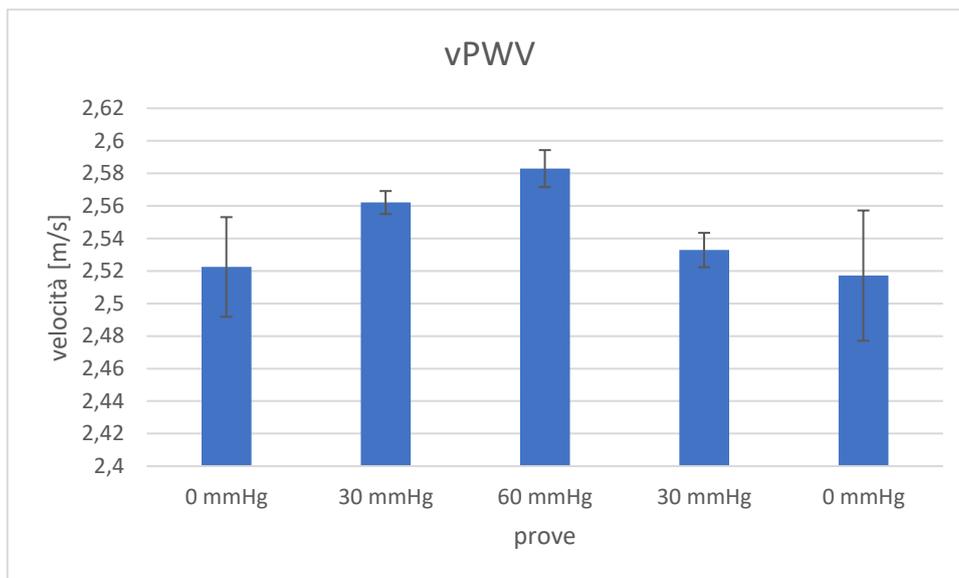


Figura 4.27 vPWV al variare della pressione venosa: diagramma a barre dei valori medi con barre d'errore (deviazione standard).

Dai risultati della prova, si può osservare che all'aumentare della pressione la velocità è leggermente più alta (incremento $2.4 \pm 0.8 \%$ tra 0 mmHg e 60 mmHg). Infatti, l'aumento della pressione venosa causa una maggiore tensione radiale sulle pareti del vaso che, in aggiunta allo stimolo pressorio generato artificialmente, consente il raggiungimento più rapido della condizione di massima rigidità e conseguentemente fa sì che la velocità di propagazione della PW sia più alta.

Di contro, nella fase di discesa, le velocità diminuiscono poiché la pressione si abbassa. Tuttavia, si può notare che, per uno stesso livello, le misure non ritornano le stesse. A 30 mmHg, la vPWV ricavata nel ciclo di discesa è più bassa rispetto a quella misurata in salita. Stessa cosa vale se si confrontano le velocità nella condizione basale a 0 mmHg. Tale comportamento può essere la conseguenza del fenomeno di *stress-relaxation*: la dilatazione del calibro del vaso, ottenuta con l'aumento della pressione del sangue, causa uno stress alle pareti vascolari che quindi tendono a 'sfiarsi' temporaneamente riducendo il loro 'tono'.

5. Conclusioni

In conclusione, questo progetto di tesi è stato finalizzato alla progettazione e allo sviluppo di un dispositivo portatile, compatto e a basso costo per la misurazione della vPWV a partire da un set up sperimentale da laboratorio preesistente.

Il lavoro ha previsto pertanto una ricerca dell'hardware necessario per l'acquisizione dei segnali fisiologici d'interesse e controllo del circuito pneumatico. Tale ricerca è stata mirata alla sostituzione della strumentazione da banco, costosa e ingombrante, di cui era costituito il prototipo.

L'utilizzo di un Raspberry, equipaggiato con un convertitore A/D, come unità di controllo e acquisizione ha consentito di ottenere prestazioni relativamente buone a fronte della spesa sostenuta per il loro acquisto (inferiore a 100 €). Tale costo è ampiamente più basso rispetto a quello del sistema di acquisizione CED che necessita inoltre del software su licenza Spike2 per il funzionamento.

Il front-end analogico per ECG, AD8232 (20 €), ha consentito di svincolarsi dal dispositivo GRASS e di ottenere un segnale adeguatamente amplificato e a basso livello di rumore.

Rispetto alla versione precedente, sono stati mantenuti la fascia elastica per la misurazione del respiro e il circuito di condizionamento per il segnale audio in uscita dall'ecografo.

L'integrazione di un piccolo circuito (costituito da semplici resistenze e transistor) per il controllo, da parte di Raspberry, delle elettrovalvole deputate al gonfiaggio/sgonfiaggio del manicotto ha concluso la realizzazione del dispositivo.

Il tutto è stato assemblato all'interno di un involucro di ridotte dimensioni appositamente realizzato mediante stampa 3d e dotato di ingressi per connettori BNC pronti all'uso. Tale configurazione soddisfa a tutti gli effetti i requisiti di portabilità e piccolo ingombro prefissati.

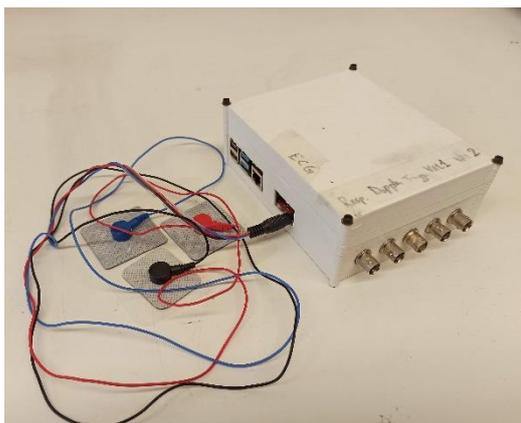


Figura 5.1 Esterno del dispositivo con elettrodi per ECG.

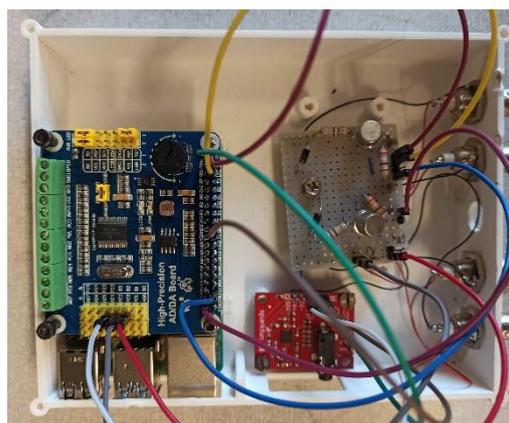


Figura 5.2 Interno del dispositivo.

Parallelamente, è stata sviluppata la parte software relativa all'implementazione degli algoritmi utili al processing dei segnali e all'invio dello stimolo compressivo.

La caratterizzazione effettuata sul modulo di acquisizione ha evidenziato le criticità dettate dalla scelta della modalità di lettura del convertitore A/D. In particolare, le frequenze di campionamento non sono costanti ma leggermente variabili o imprecise a causa sia di uno script per la sua gestione non ottimizzato sia dell'intervento del sistema operativo di Raspberry. Quest'ultimo, non lavorando in real-time, associa priorità d'esecuzione a vari processi in background che potrebbero così interferire con l'acquisizione e rallentarla. In futuro, si può pensare di installare un kernel real-time per provare a limitare la variabilità della frequenza di campionamento.

Inoltre, si è osservato che l'unica modalità la cui frequenza d'acquisizione reale si discosta di meno rispetto alla teorica è quella denominata RDATAAC. Questa modalità prevede la lettura di un singolo canale alla volta ed evita l'introduzione dei ritardi derivanti dall'utilizzo del multiplexer e dall'esecuzione di comandi ridondanti nella comunicazione SPI.

Attualmente l'acquisizione avviene campione per campione poiché il convertitore non è dotato di un buffer di memoria. Tale meccanismo potrebbe però essere implementato via software mediante DMA (Direct Memory Access)

consentendo così la lettura di un blocco di campioni alla volta e migliorando le prestazioni ad alta frequenza (ad esempio nell'acquisizione del segnale Doppler).

La valutazione dei ritardi introdotti durante gli step cruciali di esecuzione dell'algoritmo sviluppato ha mostrato che vi è una latenza sia tra il riconoscimento dell'onda R e l'invio del trigger per la compressione sia tra quest'ultimo e l'inizio dell'acquisizione del canale Doppler. In entrambi i casi, la stima del ritardo è relativamente bassa (latenza onda R – trigger: 1.02 ± 0.49 ms; latenza inizio acquisizione: 2.24 ± 0.52 ms) e pertanto sufficientemente accettabile, tuttavia potrebbe essere ridotta ulteriormente con l'installazione di un RTOS (Real Time Operating System), come descritto in precedenza.

La validazione delle misure ottenute dal dispositivo sviluppato ha evidenziato la congruenza con i valori di riferimento ricavati dal software Spike2 (errore percentuale 0.8 ± 0.5 %). Lo scostamento dipende dalla qualità del segnale Doppler acquisito da Raspberry ed essa a sua volta può dipendere dagli errori di gain o offset del convertitore e dalla variabilità della frequenza di lettura.

Le prove sperimentali su un soggetto sano hanno fornito un esempio applicativo del funzionamento del dispositivo. È stata valutata la variabilità delle misure di vPWV in condizioni di riposo mediante il coefficiente di variazione (<10%) e la sensibilità della velocità in risposta a variazioni della pressione venosa basale. In quest'ultima prova è stato evidenziato un, seppur piccolo, incremento della vPWV del 1.57 ± 0.63 % da 0 mmHg a 30 mmHg e 0.81 ± 0.98 % da 30 mmHg a 60 mmHg in linea con quanto previsto. Effettuando un test statistico t-Student a 2 code per dati non appaiati, emerge una differenza significativa tra le misure di vPWV (assumendo livello di significatività 0.05):

- Confronto 0 mmHg e 30 mmHg: $p = 0.048$
- Confronto 30 mmHg e 60 mmHg: $p = 0.021$
- Confronto 0 mmHg e 60 mmHg: $p = 0.011$

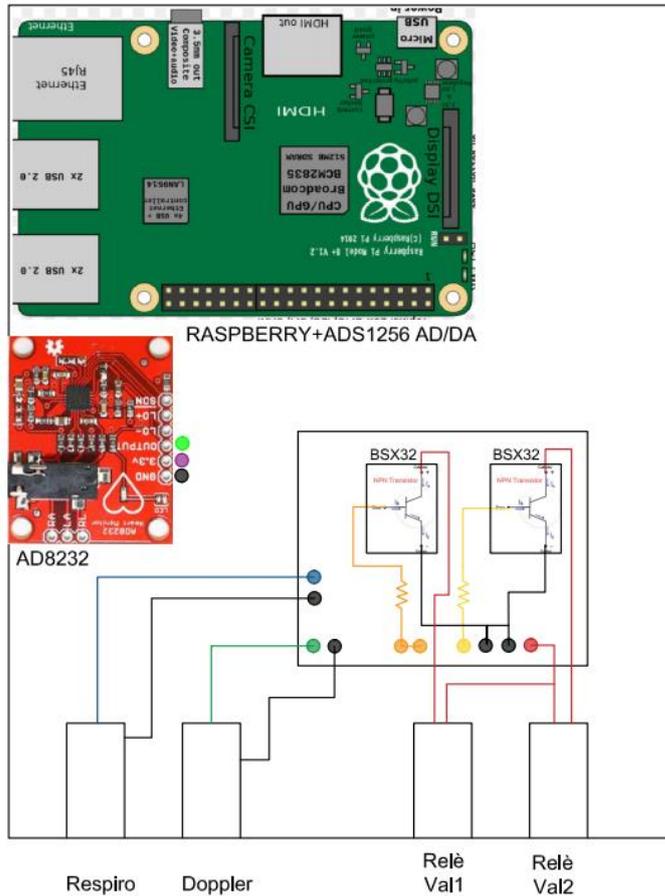
Occorre, però, citare i fattori limitanti delle prove che in futuro andranno presi in considerazione:

- mancanza dell'informazione derivante dal segnale pressorio. È importante per stabilire il momento di inizio effettivo della compressione e tale valore va sottratto alla latenza già calcolata dal dispositivo. Il segnale di pressione necessita di essere acquisito ad alta frequenza e contemporaneamente al segnale eco-Doppler. In futuro, servirà trovare il modo di integrare questo importante parametro.
- implementazione del ritardo nell'invio dell'impulso di compressione. Ad oggi, si può pensare di utilizzare il potenziometro integrato sul convertitore per variare il ritardo. Tuttavia, sarebbe necessario un feedback visivo che consenta all'operatore che svolge la misura di conoscere l'esatto valore imposto e di variarlo rapidamente in corso d'opera.
- ottimizzazione dell'algoritmo di riconoscimento di fine espirazione che deve adattarsi anche a frequenze respiratorie più elevate. Nel corso della prova sperimentale è stato osservato che, quando il soggetto respirava più velocemente, l'istante di fine espirazione veniva riconosciuto in ritardo e conseguentemente l'impulso veniva fornito in maniera non sincronizzata con l'attività respiratoria, sfalsando così delle misure di velocità che dovevano quindi essere scartate.
- misura offline della vPWV. Successivamente all'integrazione del sensore di pressione dovrebbe essere eseguita real-time.

È stata quindi dimostrata la buona potenzialità di questo dispositivo nella misura della velocità di propagazione di un'onda pulsatoria nelle vene stimolata artificialmente.

Il progetto prevede infine una seconda grande area di lavoro mirata alla miniaturizzazione della componentistica pneumatica (compressore, elettrovalvole) che potrà essere intrapresa in futuro. Questi sviluppi permetteranno di realizzare un prototipo sufficientemente autonomo e portatile tale da consentire misure in ambiente ospedaliero.

A. Schema dispositivo



Bibliografia

- [1] C. L. Stanfield, *Fisiologia*, quarta edizione, EdiSES, 2012.
- [2] D. Sadava, D. H. Hillis, H. C. Heller e S. Hacker, *La nuova biologia.blu*, Zanichelli, 2020.
- [3] P. Zamboni, V. Tavoni, F. Sisini, M. Pedriali, E. Rimondi, M. Tessari e E. Menegatti, «Venous compliance and clinical implications,» *Veins and Lymphatics*, vol. 7, n. 2, pp. 49-55, 2018.
- [4] A. C. Guyton e J. E. Hall, *Fisiologia medica*, Elsevier s.r.l., 2010.
- [5] S. Magder, «Central venous pressure: A useful but not so simple measurement,» *Crit Care Med.*, vol. 34, n. 8, pp. 2224-7, 2006.
- [6] D. De Backer e J.-L. Vincent, «Should we measure the central venous pressure to guide fluid management? Ten answers to 10 questions,» *Critical Care*, vol. 22, n. 1, p. 43, 2018.
- [7] M. Gilbert, «Central venous pressure and pulmonary artery pressure monitoring,» *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, vol. 19, n. 4, pp. 189-93, 2018.
- [8] C. Rothe, «Mean circulatory filling pressure: its meaning and measurement,» *Journal of Applied Physiology*, vol. 74, n. 2, pp. 499-509, 1993.
- [9] R. Spiegel, «Stressed vs. unstressed volume and its relevance to critical care practitioners,» *Clin Exp Emerg Med.*, vol. 3, n. 1, pp. 52-4, 2016.
- [10] D. Funk, E. Jacobson e A. Kumar, «The role of venous return in critical illness and shock-part I: physiology,» *Crit Care Med.*, vol. 41, pp. 255-62, 2013.

- [11] J. Maas, «Mean systemic filling pressure: its measurement and meaning,» *Netherlands Journal of Critical Care*, vol. 19, n. 1, pp. 6-11, 2015.
- [12] S. Laurent, J. Cockcroft, L. Van Bortel, P. Boutouyrie, C. Giannattasio, D. Hayoz, B. Pannier, C. Vlachopoulos, I. Wilkinson e H. Struijker-Boudier, «Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications,» *European Heart Journal*, vol. 27, n. 21, p. 2588–2605, 2006.
- [13] A. Tajaddini, D. Kilpatrick e P. Schoenhausen, «Impact of age and hyperglycemia on the mechanical behavior of intact human coronary arteries: an ex vivo intravascular ultrasound study,» *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 288, pp. H250-55, 2005.
- [14] B. Williams, G. Mancia, W. Spiering e et al., «2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension,» *European Heart Journal*, vol. 39, n. 33, pp. 3021-3104, 2018.
- [15] P. Lanzer, *Fisiopatologia e diagnostica cardiovascolare*, Milano: Springer Healthcare, 2010.
- [16] R. Schillaci e G. Pucci, «La rigidità arteriosa: quali applicazioni pratiche?,» *Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi*, pp. 31-44, 2010.
- [17] L. Ermini, C. Ferraresi, C. De Benedictis e S. Roatta, «Objective assessment of venous pulse wave velocity in healthy humans,» *Ultrasound in Medicine & Biology*, vol. 46, n. 3, pp. 849-54, 2020.
- [18] G. Losano, R. Rastaldo e A. Chiribiri, *Fisiologia cardiovascolare: un approccio integrato*, River Publishers, 2013.
- [19] G. Carpinteri, A. Granata, M. Insalaco, F. Floccari e A. Anile, «Elementi di ecografia in emergenza-urgenza,» *Giornale di Tecniche Nefrologiche e Dialitiche*, vol. 23, n. 4, pp. 22-27, 2011.

- [20] X. Monnet, P. E. Marik e J. L. Teboul, «Prediction of fluid responsiveness: an update,» *Annals of Intensive Care*, vol. 6, n. 1, pp. 1-11, 2016.
- [21] R. Agarwal, J. Bouldin, R. Light e A. Garg, «Inferiori vena cava diameter and left atrial diameter measure volume but not dry weight,» *Clin J Am Soc Nephrol*, vol. 6, n. 5, pp. 1066-72, 2011.
- [22] K. Bendjelid e J. Romand, «Fluid Reponsiveness in mechanically ventilated patients: a review of indices used in intesive care,» *Intensive Care Med*, vol. 29, n. 3, pp. 352-60, 2003.
- [23] L. Ermini, N. E. Chiarello, C. De Benedictis, C. Ferraresi e S. Roatta, «Venous Pulse Wave velocity in response to a simulated fluid challenge in healthy subjects,» *Biomedical Signal Processing and Control*, vol. 63, pp. 1-7, 2021.
- [24] S. de Valk, T. J. Olgers, M. Holman, F. Ismael, J. J. M. Ligtenberg e J. Cornelis ter Maaten, «The caval index: an adequate non-invasive ultrasound parameter to predict fluid responsiveness in the emergency department?,» *BMC Anesthesiol.*, vol. 14, 2014.
- [25] B. Kircher, R. Himelman e N. Schiller, «Noninvasive estimation of right atrial pressure from the inspiratory collapse of the inferior vena cava,» *American Journal of Cardiology*, vol. 66, n. 4, pp. 493-6, 1990.
- [26] X. Monnet e J.-L. Teboul, «Assessment of fluid responsiveness: recent advances,» *Current Opinion in Critical Care*, vol. 24, n. 3, pp. 190-95, 2018.
- [27] D. S. Martin, S. M. C. Lee, S. P. Stein, M. B. Stenger, A. H. Feiveson, T. P. Matz, T. L. Caine, J. Scott, C. M. Westby e S. H. Platts, «Pilot study to evaluate a novel non-invasive technology to measure peripheral venous pressure,» 2015.

- [28] Università degli Studi di Torino, *Allegato C, PoC Instrument, domanda di partecipazione*, Torino, 2020.
- [29] P. Boutouyrie, M. Briet, C. Collin, S. Vermeersch e B. Pannier, «Assessment of pulse wave velocity,» *Artery Research*, vol. 3, n. 1, pp. 3-8, 2009.
- [30] S. C. Millasseau, A. D. Stewart, S. J. Patel, S. R. Redwood e P. J. Chowienczyk, «Evaluation of farotid - femoral pulse wave velocity: Influence of timing algorithm and heart rate,» *Hypertension*, vol. 45, n. 2, pp. 222-6, 2005.
- [31] Texas Instrument, «Very Low Noise 24-Bit Analog-to-Digital Converter,» Settembre 2013. [Online]. Available: https://www.ti.com/lit/ds/sbas288k/sbas288k.pdf?ts=1614853428956&ref_url=https%253A%252F%252Fwww.google.com%252F.
- [32] S. Saraceni e G. Strumia, *Osservare e capire la vita*, Bologna: Zanichelli, 2012.
- [33] «Wikipedia l'enciclopedia libera,» [Online]. Available: [https://it.wikipedia.org/wiki/Atrio_\(anatomia\)](https://it.wikipedia.org/wiki/Atrio_(anatomia)).
- [34] [Online]. Available: <http://superagatoide.altervista.org/cuore.html>.
- [35] «Cardiovascular physiology concepts,» [Online]. Available: <https://www.cvphysiology.com/Cardiac%20Function/CF027>.
- [36] «Sparkfun,» [Online]. Available: <https://www.sparkfun.com/products/12650>.
- [37] «Wikipedia l'enciclopedia libera,» [Online]. Available: <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fit.wikipedia.org%2Fwiki%2FElettrocardiogramma&psig=AOvVaw3BkoooISu06lPBgd673RL&ust=1614788725345000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCID6qfaCku8CFQAAAAAdAAAAABAD>.

- [38] «Robot store,» [Online]. Available:
<https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.robotstore.it%2FRaspberry-Pi-4-Model-B-8GB&psig=AOvVaw0GbavKjnRP0j26xp9dsp6A&ust=1614788815050000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCJifmqCDku8CFQAAAAAdAAAAABAL>.
- [39] «Wikipedia l'enciclopedia libera,» [Online]. Available:
https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fit.wikipedia.org%2Fwiki%2FSerial_Peripheral_Interface&psig=AOvVaw2arhES_qtOrh58TUoVCOF0&ust=1614786106597000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCPjr05_5ke8CFQAAAAAdAAAAABAD.
- [41] «Banggood,» [Online]. Available:
https://www.banggood.com/it/High-Precision-ADS1256-DAC8552-AD-or-DA-Expansion-Board-for-Raspberry-Pi-p-1676153.html?utm_source=googleshopping&utm_medium=cpc_organico&gmcCountry=IT&utm_content=minha&utm_campaign=minha-it-it-pc¤cy=EUR&cur_warehouse=CN&.