POLITECNICO DI TORINO

Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Aerospaziale

Collegio di Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

Implementazione e validazione di un approccio innovativo per stimare la pulse wave velocity con un dispositivo Laser Doppler Vibrometer (LDV)

Relatore

Prof. Filippo Molinari

Correlatori

Prof. Silvia Seoni

Prof. Massimo Salvi

Candidato

Marco Romanelli

A.A 2022/2023

Abstract

Secondo i dati riportati dall'Organizzazione Mondiale Della Sanità, le patologie cardiovascolari rappresentano una delle principali cause di mortalità a livello mondiale. Nel 2019, si sono registrati circa 17.9 milioni di decessi correlati a queste malattie, corrispondenti al 32% dei totali registrati in quell'anno.

Una importante proprietà che caratterizza le arterie maggiori è l'elasticità, con il passare degli anni, tuttavia, esse subiscono un progressivo irrigidimento e inspessimento e per questo, la rigidità arteriosa, è considerato dalla comunità scientifica come un indicatore in grado di valutare lo stato di salute di un vaso. Uno dei parametri utilizzati per valutare tale rigidità è la pulse wave velocity (PWV) la quale indica la velocità con cui l'onda sfigmica, generata dalla contrazione del ventricolo sinistro, si propaga lungo un tratto dell'albero arterioso; la stima di tale parametro nel tratto carotideo-femorale, è ampiamente considerata dagli esperti come il gold standard per valutarne la rigidità.

La PWV venne introdotta per la prima volta da Young nel 1808 e sperimentalmente è definita come il rapporto tra la distanza che separa i due siti di misura e l'intervallo temporale che impegna l'onda a passare tra i due punti, la sua rilevazione può essere effettuata con diverse tecniche non invasive, tra le quali vi la vibrometria laser doppler (LDV).

Lo scopo di questo lavoro di tesi è stato quello di sviluppare un algoritmo per la stima della PWV a partire da segnali di spostamento (displecement), della durata di 20 secondi, relativi alla parete di un vaso dovuti al passaggio dell'onda di pressione rispettivamente nell'arteria carotide e nell'arteria femorale; l'acquisizione di questi segnali è stata effettuata con un innovativo dispositivo Laser Doppler Vibrometer (LDV), Cardis®, all'interno di un'indagine condotta a Parigi per un progetto Europeo su una corte di 100 soggetti con età compresa tra i 19 e gli 85 anni . In questo lavoro di tesi sono state sviluppate e validate, nell'ambiente di sviluppo Matlab®, 16 tecniche per la stima della PWV combinando due metodi per l'individuazione dei punti fiduciali all'interno dei segnali (il Template Matching e la funzione findpeaks), due approcci (coppie di canali e battito-battito) e tre modalità utilizzate per stimare i pulse transist time (PTT) (distanza tra punti, cross-correlazione e spectral matching). La tecnica *mediana delle PWV mediane,* sviluppata a partire dall'approccio battito-battito, sembrerebbe essere quella che consente di stimare la PWV sia con una modalità

eccellente (rilevando almeno 15 battiti individuati ciascuno da almeno 15 coppie di canali) sia in modo accettabile (rilevando almeno 10 battiti individuati ciascuno da almeno 15 coppie di canali) su un maggior numero di registrazioni rispetto alle altre tecniche. Dalla validazione della tecnica scelta, utilizzando come gold standard la referenza tonometrica, è emerso che alla modalità di stima eccellente è associata mean difference di 0.2542 m/s e una standard deviation difference di 0.7706 m/s sul 25% dei soggetti mentre alla modalità di stima accettabile è associata una mean difference di 0.4139 m/s e una standard deviation difference di 1.2791 m/s sul 52% dei soggetti. Dai risultati ottenuti sembrerebbe che l'innovativo approccio battito-battito, proposto per la prima volta in questo lavoro di tesi, nella sua implementazione con la tecnica *mediana delle PWV mediane,* garantisca una stima della PWV robusta ed affidabile in maniera non invasiva.

Indice

ABSTRACT **1**

INTRODUZIONE **5**

CAPITOLO PRIMO – IL SISTEMA CARDIOVASCOLARE **6**

1.1 I vasi sanguigni 6
1.1.1 Le arterie 6
1.1.1.1 Struttura anatomica delle arterie 6
1.1.1.2 Patologie delle arterie 7
1.1.1.4 Proprietà meccaniche delle arterie 8
1.1.2 Le vene 10
1.1.2.1 Struttura anatomica delle vene 10
1.1.2.2 Proprietà meccaniche delle vene 11
1.1.3 I capillari 12
1.2 Il cuore 12
1.2.1 La funzione meccanica del cuore 14
1.2.2 La funzione elettrica del cuore 15
1.3 La pressione sanguigna 17
1.3.1 L'ipertensione arteriosa 19

CAPITOLO SECONDO - L'ONDA SFIGMICA E LA PULSE WAVE VELOCITY **21**

2.1 L'onda sfigmica 21
2.2 La pulse wave velocity 23
2.2.1 La pulse wave velocity in relazione alle patologie cardiovascolari 24
2.2.2 Stima della pulse wave velocity 27
2.2.3 Siti e distretti di misura della pulse wave velocity 28
2.2.4 Tecniche di misura della pulse wave velocity 29
2.2.4.1 Tonometria 29
2.2.4.2 Tecnica oscillometrica 30
2.2.4.3 Fotopletismografia (PPG) 30
2.2.4.4 Ultrasonografia doppler 31
2.2.4.5 Risonanza magnetica (MR) 32
2.2.4.6 Fonocardiografia (PCG) 32
2.2.4.7 Vibrometria laser doppler (LDV) 33

CAPITOLO TERZO – MATERIALI E METODI **35**

3.1 Presentazione del dispositivo laser doppler vibrometer (LDV) Cardis® 35
3.2 Descrizione della popolazione esaminata e processamento dei dati acquisiti 36
3.3 Implementazione delle tecniche per la stima dei pulse transist time (PTT) e pulse wave velocity (PWV) 38
3.3.1 Metodi per l'individuazione dei punti fiduciali nei segnali di accelerazione 38
3.3.1.1 Algoritmo semi automatico del Template Matching 38

3.3.1.1.1 La creazione dei template 38
3.3.1.1.2 Implementazione dell'algoritmo Template Matching – Prima versione 40
3.3.1.1.3 Implementazione dell'algoritmo Template Matching – Seconda versione 42
3.3.1.2 Algoritmo semi manuale: funzione findpeaks di Matlab® 44
3.3.2 Modalità per la stima del pulse transist time (PTT) per ogni battito individuato da una coppia di canali 45
3.3.2.1 Stima del PTT come distanza tra punti 46
3.3.2.2 Stima del PTT con la funzione di cross-correlazione 47
3.3.2.3 Stima del PTT con lo spectral matching 48
3.3.3 Approcci per la stima della pulse wave velocity 49
3.3.3.1 Approccio basato sulle coppie di canali – versione non ponderata 50
3.3.3.2 Approccio innovativo "battito-battito" – versione non ponderata 52
3.3.3.3 Approccio basato sulle coppie di canali – versione ponderata 55
3.3.3.4 Approccio innovativo "battito-battito" – versione ponderata 58
3.3.4 Validazione delle strategie di stima della pulse wave velocity (PWV) con il Bland-Altman plot e tuning dei parametri al fine di garantire una stima eccellente o accettabile 60
3.3.4.1 Prima fase – Validazione delle strategie di stima della PWV 62
3.3.3.2 Seconda fase – Tuning dei parametri per la stima della PWV 64
3.4 Discussione dei risultati 67
CONCLUSIONE E SVILUPPI FUTURI 69
BIBLIOGRAFIA 70

Introduzione

Le malattie cardiovascolari, secondo gli ultimi dati riportati dall'Organizzazione Mondiale Della Sanità, sono la prima causa di morte a livello mondiale, si è stimato infatti che nel 2019 siano state la causa di morte per 17.9 milioni di persone, il 32% dei decessi globali; in maniera del tutto analoga, in Italia, il Ministero Della Salute ha certificato sulla base dei dati Istat risalenti all'anno 2018, che le patologie cardiovascolari sono state le responsabili del 34.8% di tutti i decessi confermando il fatto che esse siano la prima causa di morte nel nostro paese.

La rigidità arteriosa è un importante parametro che può essere valutato mediante tecniche di natura non invasiva ed è ampiamente considerato dalla comunità scientifica come un forte indicatore associabile a fattori di rischio cardiovascolari come il sesso, l'età e lo stile di vita [1].

Una delle più diffuse tecniche non invasive in grado di fornire una stima della rigidità arteriosa tra due punti di un tratto dell'albero vascolare è la tecnica della pulse wave velocity (PWV) che consente di stimare un ritardo temporale, definito pulse transist time (PTT), tra il passaggio dell'onda sfigmica, che origina dal ventricolo sinistro, nei due punti di osservazione, a partire da questo dato, conoscendo la distanza d tra i due distretti è possibile stimare la PWV come il rapporto tra la distanza stella e il PTT. Il principio su cui si basa questa tecnica risiede nel fatto che è possibile identificare il preciso istante di tempo in cui l'onda si trova in corrispondenza di un punto di un tratto vascolare con diverse modalità: si possono citare dei sistemi laser come nella vibrometria laser doppler (LDV), o ad ultrasuoni per rilevare la deformazione un vaso arterioso nella direzione normale al suo asse al passaggio dell'onda di pressione, dei trasduttori in grado di rilevare i suoni meccanici di apertura e chiusura delle valvole cardiache in concomitanza alla generazione dell'onda o tecniche di risonanza magnetica avanzata in grado di stimare il flusso ematico in un punto di un vaso il quale dipende all'andamento della pressione nello stesso.

Lo scopo della mia tesi, dopo aver prima presentato delle importanti nozioni sulla struttura anatomica, sulle proprietà meccaniche e sulle patologie dei vasi sanguigni ed aver fatto una panoramica sulla pressione arteriosa e sul parametro pulse wave velocity, è stato quello di implementare e validare delle tecniche in grado di stimare la PWV a partire da acquisizioni LDV effettuate su 100 soggetti con lo scopo di identificare, tra quelle proposte, la strategia in grado di fornire la stima più robusta e accurata.

Capitolo primo – Il sistema cardiovascolare

Il sistema cardiovascolare, noto anche come sistema circolatorio o cardiocircolatorio, è quell'apparato che si occupa del trasporto dei fluidi biologici, quali il sangue e la linfa, attraverso il corpo con l'obiettivo di fornire alle cellule presenti gli elementi necessari per il loro sostentamento [2]. Di questo sistema fanno parte il cuore, i vasi sanguigni e linfatici; per quanto riguarda la circolazione sanguigna è possibile individuare una *piccola circolazione* nella quale il sangue viene ossigenato per mezzo degli alveoli polmonari e una *grande circolazione* grazie alla quale il sangue ricco di ossigeno è in grado di circolare verso tutta la periferia del corpo.

1.1 I vasi sanguigni

I vasi sanguigni sono delle complesse strutture assimilabili in prima istanza a dei condotti che consentono al tessuto ematico di raggiungere gli organi e i diversi distretti del corpo umano, possono essere distinti sia a seconda della loro funzione che sulla base della loro struttura anatomica, quindi, alle loro proprietà meccaniche, in arterie, vene e capillari.

1.1.1 Le arterie

Le arterie sono dei vasi che originano a partire dai ventricoli e trasportano, ad eccezione delle arterie polmonari e dell'arteria ombelicale, il sangue ricco di ossigeno proveniente dalla piccola circolazione verso i distretti periferici. È possibile classificare le arterie in base al loro calibro in arterie maggiori (o elastiche), arterie di medio calibro (o muscolari), piccole arterie o arteriole (con calibro inferiore ai 2mm) e capillari arteriosi.

1.1.1.1 Struttura anatomica delle arterie

Per quanto riguarda la struttura anatomica di un'arteria maggiore o di medio calibro è possibile individuare:

- *Tonaca intima*: costituita da un singolo strato non trombogenico di cellule endoteliali da un lato a stretto contatto con il flusso ematico, dall'altro a contatto con una lamina basale fortemente trombogenica costituita da tessuto connettivo sub-endoteliale (collagene 4), elastina e glicoproteine che ha sia una funzione strutturale che filtrante.
- *Lamina elastica interna*: strato fenestrato di fibre elastiche in direzione longitudinale che consente alle cellule muscolari lisce, di penetrare nella tonaca intima. L'elasticità che

caratterizza questa lamina garantisce un accumulo di energia elastica che a sua volta favorisce il flusso del sangue verso la periferia.

- *Tunica media*: Denominato anche strato muscolare la quale composizione varia a seconda del calibro dell'arteria, in particolare è costituito sia da fibre elastiche (predominanti nelle arterie di grande calibro) che da cellule muscolari lisce (predominanti nelle arterie di calibro inferiore) che regolano la vasodilatazione e vasocostrizione del vaso e sono in grado di sintetizzare vari tipi di collagene ed elastina.
- *Lamina elastica esterna*: Strato fenestrato di fibre elastiche simile alla lamina elastica interna.
- *Tonaca avventizia*: Costituita da tessuto connettivo contenente fibroblasti, fibre elastiche, nervi i quali hanno un ruolo chiave nella vasodilatazione e vasocostrizione e dai vasa vasorum, dei piccoli vasi che penetrano nella tonaca che hanno il compito di irrorare il vaso stesso.

Nelle arterie di piccolo calibro invece la tonaca più esterna, quella media, è costituita da uno strato molto sottile in cui si trovano cellule mesenchimali (**Figura 1.1**).

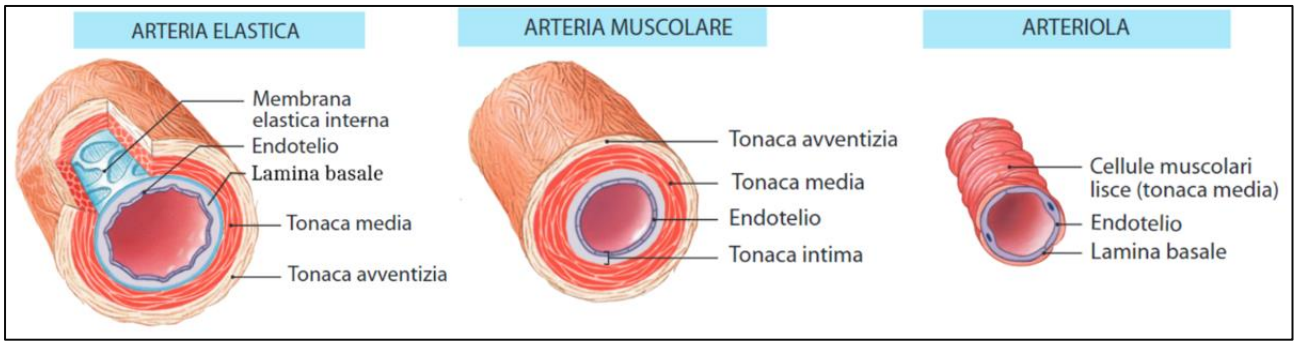


FIGURA 1.1 | STRUTTURA ANATOMICA DELLE ARTERIE

1.1.1.2 Patologie delle arterie

Al fine di garantire una emodinamica corretta la matrice cellulare (ECM) presente nella parete vascolare subisce un continuo processo di rimodellamento che è guidato da complesse interazioni di natura enzimatica e non enzimatica. Con il passare degli anni, le vie di regolazione di questo processo, come il sistema renina-angiotensina-aldosterone, subiscono degli squilibri che portano all'attivazione di pathways pro-infiammatori che originano uno stress ossidativo, il quale altera l'equilibrio tra la sintesi e la degradazione dei componenti della ECM. Un esempio di quanto detto è la sintesi di diversi tipi di collagene nella parete vascolare che ne aumentano la rigidità [3] .

Le malattie che colpiscono le arterie vengono comunemente raggruppate sotto il nome di arteriosclerosi che consiste in un progressivo irrigidimento e ispessimento tissutale delle arterie. Tra

le principali forme di arteriosclerosi si possono citare la *sclerosi calcificante della media di Monckeberg*, la quale consiste nella progressiva e diffusa calcificazione della tunica media di tutte le arterie muscolari e l'*aterosclerosi*, una malattia delle grandi e medie arterie dovuta all'alterazione della parete arteriosa a causa dell'infiammazione cronica della tonaca intima spesso causata all'accumulo e dall'ossidazione delle lipoproteine [4].

L'aterosclerosi è causata dalla formazione dell'ateroma, una lesione arteriosa che appare come una placca rialzata rispetto alla tonaca intima verso il lume, tale placca è costituita esternamente da una capsula fibrosa ed internamente presenta un core di lipidi altamente trombogenico, con il progredire della malattia le placche aumentano di numero ed ingrandendosi possono arrivare a coprire intere porzioni del vaso, ciò va ad influire direttamente sul flusso ematico. L'ateroma può infine ulcerarsi sviluppando un trombo che, entrando in circolo, può potenzialmente creare delle occlusioni nei vasi periferici quali carotidi, arterie vertebrali, arterie cerebrali, coronarie causando ischemie acute (ictus o infarto miocardico), ischemie croniche (demenza), ischemie intermittenti (angina pectoris) ma anche ad esempio una scorretta perfusione renale.

1.1.1.4 Proprietà meccaniche delle arterie

Le proprietà meccaniche dei vasi in generale sono strettamente dipendenti dalla percentuale di collagene, elastina e cellule muscolari che compongono la tonaca media (**Figura 1.2**), in particolare:

- *L'elastina*: proteina presente nella tonaca media delle arterie sotto forma di una lamina fenestrata longitudinalmente, ha modulo elastico circa uguale a 1MPa ed è caratterizzata dall'avere un comportamento in prima approssimazione elastico lineare, bassa isteresi e basso rilassamento.
- *Le fibre di collagene:* costituiscono una rete disordinata ed increspata in grado di assumere una conformazione più ordinata estendendosi nel momento in cui subentrano delle sollecitazioni meccaniche. Il loro modulo elastico è di tre ordini di grandezza superiore a quello dell'elastina, la curva sforzo-deformazione mostra un comportamento non lineare per via del fatto che le fibre entrano in azione progressivamente, sono inoltre caratterizzate da moderata isteresi e moderato rilassamento.

- *Le fibre muscolari:* sono avvolte con una conformazione ad elica a piccolo passo, le loro caratteristiche meccaniche sono modeste se confrontate con l'elastina e con le fibre di collagene, presentano un'elevata isteresi.

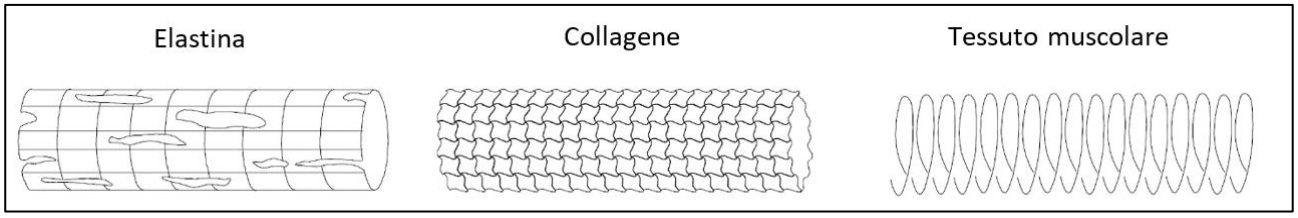


FIGURA 1.2 | STRUTTURA DEI TRE ELEMENTI PRINCIPALI COSTITUENTI LE PARETI DEI VASI

Muovendosi dal cuore verso la periferia del corpo, con il diminuire del calibro delle arterie diminuisce la percentuale di elastina (maggiormente presente al contrario nelle grandi arterie) ed aumenta quella relativa allo strato di cellule muscolari che contraendosi favorisce la progressione del flusso ematico (**Figura 1.3**).

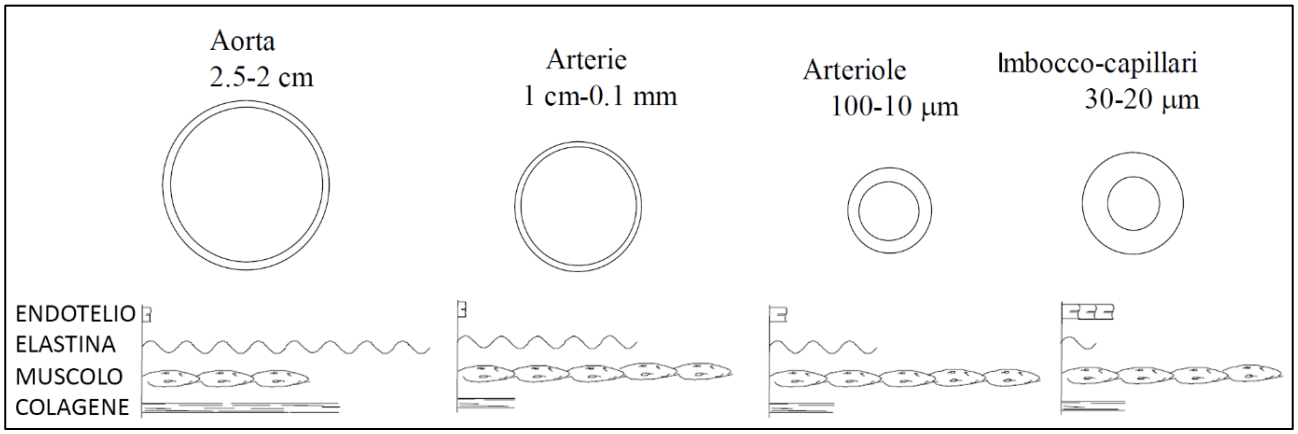


FIGURA 1.3 | COMPOSIZIONE STRUTTURALE DELLE PARETI DELLE ARTERIE AL VARIARE DELLA LORO DIMENSIONE

La non uniforme distribuzione delle cellule muscolari lisce nella parete del vaso fa sì che esista uno stato di sforzo anche in condizioni di deformazione nulla che prende il nome di sforzo residuo.

Sottoponendo le arterie a delle prove di trazione uniassiale alla velocità costante di 0.5 cm/mn, sia su campioni in direzione longitudinale che in direzione circonferenziale, (**Figura 1.4**) si è osservato che per valori intermedi di deformazione il modulo elastico dei campioni di aorta in direzione longitudinale è maggiore rispetto al modulo elastico del campione prelevato in direzione circonferenziale mentre, per deformazioni molto elevate, in prossimità della rottura, accade il contrario [5] e i carichi di rottura in direzione circonferenziale sono superiori (fino ai 4000 kPa) rispetto a quelli in direzione longitudinale (fino ai 1600 kPa).

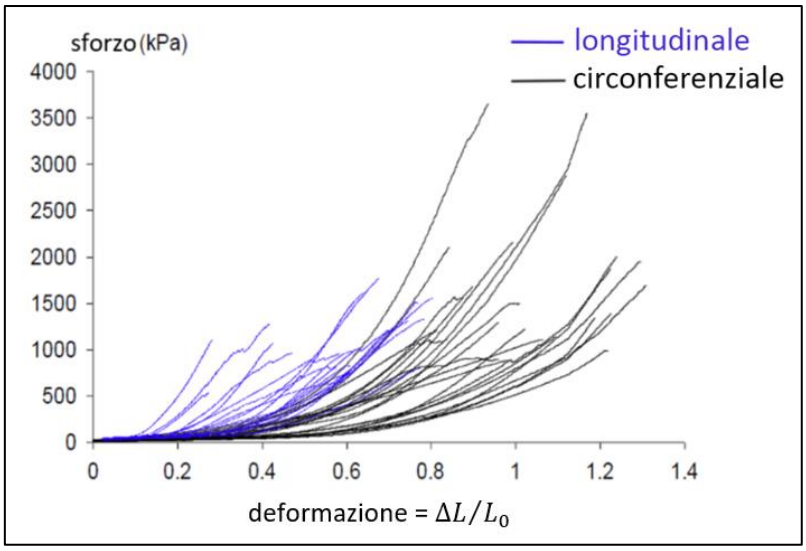


FIGURA 1.4 | CURVE SFORZO-DEFORMAZIONE IN DIREZIONE LONGITUDINALE E CIRCONFERENZIALE DELLE ARTERIE

1.1.2 Le vene

Le vene sono dei vasi che hanno il compito di condurre il sangue dalla periferia del corpo verso il cuore, rispetto alle arterie la pressione generata dal flusso ematico, essendo di ritorno, è inferiore, per questo motivo sono provviste di valvole dette "a nido di rondine" che impediscono al sangue di rifluire per effetto della forza di gravità, le loro pareti inoltre risultano essere maggiormente pretensionate. È possibile classificare le vene, come per le arterie, sulla base del loro calibro in vene di grosso calibro, di medio calibro, di calibro inferiore (venule) e capillari venosi.

1.1.2.1 Struttura anatomica delle vene

La struttura delle vene di grande e medio calibro comprende:

- *Tonaca intima*: costituita da uno strato di cellule endoteliali non trombogenico a contatto con il sangue e da una lamina basale di tessuto connettivo.
- *Tonaca media*: costituita da uno strato di cellule muscolari lisce molto più sottile rispetto all'analogo delle arterie.
- *Tonaca avventizia*: costituita da uno spesso strato di tessuto connettivo.

Nelle vene di piccolo calibro la tonaca media è quasi del tutto inesistente, sono quindi sostanzialmente costituite da uno strato esterno di tessuto connettivo, la tonaca avventizia, e da uno strato interno di tessuto endoteliale (**Figura 1.5**).

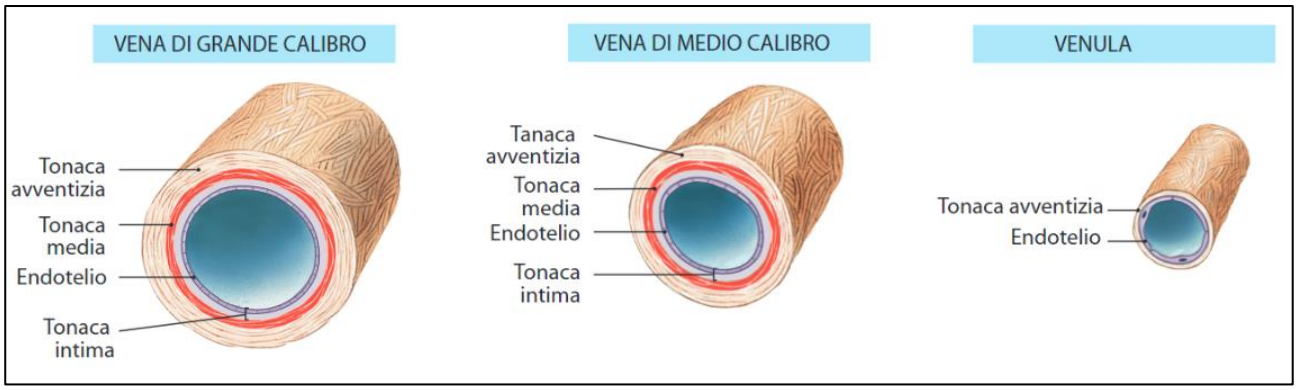


FIGURA 1.5 | STRUTTURA ANATOMICA DELLE VENE

1.1.2.2 Proprietà meccaniche delle vene

Il comportamento meccanico delle vene, secondo gli studi di Azuma ed Hasegawa [5] (**Figura 1.6**), è per certi aspetti differente e per altri duale rispetto a quello delle arterie, in particolar modo considerando diversi campioni di vene in direzione sia longitudinale che circonferenziale e sottoponendoli a prove di trazione uniassiale a velocità costante, analogamente a quanto precedentemente descritto per le arterie, è possibile notare valori di tensione di rottura di un ordine di grandezza inferiore (circa 120KPa per alcuni tratti di vene), sforzi e deformazioni a rottura spesso paragonabili lungo le due direzioni sul medesimo campione, modulo elastico nella direzione longitudinale superiore a quello in direzione circonferenziale per elevate deformazioni.

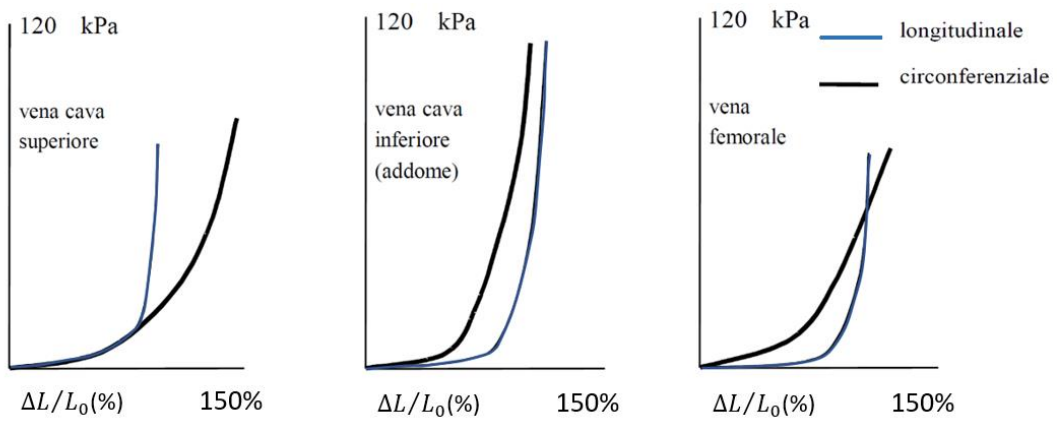


FIGURA 1.6 | PROVE SFORZO-DEFORMAZIONE IN DIREZIONE LONGITUDINALE E CIRCONFERENZIALE DI DIVERSE PORZIONI DI VENE

1.1.3 I capillari

I capillari sono i più piccoli vasi sanguigni individuabili nel sistema cardiovascolare, caratterizzati da una struttura prevalentemente ramificata essi costituiscono i punti di incontro tra l'estremo terminale di una arteria e quello distale di una vena [6]. La loro presenza è fondamentale per garantire lo scambio di sostanze nutritive e di scarto tra il sangue e i tessuti e organi circostanti nei quali gli stessi capillari si diramano. A differenza delle vene e delle arterie la loro struttura è priva di fibre muscolari ed è costituita da un singolo strato di cellule endoteliali che poggiano su una membrana basale, il loro diametro può variare dai 2.7 µm e i 1000 µm. Una differenza tra un capillare venoso ed uno arterioso risiede nella loro struttura che presenta delle fenestrature, nel caso del capillare venoso, mentre risulta essere continua nel capillare arterioso (**Figura 1.7**).

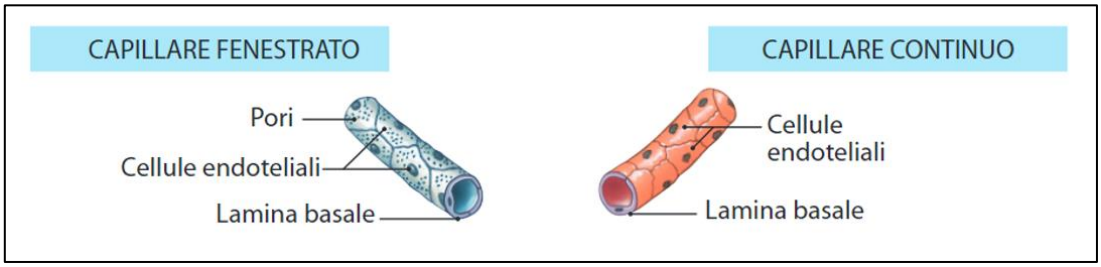


FIGURA 1.7 | STRUTTURA ANATOMICA DEL CAPILLARE VENOSO E ARTERIOSO

1.2 Il cuore

L'organo centrale che consente la circolazione del sangue in tutto il nostro organismo è il cuore (**Figura 1.8**), un muscolo situato all'interno della cavità toracica in prossimità del mediastino anteriore costituito da un tessuto caratterizzato dalla presenza di fibre muscolari e tessuto connettivo, il miocardio, rivestito da una sottile membrana denominata pericardio.

Dal punto di vista anatomico è possibile individuare nel cuore due compartimenti indipendenti, il destro e il sinistro, suddivisi a loro volta in due camere che prendono il nome di atri (nella parte superiore) e ventricoli (nella parte inferiore).

Nell'atrio destro confluiscono la vena cava superiore e la vena cava inferiore che immettono nel muscolo cardiaco il sangue povero di ossigeno proveniente rispettivamente dai tessuti posti al di sopra e al di sotto di esso, l'atrio sinistro, invece, riceve il sangue ricco di ossigeno di ritorno dalla piccola circolazione attraverso le quattro vene polmonari. Ciascun atrio è direttamente connesso al rispettivo ventricolo mediante delle valvole che prendono il nome di valvola tricuspide a destra e

valvola mitrale o bicuspide a sinistra, la prima è costituita da tre lembi chiamati anche cuspidi, la seconda da due; il funzionamento di queste valvole è garantito delle corde tendinee che si estendono fino alla base delle rispettive cavità inferiori, su queste corde si viene a sviluppare una tensione meccanica dipendente dalla quantità di sangue presente nei ventricoli che determina quindi l'apertura o la chiusura delle valvole.

Dal ventricolo destro, il sangue proveniente dall'atrio sovrastante povero di ossigeno viene eiettato nel tronco dell'arteria polmonare che, dopo un breve tratto, si scinde in arteria polmonare destra e arteria polmonare sinistra; il ventricolo sinistro invece [2] , caratterizzato da una muscolatura più pronunciata e da una forma più allungata rispetto al destro, contraendosi, immette con una maggiore pressione il sangue ricco di ossigeno verso l'aorta, l'arteria più importante del nostro organismo.

Sia l'aorta, che il tronco dell'arteria polmonare sono provviste di valvole a *nido di rondine* denominate rispettivamente valvola aortica e valvola polmonare per evitare il reflusso del sangue verso i ventricoli stessi.

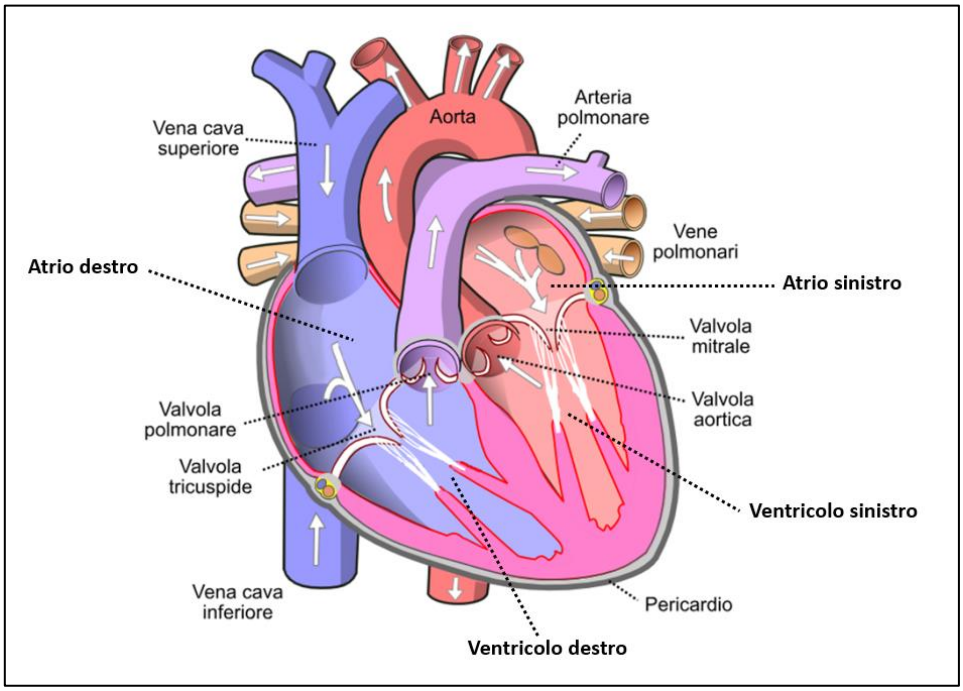


FIGURA 1.8 | RAPPRESENTAZIONE ANATOMICA SEMPLIFICATA DEL CUORE UMANO

1.2.1 La funzione meccanica del cuore

La principale funzione del cuore è quella di fare in modo tale che il sangue raggiunga ogni distretto corporeo in modo che esso possa scambiare con i rispettivi tessuti l'ossigeno e i nutrienti necessari ed allo stesso tempo raccogliere da essi le sostanze di scarto come, ad esempio, i cataboliti per garantire il loro corretto funzionamento.

Per fare ciò è possibile individuare due circuiti vascolari che prendono rispettivamente il nome di piccola circolazione e grande circolazione:

Nella piccola circolazione, il sangue povero di ossigeno di ritorno dalla periferia del nostro organismo entra nell'atrio destro attraverso le due vene cave, attraverso la valvola tricuspide finisce nel ventricolo destro e viene eiettato mediante l'arteria polmonare con le sue diramazioni verso i polmoni dove avviene lo scambio gassoso (assorbimento di ossigeno e cessione di anidride carbonica da parte del sangue) nei capillari degli alveoli polmonari, una volta ossigenato.

Nella grande circolazione invece, il sangue arricchito di ossigeno proveniente dagli alveoli rientra nell'atrio destro attraverso le vene polmonari, viene convogliato all'interno del ventricolo sinistro passando attraverso la valvola mitrale per poi venire eiettato con forza verso l'aorta verso la periferia del corpo [7] .

Questi passaggi appena descritti si ripetono in maniera ciclica dando luogo a quella che comunemente viene definita circolazione sanguigna in cui un ciclo cardiaco è costituito da quattro fasi ben definite (**Figura 1.9)** che avvengono nella parte destra e nella parte sinistra del cuore in maniera quasi del tutto identica e ben sincronizzata; prendendo come riferimento la parte sinistra del cuore queste quattro fasi sono:

- *Contrazione isovolumetrica*: nel ventricolo aumenta la pressione per via della contrazione muscolare ciò porta alla chiusura della valvola bicuspide, il sangue all'interno raggiunge la pressione di circa 80 mmHg (sistole ventricolare isovolumetrica).
- *Eiezione ventricolare*: l'apertura della valvola aortica da inizio alla fase di eiezione rapida (sistole ventricolare isotonica rapida) che porta alla conseguente diminuzione del volume all'interno del ventricolo dovuta al flusso ematico uscente, la pressione nel tratto aortico raggiunge i 125-130 mmHg; successivamente vi è il periodo di eiezione lenta (sistole ventricolare isotonica lenta) in cui si abbassano i valori di pressione e contemporaneamente avviene il rilassamento

della muscolatura in corrispondenza dell'atrio (diastole atriale) in cui lo stesso atrio si riempie del sangue proveniente dalle vene polmonari.

- *Rilassamento isovolumetrico*: La pressione nel ventricolo diminuisce per via della chiusura della valvola aortica fino a raggiungere un valore più basso di quella dell'atrio che nella precedente fase di diastole, riempendosi, ha visto aumentare la sua pressione, ciò causa l'apertura della valvola mitrale e il sangue inizia a fluire dall'atrio al ventricolo (sistole atriale).
- *Fase auxotonica*: Coincide con il riempimento del ventricolo (diastole ventricolare) da cui poi inizia il ciclo successivo [8].

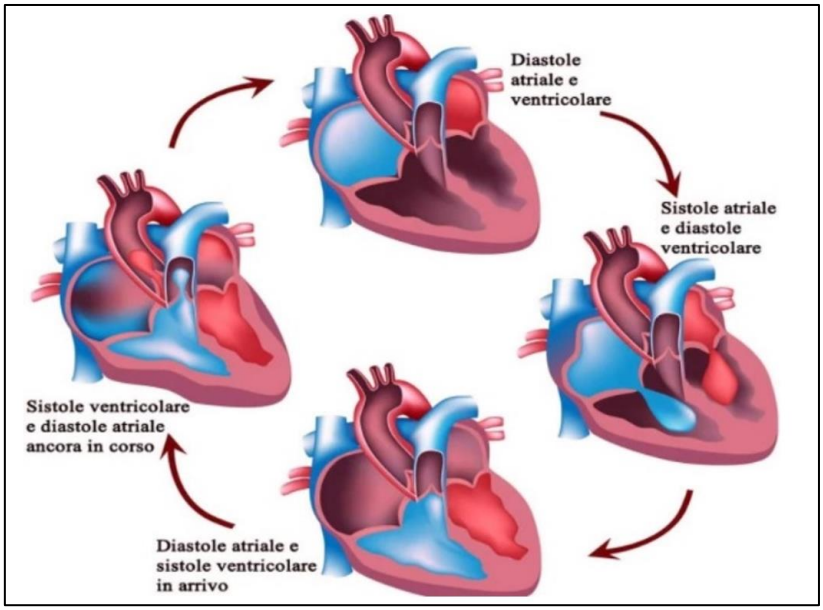


FIGURA 1.9 | ILLUSTRAZIONE DELLE QUATTRO FASI DEL CICLO CARDIACO

1.2.2 La funzione elettrica del cuore

Il corretto meccanismo pompante del cuore è garantito da un efficiente sistema di conduzione elettrica che caratterizza le cellule del miocardio capaci ciascuna di generare un potenziale di azione che si propaga a partire dagli atri fino a raggiungere i ventricoli [9].

L'impulso elettrico origina nell'atrio destro grazie al nodo senoatriale dove sono presenti le cellule pacemaker, cellule in grado di auto depolarizzarsi che inviano tale impulso verso il nodo atrioventricolare, poi verso il fascio di His fino alle fibre del Purkinje da dove si propaga in tutto il muscolo. È possibile in totale distinguere sette fasi (**Figura 1.10**) che descrivono la trasmissione di questo impulso, esse sono: depolarizzazione atriale, depolarizzazione del setto interventricolare,

depolarizzazione apicale, depolarizzazione ventricolare, depolarizzazione ventricolare totale, ripolarizzazione ventricolare, ripolarizzazione completa. A ciascuna di queste sette fasi è associata una forma d'onda elettrica, integrando il potenziale di azione di tutte cellule cardiache istante per istante si ottiene la caratteristica forma dell'elettrocardiogramma (ECG) che è possibile acquisire utilizzando un opportuno sistema di prelievo in cui si possono identificare:

- *Onda P*: depolarizzazione degli atri a cui segue immediatamente la sistole atriale (contrazione atriale)
- *Onda Q*: depolarizzazione del setto interventricolare
- *Onda R*: depolarizzazione della parte apicale dei ventricoli
- *Onda S*: depolarizzazione regione basale e posteriore del ventricolo sinistro
- *Onda T*: corrisponde alla fase di ripolarizzazione ventricolare, l'analogo nella funzione meccanica è la diastole ventricolare, fase che prosegue fino al completamento dell'onda P del successivo ciclo cardiaco

L' insieme delle onde Q-R-S viene denominato complesso QRS ed è l'immagine della sistole ventricolare (contrazione ventricolare) e anche della diastole atriale in quanto in corrispondenza del complesso QRS avviene anche la ripolarizzazione atriale che qualitativamente non è visibile nel tracciato.

Oltre alle forme d'onda sono di notevole importanza anche i tratti orizzontali che le separano:

- *Intervallo P-R:* Tempo di conduzione atrio ventricolare in cui il sangue fluisce dall'atrio verso il rispettivo ventricolo
- *Intervallo Q-T:* Tempo di depolarizzazione e ripolarizzazione dei ventricoli
- *Intervallo P-R:* Intervallo temporale in cui gli atri risultano completamente depolarizzati
- *Segmento S-T:* Intervallo temporale in cui i ventricoli risultano completamente depolarizzati

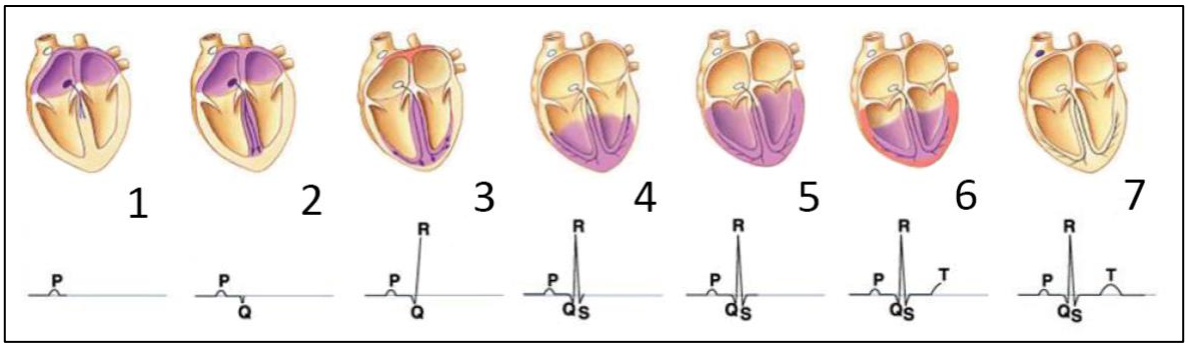


FIGURA 1.10 | PROPAGAZIONE DELL'IMPULSO ELETTRICO NELLE SETTE FASI CON LE RELATIVE FORME D'ONDA ASSOCIATE

1.3 La pressione sanguigna

La pressione arteriosa sistemica viene definita come la pressione del sangue arterioso misurata in corrispondenza del cuore, l'unità di misura maggiormente utilizzata è il millimetro di mercurio (mmHg) [10].

La pressione arteriosa può essere misurata in un soggetto con diversi metodi che possono essere suddivisi in metodi invasivi e non invasivi, tra i metodi non invasivi possono essere citate le tecniche che sfruttano gli ultrasuoni, il metodo oscillometrico o il metodo occlusivo, queste tecniche consentono di stimare la pressione arteriosa su vasi situati in prossimità della superficie. I metodi invasivi invece consentono, tramite l'utilizzo di un catetere, di andare a valutare la pressione in un distretto corporeo difficilmente accessibile dalle tecniche non invasive come ad esempio una camera cardiaca.

Nell'ipotesi di considerare un vaso come fosse un condotto costituito da un materiale rigido, lineare e isotropo, la pressione esercitata dal sangue, affinché sia in grado di fluire attraverso, deve essere in grado di vincere la resistenza periferica esercitata dal condotto in opposizione al flusso ematico; la sommatoria di tutte le resistenze periferiche associate lungo la grande circolazione viene denominata resistenza periferica totale R_{TOT}, essa può essere definita come il rapporto tra la caduta di pressione che si ha tra ventricolo sinistro e atrio destro ΔP e la gittata cardiaca Q (**1.1**).

$$R_{TOT} = \frac{\Delta \mathrm{P}}{\mathrm{Q}} \tag{1.1}$$

Questa caduta di pressione attraverso la legge di Poiseuille può essere messa in relazione con le caratteristiche geometriche del condotto (vaso sanguigno) e con la viscosità del fluido in considerazione (il sangue) secondo la seguente relazione (**1.2**)

$$\Delta \mathrm{P} = \frac{8\mu L Q}{\pi r^4} \tag{1.2}$$

in cui μ è la viscosità del fluido, *L* è la lunghezza del tratto di vaso considerato e *r* è il raggio del vaso. Da questa relazione è immediato notare come una occlusione parziale di un vaso possa causare un notevole aumento della resistenza periferica.

I vasi sanguigni però, a differenza di un condotto costituito da un materiale omogeneo, lineare ed isotropo, hanno un comportamento anisotropo e sono inoltre caratterizzati dalla capacità di espandersi in funzione alle diverse fasi del ciclo cardiaco grazie alla presenza di elastina, collagene

e fibre muscolari presenti nella loro struttura, ciò consente di avere un flusso più stabile e meno intermittente; il parametro che descrive tale proprietà prende il nome di compliance o capacitanza C definita nella (**1.3**) come il rapporto tra la variazione di volume dovuta alla deformazione del vaso ΔV e la variazione di pressione ΔP espressa come differenza tra la pressione intravasale e la pressione esterna al vaso.

$$C = \frac{\Delta V}{\Delta P} \tag{1.3}$$

La rigidità dei vasi è quindi un parametro fondamentale da valutare che influenza fortemente l'emodinamica. In merito alla pressione arteriosa bisogna effettuare una distinzione tra pressione sistolica, valutata nella fase di sistole ventricolare, pressione diastolica, valutata durante la diastole ventricolare e pressione differenziale definita come la differenza tra la pressione sistolica e quella diastolica. La pressione sistolica è influenzata dalla gittata cardiaca quella diastolica invece dipende dal ritorno elastico del vaso ossia dalla sua compliance e dalle resistenze periferiche; dal momento che l'azione del cuore è periodica, con le fasi di sistole e diastole che si susseguono continuamente, si genera quella che viene definita onda sfigmica di pressione che origina a partire dal ventricolo sinistro e si propaga nello spazio attraverso tutto l'albero vascolare fino a richiudersi nell'atrio destro, questa onda si ripete periodicamente in concomitanza di ogni ciclo cardiaco (**Figura 1.11**) e vede variare la sua morfologia in base allo specifico punto di un vaso che si prende in considerazione.

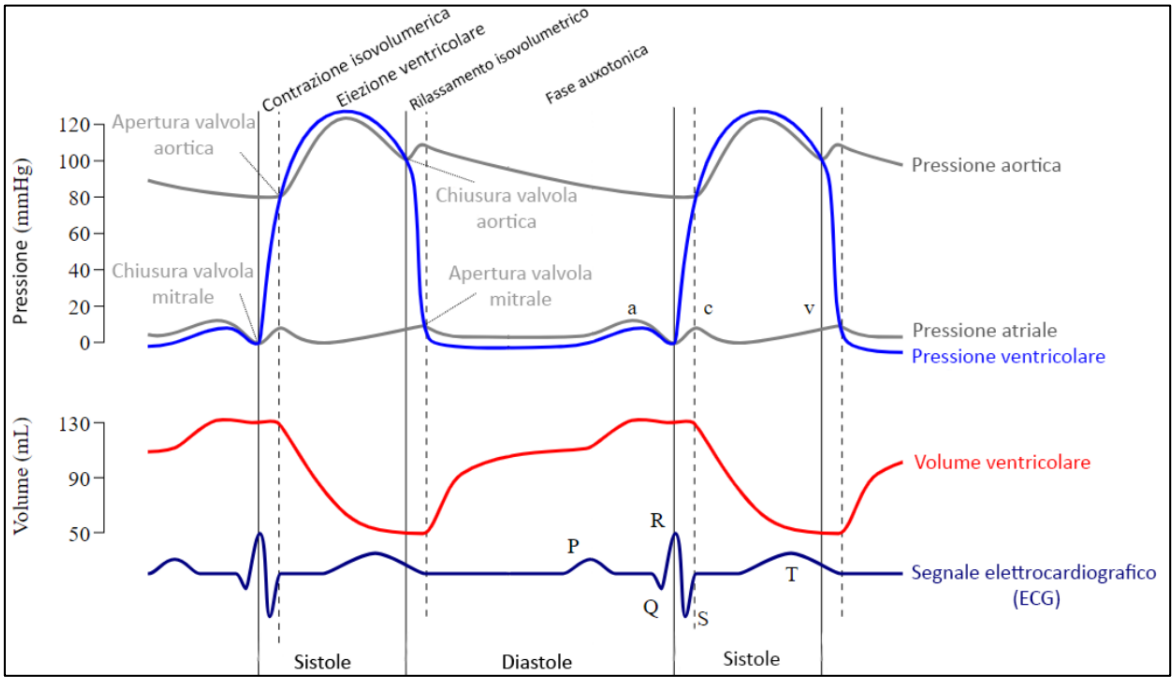


FIGURA 1.11 | FASI DEL CICLO CARDIACO IN RELAZIONE ALL'ANDAMENTO DELLA PRESSIONE AORTICA, ATRIALE, VENTRICOLARE E DEL VOLUME EMATICO VENTRICOLARE

1.3.1 L'ipertensione arteriosa

L'ipertensione arteriosa è quella patologia in cui viene evidenziato, in un individuo, un aumento della pressione sistolica o diastolica nelle arterie ed è considerata un importante fattore di rischio per l'infarto nel miocardio, ictus, insufficienza cardiaca e renale, pertanto, ad essa è associata una riduzione dell'aspettativa di vita [11]. È importante ricordare che, sebbene ci siano range di pressione sanguigna stabiliti da enti come l'Organizzazione Mondiale Della Sanità, i valori di pressione variano da individuo a individuo e vanno interpretati a seconda dello stile di vita, da eventuali patologie pregresse, dalla predisposizione genetica e da terapie farmacologiche (**Tabella 1.1**).

TABELLA 1. 1 | RANGE DEI VALORI DI PRESSIONE RIPORTATI DALL'ORGANIZZAZIONE MONDIALE DELLA SANITÀ

STATO DI PRESSIONE	PRESSIONE SISTOLICA	PRESSIONE DIASTOLICA
OTTIMALE	< 120 mmHg, 90 > mmHg	< 80 mmHg, 60 < mmHg
NORMALE	< 130 mmHg	< 85 mmHg
NORMALE-ALTA	130-139 mmHg	85-89 mmHg
IPERTENSIONE DI GRADO 1 (MINIMO)	140-149 mmHg	90-94 mmHg
IPERTENSIONE DI GRADO 1	150-159 mmHg	95-99 mmHg
IPERTENSIONE DI GRADO 2	160-179 mmHg	100-109 mmHg
IPERTENSIONE DI GRADO 3	≥ 180 mmHg	≥ 110 mmHg

Come mostrato in letteratura [12], [13] l'ipertensione arteriosa è uno dei principali fattori di rischio connessi alla rigidità arteriosa insieme a diabete, età, e fumo. Come descritto precedentemente, la rigidità arteriosa innesca all'interno di un vaso un processo che ne altera la parete fino a formare una placca (l'ateroma), questo processo è dovuto ad un aumento della pressione sistolica e differenziale (ipertensione). I possibili meccanismi che collegano la rigidità arteriosa alla manifestazione dell'aterosclerosi in diversi distretti circolatori quali: coronarie, carotide, vasi cerebrali, sono stati schematizzati da Kim e Kim nella loro pubblicazione [14] (**Figura 1.12**).

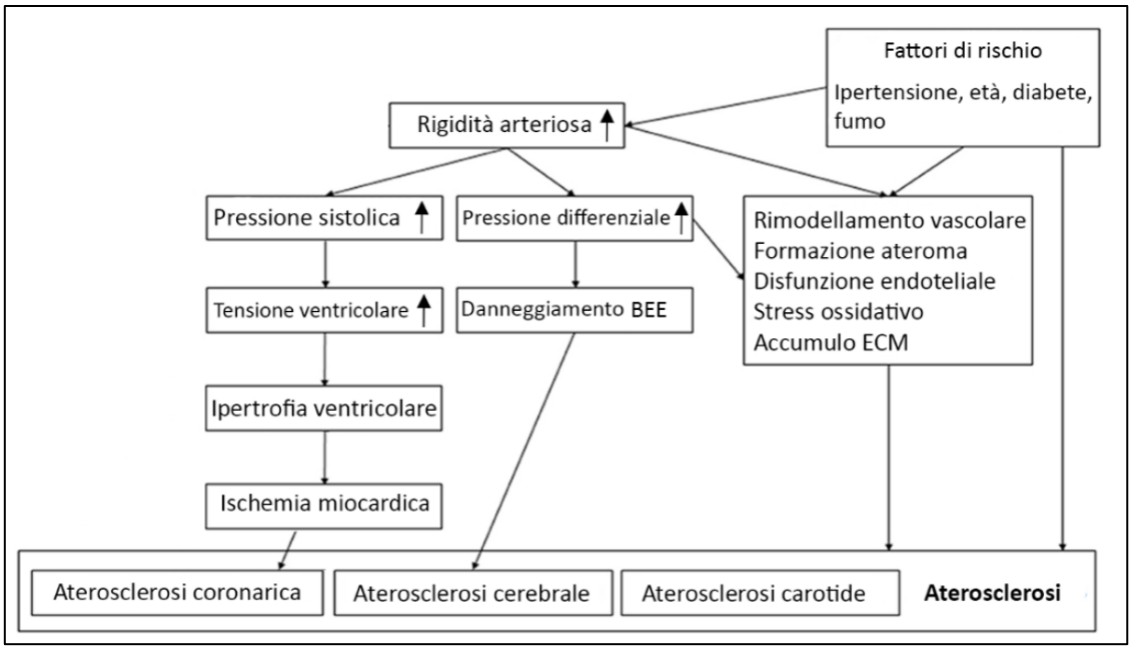


FIGURA 1.12 | POSSIBILI MECCANISMI CHE COLLEGANO LA RIGIDITÀ ARTERIOSA E L'ATEROSCLEROSI. L'ALTERAZIONE DELL'EMODINAMICA DOVUTA ALL'AUMENTO DELLA RIGIDITÀ ARTERIOSA È ASSOCIATA A ALL'IPERTROFIA DEL VENTRICOLO SINISTRO E AL DANNEGGIAMENTO DELLA BARRIERA EMATOENCEFALICA (BEE), CHE PORTANO RISPETTIVAMENTE ALL'ATEROSCLEROSI CORONARICA E CEREBRALE CON IL PASSARE DEGLI ANNI. LA DISFUNZIONE ENDOTELIALE, LO STRESS OSSIDATIVO, IL RIMODELLAMENTO VASCOLARE, L'ACCUMULO DI MATRICE EXTRACELLULARE (ECM) E LA CONDIVISIONE DI FATTORI DI RISCHIO COMUNI COME ETÀ, IPERTENSIONE E DIABETE SONO DEGLI ELEMENTI CHE SONO COLLEGATI ALL'AUMENTO DELLA RIGIDITÀ ARTERIOSA E ALLO SVILUPPO E PROGRESSIONE DELL'ATEROSCLEROSI [14] .

Capitolo secondo - L'onda sfigmica e la pulse wave velocity

2.1 L'onda sfigmica

I primi studi riguardo l'onda sfigmica risalgono al diciottesimo secolo ma una importante svolta ci fu nel 1899 quando il fisiologo tedesco Otto Frank propose il modello Windkessel (a camera d'aria) [15] con il quale paragonò il sistema arterioso ad un'autopompa in cui lo sbocco rappresentava le resistenze periferiche, una camera d'aria le arterie prossimali più elastiche e un pistone il cuore.

Questo modello non rappresenta in maniera fedele quanto accade nella realtà, in particolar modo non tiene conto del ritardo dovuto al tragitto che deve compiere l'onda per raggiungere la periferia, infatti la variazione del diametro in funzione del tempo non è esattamente in fase con l'andamento della pressione, non tiene inoltre conto della riduzione della compliance dei vasi dal momento che spostandosi dall'aorta verso le arterie periferiche essa diminuisce ed infine questo modello assume che la velocità con cui si propaga l'onda è costante ed infinita in ogni punto del condotto, il che non è vero ma dipende dal tratto di vaso che si prende in considerazione.

Negli anni Venti del ventesimo secolo venne proposto un modello alternativo a quello di Otto Frank denominato modello propagativo sulla base degli studi di Bramwell e Hill [16] il quale considera un vaso sanguigno come un tubo distendibile di materiale viscoelastico caratterizzato da una resistenza periferica nella parte distale, le proprietà elastiche, i questo nuovo modello, caratterizzano l'intera superficie del condotto a differenza del Windkessel in cui l'elemento elastico era concentrato in una specifica regione del tubo (in concomitanza della camera d'aria) [1] .

Un importante aspetto che considera il modello propagativo come sottolineato anche da O 'Rourke et al. [17], [18] è il fenomeno di amplificazione [19] dovuto alla riflessione delle onde di pressione lungo l'albero arterioso in verso retrogrado rispetto flusso ematico causato dalla maggiore resistenza esercitata dai vasi periferici in quanto sono più rigidi dei gradi vasi centrali.

L'onda riflessa, che viaggia in senso opposto all'onda incidente, si va a sovrapporre ad essa dando luogo alla caratteristica forma d'onda [20] (**Figura 2.1**), nei soggetti affetti da ipertensione viene riscontrata una velocità dell'onda riflessa superiore rispetto a soggetti sani dovuta ad una maggiore rigidità delle pareti vascolari.

La differenza di pressione tra il picco dell'onda incidente e quello relativo all'onda riflessa prende il nome di *augementation pressure* e a partire da essa è possibile calcolare un parametro,

l'augementation index, che secondo alcuni studi sembrerebbe essere un indicatore della rigidità arteriosa [21] nonché un predittore per la mortalità su pazienti affetti da insufficienza renale [22] e patologie cardiovascolari [23] .

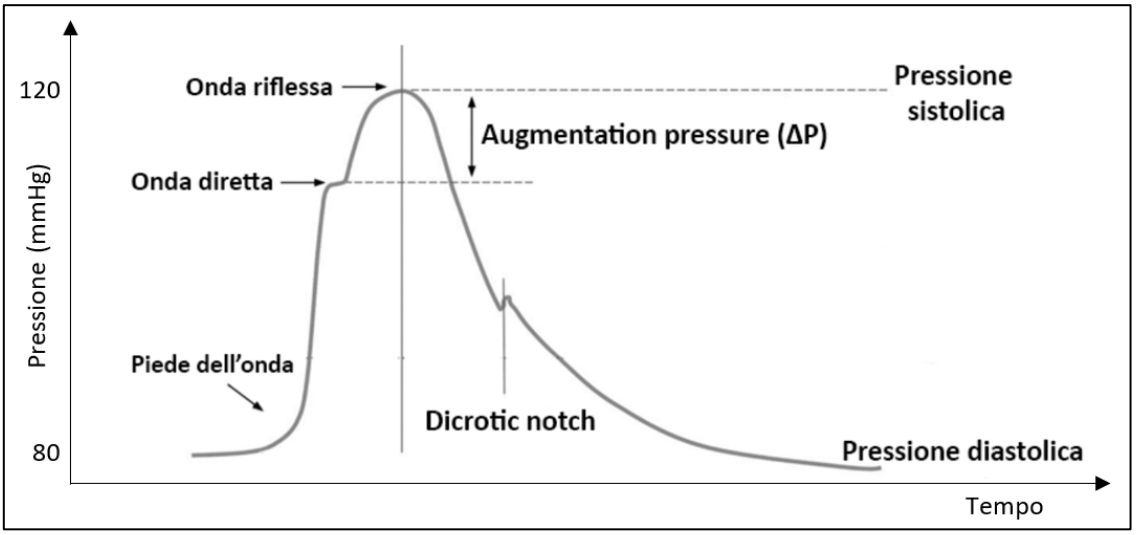


FIGURA 2.1 | MORFOLOGIA DELL'ONDA SFIGMICA IN FUNZIONE DEL TEMPO

Un tratto caratteristico della curva di pressione in funzione del tempo è l'incisura dicrota, in inglese *dicrotic notch*, dovuta alla chiusura della valvola aortica che separa la fase sistolica dalla diastolica, questo tratto è caratterizzato da una pendenza maggiore nei vasi più prossimi all'aorta.

La morfologia dell'onda pressoria viaria al variare del vaso arterioso che si prende in considerazione, ciò e dovuto al fenomeno della riflessione nel quale l'onda riflessa anticipa quella incidente man mano che ci si sposta verso i vasi periferici; man mano che ci allontana dal cuore, inoltre, è possibile osservare un incremento della pressione sistolica, una diminuzione della pressione diastolica e un ritardo in corrispondenza del dicrotic notch via via crescente [24] [25] (**Figura 2.2**).

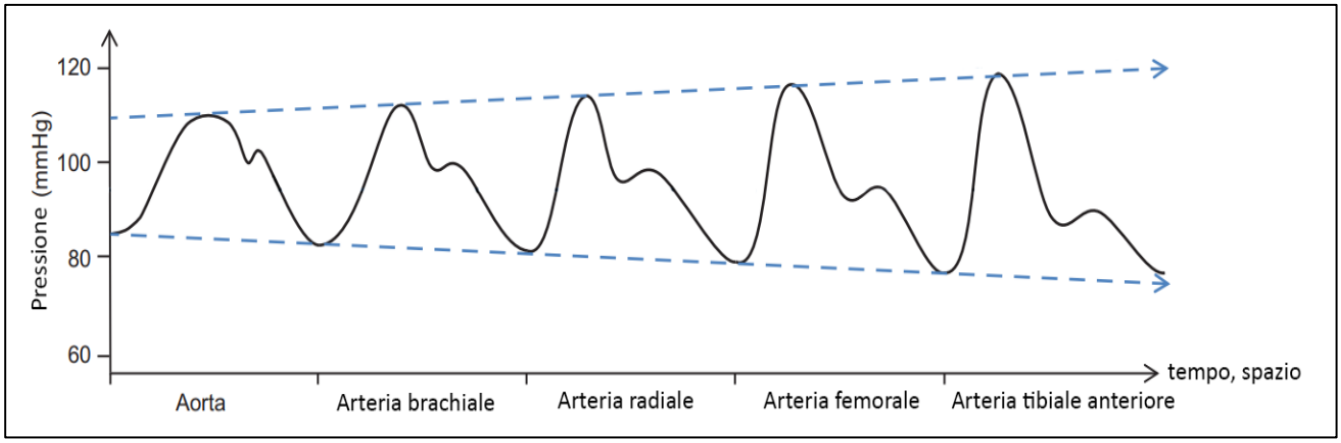


FIGURA 2.2 | VARIAZIONE DELLA MORFOLOGIA DELL'ONDA PRESSORIA NEI DIVERSI DISTRETTI ARTERIOSI

2.2 La pulse wave velocity

La pulse wave velocity (PWV) è definita come la velocità con la quale si propaga l'onda di pressione arteriosa tra due punti distinti dell'albero vascolare, ad oggi è possibile fornire una buona stima di questo parametro con delle metodologie non invasive ed è riconosciuto dalla European Society of Hypertension come un indicatore per valutare l'eventuale stato di ipertensione di un soggetto [26] in quanto, la propagazione dell'onda sfigmica verso la periferia del sistema circolatorio, è strettamente dipendente dalla rigidità dei vasi.

Il primo ad introdurre il concetto della pulse wave velocity fu Thomas Young nel 1808 nella sua pubblicazione *The Croonian Lecture, on the Functions of the Heart and Arteries* [27] in cui mostrò l'analogia tra la propagazione dell'onda sfigmica nel sangue con la propagazione di un'onda sonora nell'aria, a partire da ciò espresse la PWV in funzione del modulo di compressibilità B e della densità ρ del sangue come mostrato nella (**2.1**) senza prendere in considerazione le caratteristiche del vaso.

$$PWV = \sqrt{\frac{B}{\rho}} \tag{2.1}$$

Bramwell e Hill nel 1922, basandosi sul modello propagativo da loro proposto a partire dai precedenti studi effettuati da Otto Frank, derivarono la seguente equazione (**2.2**) [28] ipotizzando il sangue come un fluido incomprimibile

$$PWV = \sqrt{\frac{V * \Delta P}{\rho * \Delta V}} = \sqrt{\frac{r * \Delta P}{2 * \rho * \Delta r}} = \sqrt{\frac{1}{\rho * D}} \tag{2.2}$$

dove ΔV è la variazione del volume V dell'arteria, ΔP è la variazione di pressione nel vaso ρ è la densità del sangue, Δr è la variazione del raggio r del vaso e D è il coefficiente di distensibilità.

L'equazione di Moens-Korteweg, sotto riportata (**2.3**), equivalente a quella di Bramwell-Hill, essa definisce la PWV in funzione del modulo di Young relativo alla direzione circonferenziale del vaso E, dello spessore h, del raggio della parete r e della densità del sangue ρ.

$$PWV = \sqrt{\frac{E * h}{2 * r * \rho}} \tag{2.3}$$

Da questa ultima equazione, valida ipotizzando la parete arteriosa costituita da un materiale isotropo, considerando il sangue come un fluido incomprimibile, trascurando variazioni dello

spessore della parete e della superficie del vaso, si può osservare la relazione tra un parametro che descrive le proprietà meccaniche di un vaso (il modulo di Young) e la PWV.

Un vaso che vede diminuire la sua capacità di deformarsi per via della pressione che il sangue esercita al suo interno sarà caratterizzato da un modulo elastico di Young superiore rispetto ad un altro vaso che invece si deforma correttamente, secondo la definizione di modulo elastico definito come il rapporto tra sforzo e deformazione; questo è ciò che avviene con il progredire dell'età ed in maniera più accentuata nei soggetti affetti da arteriosclerosi [28] [29] e più specificamente anche da aterosclerosi [14]

Negli esseri umani la PWV è un parametro riferito alla porzione di vaso sulla quale viene effettuata la misura e varia spostandosi lungo l'albero vascolare in particolare secondo lo studio di Latham et. al [30] la PWV aumenta dai 4-5 m/s del tratto ascendente dell'aorta ai 5-6 m/s nel tratto dell'aorta addominale fino agli 8-9 m/s dell'arteria iliaca e delle arterie femorali in soggetti sani.

2.2.1 La pulse wave velocity in relazione alle patologie cardiovascolari

Secondo l'Organizzazione Mondiale Della Sanità, nel 2017 ci sono state 17.7 milioni di morti causate da patologie cardiovascolari [31] e nel 2019 17.9 milioni, il 32% tra tutte le possibili cause di morte. È ad oggi dimostrato che la rigidità arteriosa è un importante indicatore in grado di predire eventi avversi in ambito cardiovascolare [1] [32] [33], una tecnica non invasiva come la stima della pulse wave velocity è in grado di fornire un'indicazione di tale rigidità lungo un tratto dell'albero vascolare [34] [35] ed in particolare la PWV nel tratto carotideo-femorale è considerato dagli esperti come il gold standard di riferimento.

Fino ad un paio di decenni fa non si avevano ancora dei valori di riferimento della PWV in relazione alle patologie cardiovascolari [36], Mattace-Raso et al. nel 2010 pubblicarono uno studio nell' *European Heart Journal* [37] in cui presentarono la distribuzione dei valori di PWV di una corte composta da 11092 soggetti sani suddivisi in sette fasce di età e a loro volta discriminati in base ai valori di pressione sistolica in cinque gruppi diversi (**Tabella 2.1**).

TABELLA 2.1 | DISTRIBUZIONE DELLA PWV (MEDIA ± 2 SD), ESPRESSA IN METRI AL SECONDO, IN BASE AI VALORI DI PRESSIONE SISTOLICA E ALL'ETÀ

ETÀ (ANNI)	VALORI DI PWV IN BASE ALLO STATO DELLA PRESSIONE SISTOLICA				
	Ottimale	Normale	Normale-Alta	Ipertensione di grado 1	Ipertensione di grado 2 o 3
<30	6.1 (4.6-7.5)	6.6 (4.9-8.2)	6.8 (5.1-8.5)	7.4 (4.0-10.1)	7.7 (4.4-11.0)
30-39	6.6 (4.4-8.9)	6.8 (4.2-9.4)	7.1 (4.5-9.7)	7.3 (4.0-10.7)	8.2 (3.3-13.0)
40-49	7.0 (4.5-9.6)	7.5 (5.1-10.0)	7.9 (52-10.7)	86 (5.1-12.0)	9.8 (38-15.7)
50-59	7.0 (4.8-10.5)	8.4 (5.1-11.7)	8.8 (48-12.8)	9.6 (4.9-14.3)	10.5 (4.1-16.8)
60-69	9.1 (5.2-12.9)	9.7 (5.7-13.6)	10.3 (5.5-15.1)	11.1 (6.1-16.2)	12.2 (5.7-18.6)
>=70	10.4 (5.2-15.6)	11.7 (6.0-17.5)	11.8 (5.7-17.9)	12.9 (69-18.9)	14.0 (7.4-20.6)

Secondo lo studio condotto da Mitchell et al. [38] ad un valore di PWV elevato nel tratto carotideo-femorale è associato un aumento del 48% della probabilità di incorrere in patologie cardiovascolari.

Suddividendo la corte in esame in quattro gruppi in base alla PWV calcolata in ogni individuo, come mostrato nelle tendenze riportate (**Figura 2.3**) e confrontando gli individui appartenenti al gruppo associato alla PWV maggiore (PWV ≥ 11.8 m/s) con quelli appartenenti al gruppo associato alla PWV minore (PWV≤7.7 m/s) è stato stimato un rapporto di rischio (HR) pari a 3.4 relativo proprio agli eventi di natura cardiovascolare.

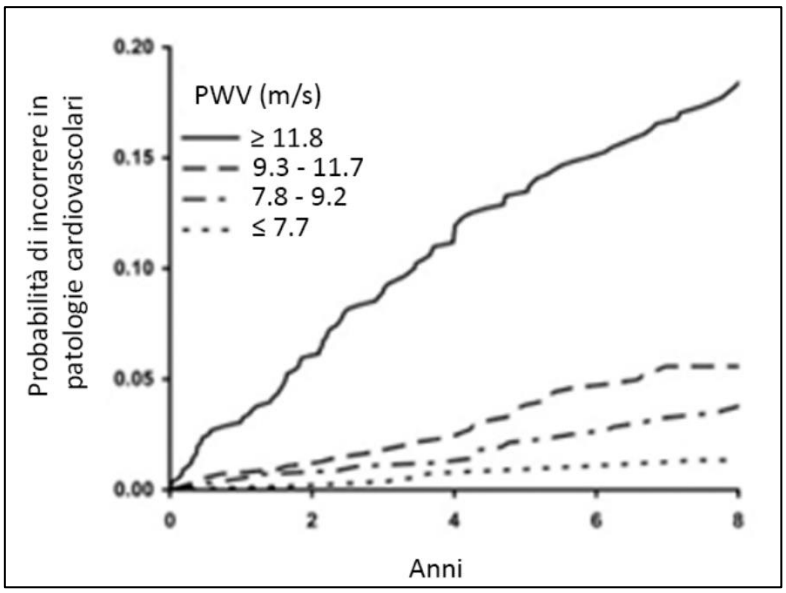


FIGURA 2.3 | PROBABILITÀ DI INCORRERE IN PATOLOGIE CARDIOVASCOLARI CON IL PASSARE DEGLI ANNI IN BASE ALLA PWV CAROTIDEO-FEMORALE IN UN INDIVIDUO

Vlachopoulos et al. In uno studio condotto nel 2010 [39] valutarono il rischio relativo (RR) in merito: allo sviluppo di patologie cardiovascolari, sulla mortalità causata da patologie cardiovascolari ed infine considerando tutte le possibili cause di morte. Questo studio ha considerato dei dati provenienti da 17 studi precedenti su popolazioni che comprendevano persone con diabete, malattie coronariche, malattie renali, ipertensione arteriosa e persone sane; per ogni studio sono stati distinti due gruppi: soggetti con valori di PWV elevata e soggetti con valori di PWV bassa o regolare e a partire dalla probabilità associata ad ogni gruppo di incorrere in ognuna delle tre casistiche è stato valutato il parametro RR e il relativo intervallo di confidenza (CI) al 95%. I risultati hanno mostrato che il RR valutato a partire dai i due gruppi per ogni studio in merito all'incidenza delle patologie cardiovascolari è pari a 2.26 (95% CI: 1.89-2.70), riguardo la mortalità causata da patologie cardiovascolari è di 2.02 (95% CI: 1.89-2.70) mentre in merito a tutte le possibili cause di morte è di 1.90 (95% CI: 1.61-2.24) (**Figura 2.4**). Sempre secondo questo studio l'incremento di 1 m/s della PWV aumenta del 15% la possibilità di incorrere in una patologia cardiovascolare.

Kucharska-Newton et al. hanno mostrato che nel segmento carotideo-femorale la PWV aumenta dagli 0.2 m/s ai 0.7 m/s nei soggetti ogni 5 anni, e questo incremento avviene in maniera più rapida superati i 60 anni di età [3] .

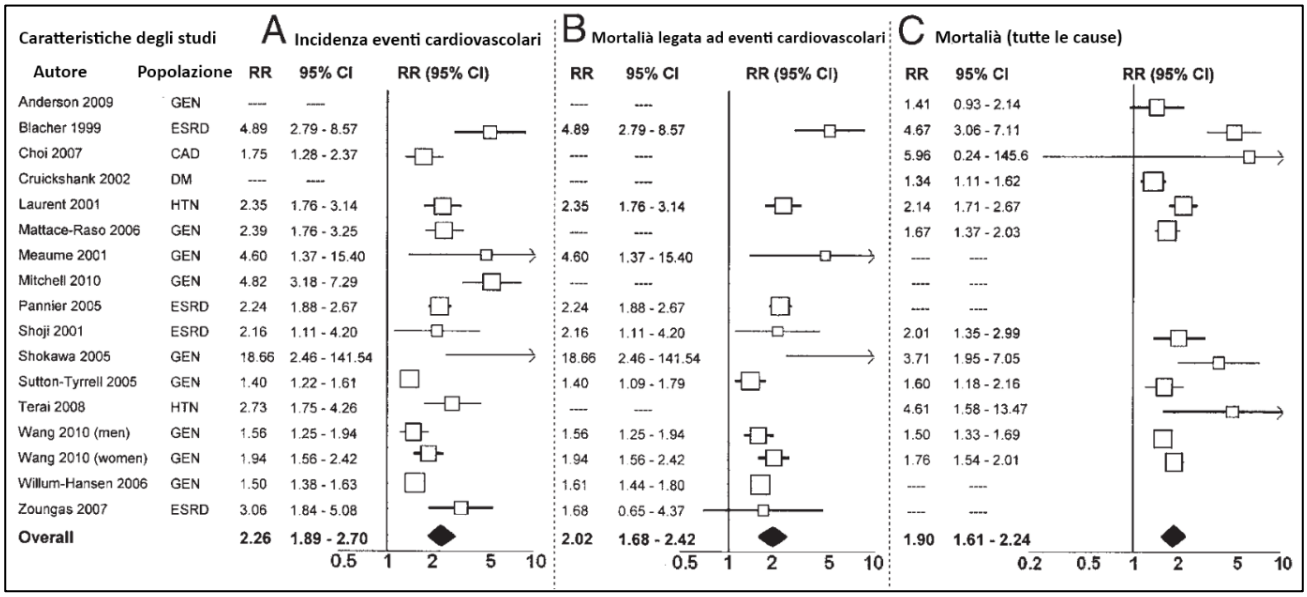


FIGURA 2.4 | RISCHIO RELATIVO (RR) E 95% DI INTERVALLO DI CONFIDENZA (CI) ASSOCIATO A VALORI ELEVATI DELLA PWV AORTICA NEI TRE EVENTI: INCIDENZA DEGLI EVENTI DI NATURA CARDIOVASCOLARE, MORTE PER EVENTI DI NATURA CARDIOVASCOLARE E MORALITÀ. LE SIGLE ASSOCIATE ALLE POPOLAZIONI DEGLI STUDI RIPORTATI SONO RISPETTIVAMENTE CAD= MALATTIE CORONARICHE; DM= DIABETE MELLITO; ESRD= STADIO FINALE DI UNA PATOLOGIA RENALE; GEN= GENERALE; HTN= IPERTENSIONE.

2.2.2 Stima della pulse wave velocity

La stima della PWV tra due punti A e B dall'albero vascolare viene effettuata dividendo la distanza che separa i due punti di osservazione d_{AB}con il pulse transist time (PTT) definito come l'intervallo di tempo che impiega l'onda sfigmica a viaggiare dal punto A al punto B (**2.4**).

La distanza d_{AB} viene spesso misurata mediante l'ausilio di un metro tra i due punti A e B, così facendo però si commette un errore in merito al reale tragitto che compie il fronte d'onda pressorio all'interno del vaso dal momento che il tratto viene ipotizzato perfettamente rettilineo tra i siti di misura; al fine di prendere in considerazione questo aspetto le linee guida consigliano di moltiplicare la distanza per un fattore correttivo di 0.8 [40].

$$PWV = \frac{d_{AB} * 0.8}{PTT_{AB}} \tag{2.4}$$

Viene spesso effettuata una differenza tra quella che viene definita stima della PWV regionale e PWV locale [41] in particolare:

- La $PWV_{regionale}$ viene valutata a partire da due siti di misura appartenenti a due vasi arteriosi differenti, questo parametro deve essere interpretato facendo presente che i due vasi saranno caratterizzati da proprietà meccaniche diverse pertanto sarebbe scorretto considerare la PWV cosante lungo l'albero arterioso, la $PWV_{regionale}$ fornisce quindi un valore di velocità medio associato al fronte d'onda pressorio lungo il percorso tra i due punti.
- La PWV_{locale}invece viene valutata tra due punti appartenenti alla stessa arteria quindi prossimi tra loro, ciò consente di ipotizzare che lungo questo breve tratto le proprietà del vaso siano le stesse e che la velocità dell'onda sfigmica possa essere considerata con buona approssimazione costante pari a PWV_{locale}.

Il punto fiduciale che viene preso in considerazione nella forma d'onda pressoria, da usare come riferimento per calcolare il ritardo, è il piede dell'onda in corrispondenza dell'apertura della valvola aortica con la quale inizia la fase di sistole ventricolare; per identificare questo istante temporale in maniera non ambigua nei segnali di pressione, si preferisce spesso considerare la derivata seconda del segnale (in funzione del tempo) dove il punto corrispondente al piede dell'onda, derivando il segnale di pressione due volte, andrà a coincidere con un punto di massimo assoluto facile da individuare computazionalmente (**Figura 2.5**), come dimostrato da Y. Christopher et al [42].

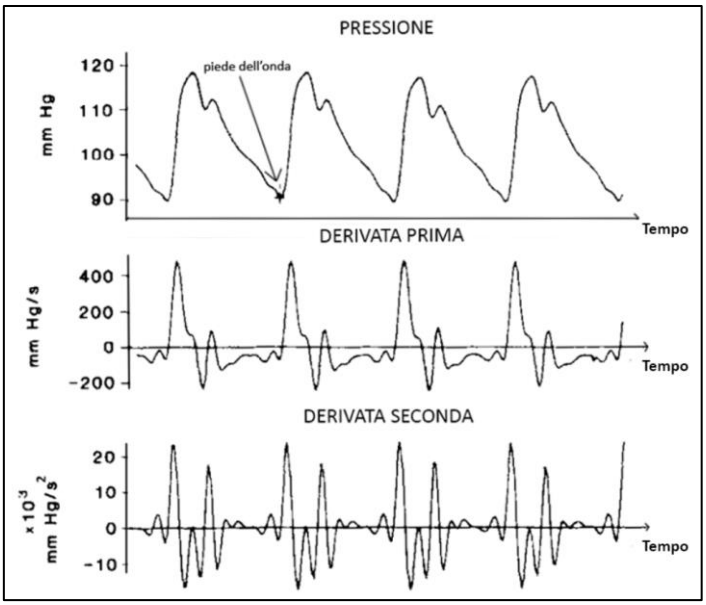


FIGURA 2.5 | CURVA DELLA PRESSIONE ARTERIOSA IN FUNZIONE DEL TEMPO CON LE SUE DERIVATE PRIMA E SECONDA

2.2.3 Siti e distretti di misura della pulse wave velocity

La PWV può essere a rigor di logica valutata tra due qualsiasi punti di un segmento dell'albero arterioso ma, al fine di ottenere delle stime con le quali effettuare dei confronti tra soggetti e identificare dei valori associabili a patologie cardiovascolari caratterizzanti tratti specifici del sistema circolatorio, i distretti più frequentemente sottoposti ad indagine per stimare valori di $PWV_{regionale}$ [23] [43] [44] sono:

- Segmento carotideo-femorale dal quale si ottiene il parametro PWV_{cf} ampiamente considerato dalla comunità scientifica come lo standard di riferimento per la PWV [45].
- Segmento carotideo-caviglia dal quale si ottiene il parametro PWV_{ca}
- Segmento brachiale-femorale dal quale si ottiene il parametro PWV_{bf}
- Segmento brachiale-caviglia dal quale si ottiene il parametro PWV_{ba}
- Segmento femorale-caviglia dal quale si ottiene il parametro PWV_{fa}
- Segmento carotideo-radiale dal quale si ottiene il parametro PWV_{cr}

I siti di misura più frequentemente utilizzati per effettuare il prelievo dei segnali al fine di calcolare la PWV regionale o locale sono:

- L'arteria carotide comune
- L'arteria femorale comune

- L'arteria brachiale
- L'arteria tibiale
- L'arteria radiale

2.2.4 Tecniche di misura della pulse wave velocity

La misura della PWV può avvenire mediante tecniche che sfruttano principi fisici differenti, tra queste possono essere citate la tonometria, la tecnica oscillometrica, la fotopletismografia, l'ultrasonografia doppler, la risonanza magnetica, la fonocardiografia ed infine la vibrocardiografia doppler (LDV) [21].

2.2.4.1 Tonometria

Il tonometro è uno dei dispositivi maggiormente utilizzati con il quale stimare la PWV in maniera non invasiva e viene spesso considerato come gold standard per validare altre tecniche di misura [46] [47] [48].

Il principio di funzionamento sul quale si basa il tonometro è quello di valutare la deformazione (*applanation*) della parete di un'arteria, supportata da una struttura ossea, dovuta alla propagazione dell'onda di pressione [49]; la forma d'onda acquisita va poi riscalata in base alla pressione arteriosa misurata contemporaneamente sul soggetto. Le due tipologie di tonometri maggiormente diffuse in commercio sono SphygmoCor® e Complior® (**Figura 2.6**).

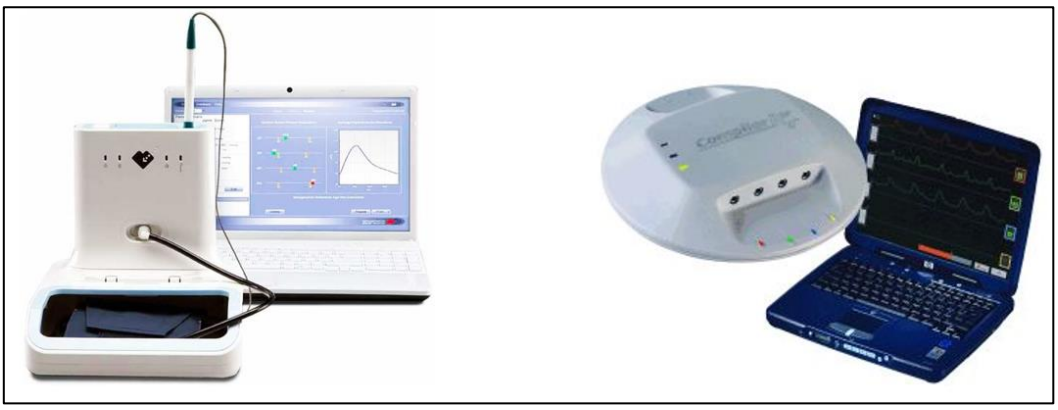


FIGURA 2.6 | LE DUE PRINCIPALI TIPOLOGIE DI TONOMETRI: LO SPHYGMOCOR® E IL COMPLIOR®

2.2.4.2 Tecnica oscillometrica

La tecnica oscillometrica consente di acquisire il segnale di pressione mediante l'ausilio di cuffie collocate solitamente intorno ad un arto o in corrispondenza del collo del paziente (**Figura 2.7**) [50] [51]. Queste cuffie vengono gonfiate nella fase iniziale ad una pressione superiore a quella sistolica del paziente (circa 150 mmHg o più) per poi farla diminuire di volta in volta a step di circa 5-10 mmHg, contemporaneamente il sensore presente nel dispositivo registra degli impulsi, dovuti al sangue che tenta di fluire nel vaso compresso dall'azione della cuffia, che variano di ampiezza in funzione della differenza tra la pressione esercitata dalla cuffia nei confronti del vaso e la pressione del flusso ematico.

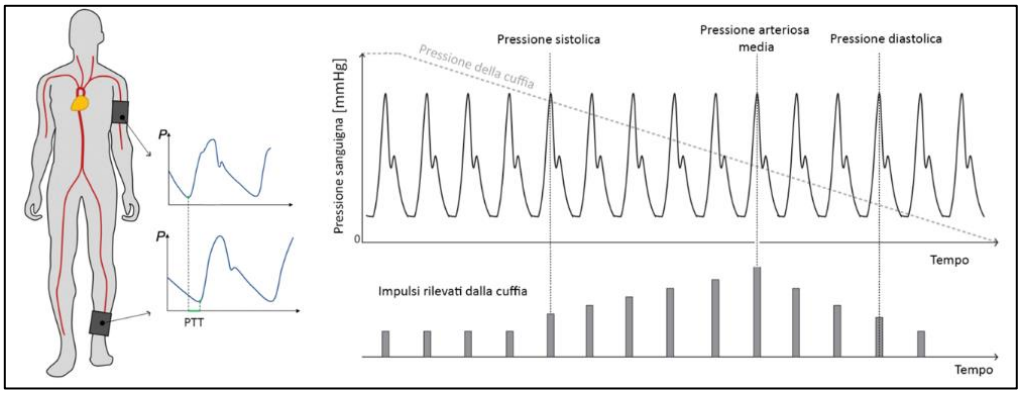


FIGURA 2.7 | CUFFIE PER RILEVARE LE ONDE DI PRESSIONE SIMULTANEAMENTE IN DUE DISTRATTI CON LA TECNICA OSCILLOMETRICA

È possibile combinare un trasduttore di pressione di tipo oscillometrico con un tonometro ciascuno rispettivamente collocato in un punto diverso dell'albero arterioso per valutare la PWV nel tratto che collega i due estremi; questo dispositivo è lo SphygmoCor Xcel ® [52].

2.2.4.3 Fotopletismografia (PPG)

Questa tecnica sfrutta dei sensori infrarossi che irradiano un vaso e valutano la quantità di radiazione riflessa dall'emoglobina presente nel sangue [53] , ciò fornisce un'indicazione del volume di sangue e di conseguenza della pressione istante per istante nel tratto di vaso irradiato dalla radiazione infrarossa (**Figura 2.8**). Questa tecnica può essere utilizzata in combinazione con il segnale elettrocardiografico (ECG) dal quale può essere valutato l'istante in corrispondenza dell'apertura della valvola aortica per calcolare il PTT [54] [55].

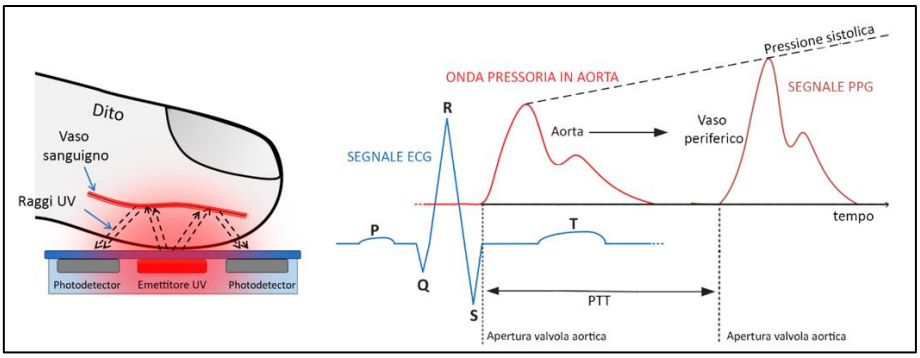


FIGURA 2.8 | DISPOSITIVO PER ACQUISIRE IL SEGNALE PPG ED UTILIZZO DEI SEGNALI ECG E PPG PER IL CALCOLO DEL PTT

2.2.4.4 Ultrasonografia doppler

L'ultrasonografia doppler per la stima della PWV (**Figura 2.9**) si basa sulla capacità di valutare le vibrazioni (spostamento) di un vaso dovute al flusso ematico mediante dei treni di onde meccaniche ad ultrasuoni (US) generate da opportune sonde a contatto con la cute, il dispositivo sfrutta un generatore US utilizzato in modalità M-mode (motion) [56] [57] [58].

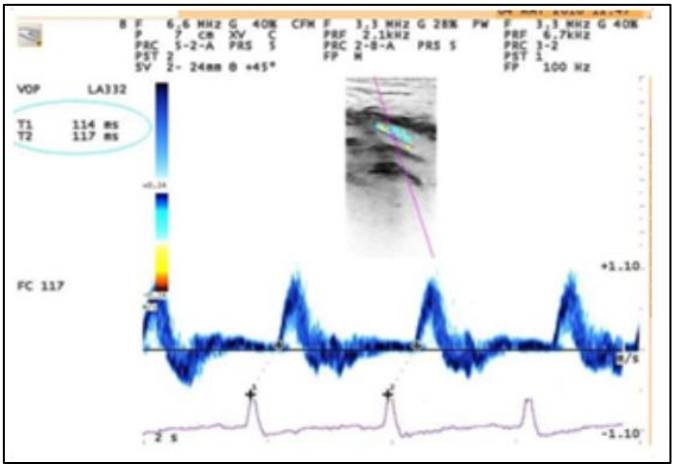


FIGURA 2.9 | MISURAZIONE DEL PTT NELL'ARTERIA FEMORALE CON UNA SONDA A ULTRASUONI ECG-GUIDATA

Un particolare utilizzo dell'ultrasonografia doppler per la stima della PWV è la tecnica doppler transcranica in cui viene collocata una prima sonda in corrispondenza dell'arteria cerebrale media e una seconda sonda nell'arteria carotide comune [59] .

2.2.4.5 Risonanza magnetica (MR)

Nel 1989 venne per la prima proposta la tecnica della risonanza magnetica (MR) per ottenere dei profili del flusso ematico in un vaso in funzione del tempo *flow-sensitive-MRI* [60] (**Figura 2.10**) dai quali è possibile estrare il parametro PWV fornendo opportune sequenze di impulsi elettromagnetici [61].

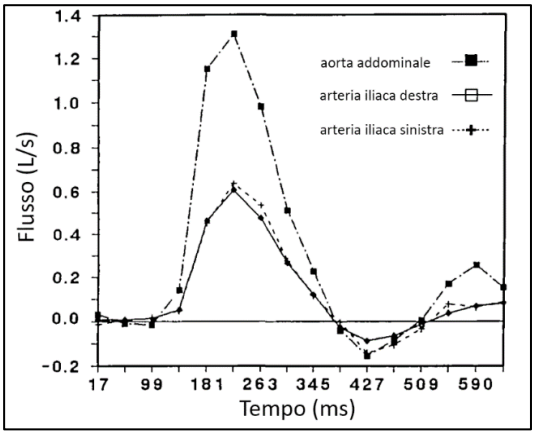


FIGURA 2.10 | FLUSSO CALCOLATO DA 16 FRAME DELLE MAPPE DI VELOCITÀ SU TRE VASI DI UN SOGGETTO SANO CON LA MR

2.2.4.6 Fonocardiografia (PCG)

L'azione del cuore, caratterizzata da processi meccanici come la contrazione stessa del muscolo, l'apertura delle valvole atrioventricolari ed aortica, genera delle onde meccaniche che si propagano a partire dalla cavità toracica le quali possono essere registrate con l'ausilio di opportuni trasduttori [62] . Questi segnali acustici consentono in particolar modo di stabilire in quali istanti avvengono rispettivamente la chiusura delle valvole tricuspide e mitrale (onda S1) e l'arresto delle valvole aortiche e polmonari (onda S2) (**Figura 2.11**), essi possono essere presi come riferimento per il calcolo del PTT.

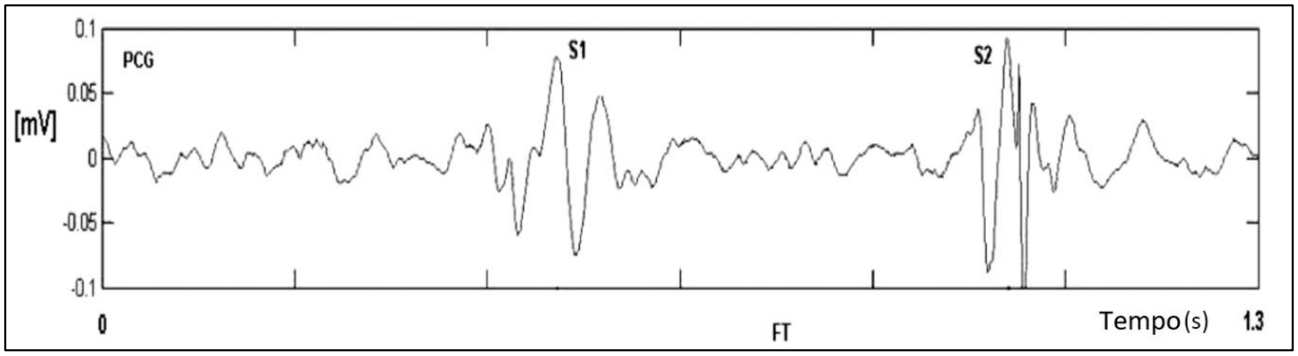


FIGURA 2.11 | SEGNALE PCG IN CUI SONO EVIDENZIATI I SUONI S1 E S2

2.2.4.7 Vibrometria laser doppler (LDV)

La vibrometria laser doppler (LDV) è una tecnica non invasiva in grado di rilevare e quantificare lo spostamento o la velocità di un oggetto target in movimento mediante l'ausilio di un interferometro laser [63] (**Figura 2.12**).

La relazione tra la lunghezza d'onda la frequenza che la caratterizza è la seguente (**2.5**), dove con c si indica la velocità della luce nel vuoto pari a circa $3 * 10^8\ m/s$.

$$\lambda = \frac{c}{f} \tag{2.5}$$

Il principio su cui si basa questa tecnica è l'effetto Doppler: quando un'onda incidente (in questo caso è un raggio laser), caratterizzata da una specifica lunghezza d'onda λ_1 ad una frequenza f_1 colpisce un bersaglio in movimento (la pelle sovrastante al vaso pulsante), essa viene riflessa verso un detector e, l'onda riflessa sarà caratterizzata da una frequenza f_2 e di conseguenza da una lunghezza d'onda λ_2 diverse da quella incidente [64] .

La variazione di frequenza Δf tra il raggio incidente e quello riflesso prende il nome di scarto doppler e si può esprimere (**2.7**) in funzione della velocità dell'oggetto in movimento v, della frequenza del raggio incidente f_1 e dell'angolo ϑ che si forma tra il vettore velocità e la retta d'azione lungo la quale viene emesso il raggio; con la relazione (**2.6**) si esprime proprio la proiezione del vettore velocità v lungo la direzione del laser.

$$v_\perp = v\cos(\vartheta) \tag{2.6}$$

$$\Delta f = \frac{2 * f_1 * v_\perp}{c} \tag{2.7}$$

Grazie alla elevata stabilità dei laser ad elevata frequenza, è possibile riconoscere spostamenti dell'ordine del picometro o del femtometro [65] pertanto le vibrazioni sub-millimetriche della pelle dovute alla pulsione dei vasi sottostanti sono facilmente individuabili.

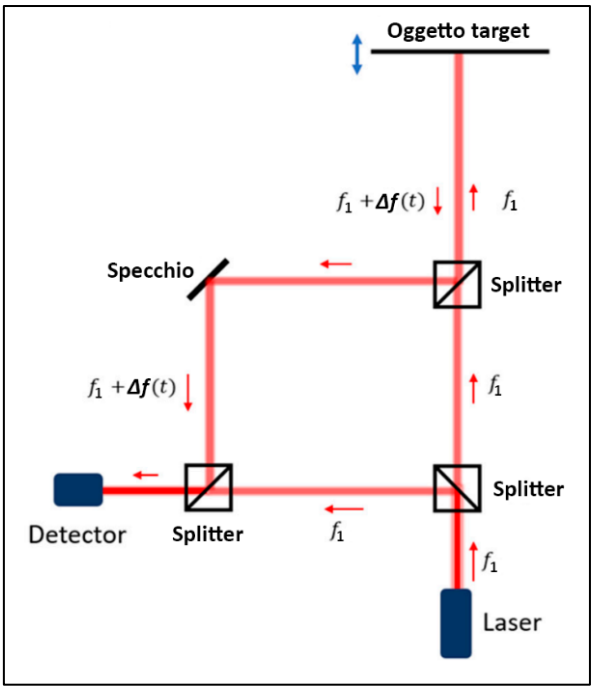


FIGURA 2.12 | SCHEMA DI PRINCIPIO DI UN INTERFEROMETRO LASER

Capitolo terzo – Materiali e metodi

Lo scopo di questo lavoro di tesi è stato quello di determinare e poi validare più tecniche di stima del parametro pulse wave velocity (PWV) a partire da acquisizioni effettuate secondo la tecnica vibrometria laser doppler (LDV) su cento soggetti per poi valutare quale tra queste risulti essere più precisa e accurata.

3.1 Presentazione del dispositivo laser doppler vibrometer (LDV) Cardis®

Il dispositivo utilizzato per acquisire i segnali, a partire dai quali sono stati poi implementati i diversi algoritmi per la stima della PWV, è il dispositivo CARDIS® che prende il nome dall'omonimo progetto finanziato da *Horizon 2020*, un programma Europeo di finanziamento della ricerca e dell'innovazione. Questo dispositivo è costituito da due manipoli ciascuno dei quali emette sei fasci laser aventi una lunghezza d'onda λ=1550 nm, distanti tra loro 5 mm, in grado di rilevare la vibrazione di un vaso al di sotto della cute dovuta al passaggio dell'onda di pressione (**Figura 3.1**).

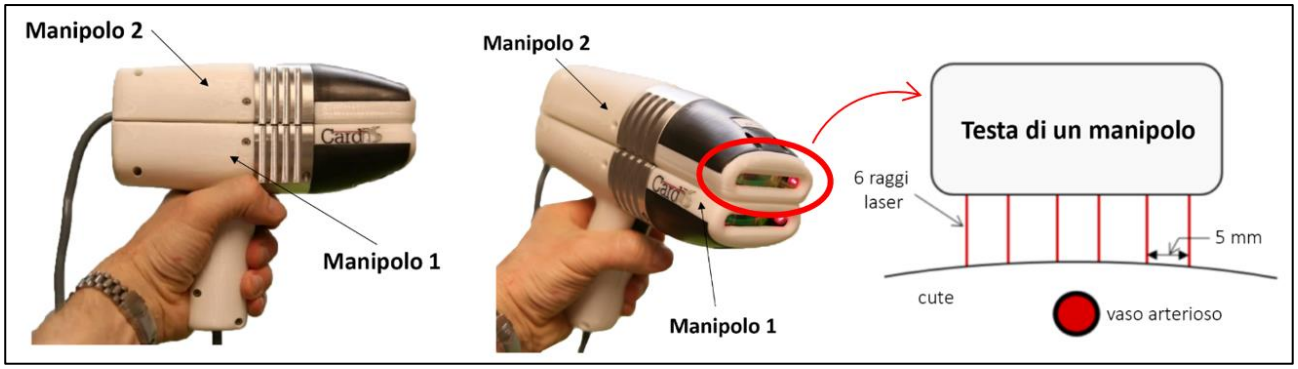


FIGURA 3.1 | PROTOTIPO DEL DISPOSITIVO MEDICO CARDIS VISTO DA DUE PUNTI DI VISTA E RAPPRESENTAZIONE ILLUSTRATIVA DEI 6 RAGGI LASER CHE SI INTERFACCIANO SULLA CUTE SOVRASTANTE IL VASO ARTERIOSO IN ESAME

Per facilitare il fenomeno di riflessione della radiazione infrarossa, vengono collocati in prossimità della porzione di cute del soggetto irradiata due nastri retroriflettenti, ciascun manipolo è inoltre dotato di un distanziatore per garantire la corretta messa a fuoco e una maggior stabilità.

Con questo dispositivo è possibile effettuare sia misurazioni nel tratto carotideo-femorale, mantenendo separati i due manipoli collocati in corrispondenza dei due estremi dell'albero vascolare da esaminare, sia misurazioni in un breve tratto carotideo andando ad unire i manipoli che rimarranno distanziati di 5 cm per valutare la propagazione locale dell'onda sfigmica nella carotide [66] [67] (**Figura 3.2**).

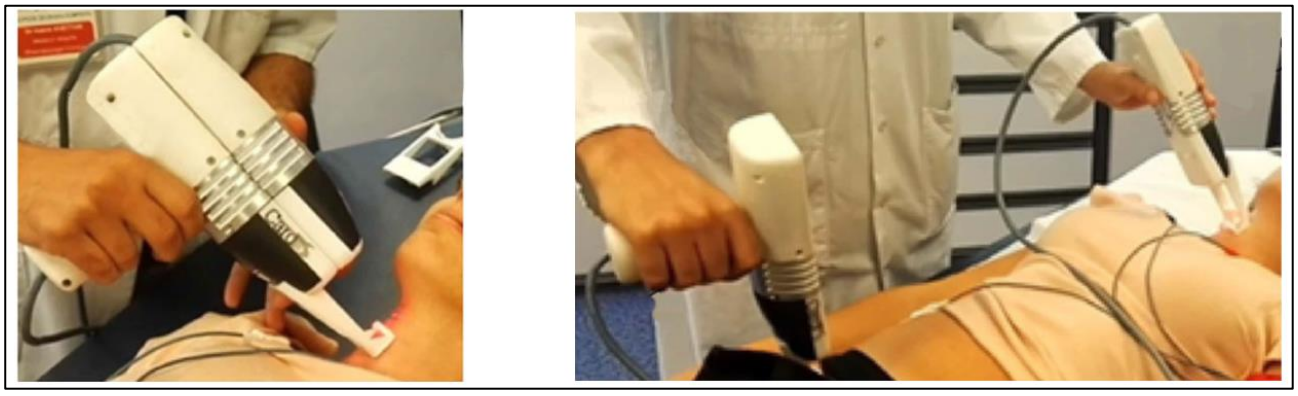


FIGURA 3.2 | SETUP SPERIMENTALE PER UN'ACQUISIZIONE CAROTIDEA-CAROTIDEA, A SINISTRA, E UNA CAROTIDEO-FEMORALE A DESTRA CON IL DISPOSITIVO CARDIS®

3.2 Descrizione della popolazione esaminata e processamento dei dati acquisiti

Le acquisizioni con il dispositivo Cardis® sono state effettuate nel 2018 a Parigi presso l'Hopital European Georges Pompidou su una corte di 100 pazienti aventi età compresa tra i 19 e gli 85 anni che presentavano una ipertensione compresa tra lo stadio lieve e lo stadio 3 [68]. Le registrazioni, della durata di venti secondi ciascuna effettuate con una frequenza di campionamento di 100_kHz, poi demodulate e sottocampionate a 10_kHz, sono state effettuate nel tratto carotideo-femorale in particolar modo i due cerotti retroriflettenti sono stati collocati rispettivamente sulla pelle in corrispondenza della arteria carotide comune destra (anteriormente al muscolo sternocleidomastoideo) e nell'arteria femorale (vicino al legamento inguinale) in direzione ortogonale all'asse del vaso [66] . Sono state effettuate in tutto di 410 registrazioni, pertanto nel database, ogni soggetto ha associata più di una traccia. Contemporaneamente all'acquisizione LDV, è stato anche effettuato un prelievo del segnale elettrocardiografico (ECG) con frequenza di campionamento di 100 kHz; per ogni paziente, è stata inoltre effettuata una stima della PWV con un tonometro, questo dato verrà utilizzato in seguito, nella fase di validazione, come gold standard di riferimento.

Al fine di voler stimare il pulse transist time (PTT) come il ritardo tra la rilevazione di un fronte d'onda pressorio tra i due punti di misura, è stato necessario stabilire un punto fiduciale da utilizzare per calcolare il ritardo tra le onde rilevate nei due distretti. Come già proposto in molti studi in letteratura [69], il punto preso in considerazione è il piede dell'onda pressoria, in concomitanza

all'apertura della valvola aortica; il rilevamento di questo istante temporale, considerando però il segnale rilevato dal dispositivo LDV ossia quello di spostamento (displacement), è difficile da localizzare, motivo per cui, al fine di individuarlo con più semplicità, si è preferito lavorare sulla derivata seconda del segnale, l'accelerazione, la quale presenta un picco facilmente identificabile (**Figura 3.3**).

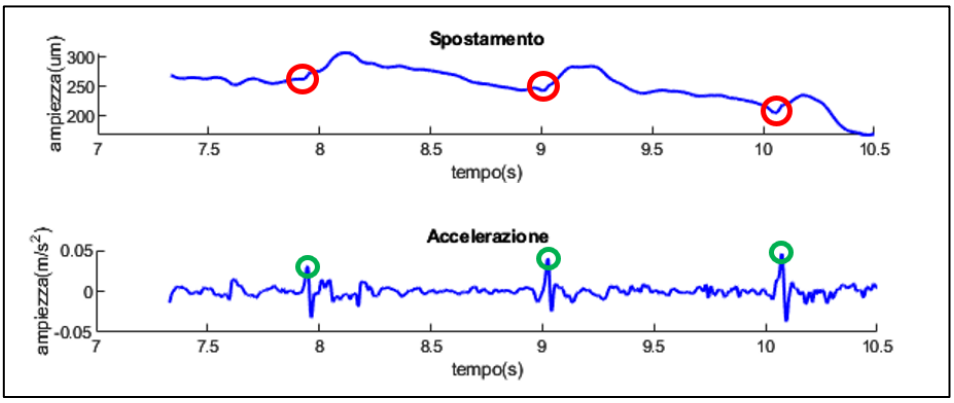


FIGURA 3.3 | INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI FIDUCIALI NEL SEGNALE DI SPOSTAMENTO (EVIDENZIATI IN ROSSO) E NEL SEGNALE DI ACCELERAZIONE (EVIDENZIATI IN VERDE)

A tal proposito, nell'ambiente di lavoro MATLAB® in cui è avvenuto l'intero processo di analisi dei segnali, è stato implementato un filtro passabasso IIR di Chebyschev di tipo 1 e di ordine 6 con frequenza di taglio a 30Hz e tale filtro (utilizzato nella modalità a doppia passata per compensare la non linearità della fase) è stato utilizzato in cascata alla funzione gradiente, che deriva il segnale in funzione del tempo.

È stato quindi effettuato un primo filtraggio sul segnale di displacement il quale poi è stato derivato una prima volta per ottenere il segnale di velocità che, una volta filtrata, è stata derivata per una seconda volta così da ottenere il segnale di accelerazione anch'esso filtrato al termine.

Questa operazione è stata ripetuta per tutti e dodici i canali (sei canali del manipolo carotideo e sei canali del manipolo femorale) per tutte e 410 le registrazioni del dataset in modo tale da ricavare per ogni registrazione i dodici segnali di accelerazione.

3.3 Implementazione delle tecniche per la stima dei pulse transist time (PTT) e pulse wave velocity (PWV)

Nota la lunghezza del segmento carotideo-femorale per ogni soggetto, la stima della PWV si riduce di fatto ad una stima del PTT. Partendo dai segnali LDV di accelerazione, ottenuti derivando in funzione del tempo quelli di spostamento (displecement), sono stati individuati quei punti fiduciali corrispondenti al piede delle singole onde di pressione che testimoniano il transito delle stesse nei due siti di osservazione con i quali sarà possibile stimare un PTT.

3.3.1 Metodi per l'individuazione dei punti fiduciali nei segnali di accelerazione

Per identificare i picchi nei segnali di accelerazione appena ricavati, sono stati pensati due metodi diversi: un metodo semi-manuale, in cui si sfrutta un algoritmo già presente nell'ambiente di sviluppo (la funzione findpeaks) in grado di individuare in autonomia i picchi nei segnali di accelerazione, e un metodo semi-automatico, in cui l'identificazione dei picchi è stata effettuata mediante la tecnica del Template Matching, già proposta da Seoni et al. [67], in due versioni, in cui si va a ricercare, in uno specifico segnale, la presenza di una forma d'onda nota a priori (il template). Al fine di ridurre il peso computazionale degli algoritmi, è stato deciso di sotto-campionare i segnali di accelerazione a 1kHz.

3.3.1.1 Algoritmo semi automatico del Template Matching

3.3.1.1.1 La creazione dei template

Per prima cosa sono stati generati, a partire dalle registrazioni del dataset, due segnali template che verranno in seguito utilizzati rispettivamente uno sui canali carotidei e uno sui canali femorali, la procedura seguita per creare entrambi i template è la medesima ed impiega l'utilizzo dei segnali ECG per suddividere ciascuna registrazione di ogni paziente in epoche.

Per prima cosa, al fine di non utilizzare quelle registrazioni sulle quali la suddivisione delle stesse in epoche fosse compromessa dalla scarsa qualità del segnale ECG, sono state prese in considerazione solamente quelle nelle quali fossero identificabili nei relativi segnali elettrocardiografici almeno 18 battiti (18 picchi R), con questo criterio di selezione sono state prese in considerazione 397 registrazioni delle 410 totali. Per l'identificazione dei picchi R nei segnali ECG è stata utilizzata la funzione di MATLAB findpeaks, con due criteri:

1. Distanza tra due picchi successivi maggiore di 500 ms.
2. Ampiezza dei picchi maggiore o uguale al 60% del picco massimo del segnale ECG.

Stabiliti gli istanti temporali dei picchi R, tutti e dodici i segnali di accelerazione di ogni registrazione sono stati suddivisi in un numero di epoche pari a N-1 dove N è il numero di picchi R.

Per ogni epoca di ogni canale, è stato calcolato il coefficiente di correlazione di Pearson (con la funzione *corrcoef*) con le restanti epoche dello stesso canale, questo parametro statistico è in grado di esprimere un'eventuale relazione di linearità tra due segnali: esso può assumere un valore compreso tra +1 e -1 in cui il segno + sta a simboleggiare una correlazione positiva (i segnali crescono o decrescono di pari passo) mentre il segno – una correlazione negativa (quando un segnale cresce l'altro decresce e viceversa), il modulo di tale indice esprime la forza del legame tra i segnali quindi un valore prossimo a ± 1 simboleggia un forte legame di una correlazione positiva o negativa a seconda del segno.
Questi coefficienti, per ogni canale, sono stati collezionati in delle matrici quadrate N x N dove questa volta con N viene indicato il numero di epoche nelle quali sono stati suddivisi i segnali di accelerazione; chiaramente, sulla diagonale principale di ogni matrice il coefficiente di Pearson calcolato è pari a +1 perché ogni epoca correla perfettamente con sé stessa.

Per ogni epoca, è stata valutata la media dei coefficienti di Pearson tra sé stessa con le restanti allo scopo di andare ad individuare quali fossero quelle epoche che avessero una forma d'onda estremamente differente dalle altre e, qualora presenti, escluderle. Facendo sempre riferimento all'articolo di Seoni et al. [67], è stato selezionato come valore soglia un coefficiente di Pearson pari a +0.74 per i canali carotidei e +0.56 per i canali femorali in questo modo, per ogni canale, sono state eliminate quelle epoche di segnale che avessero una media del coefficiente di Pearson al di sotto di 0.74 o 0.56 con le restanti a seconda del manipolo.

Per ogni canale, considerando solamente quelle epoche che soddisfano il criterio sopra riportato, è stata effettuata l'operazione di averaging così da ottenere per ogni registrazione 12 forme d'onda mediate, una per ogni canale; ripetendo questa procedura per tutte e 410 le registrazioni e mediando al termine le forme d'onda per ogni canale, si sono ottenute 12 forme d'onda complessive. Per ottenere infine un template da associare alla regione carotidea e uno da associare alla regione femorale, sono state mediate le prime sei forme d'onda ottenute rispettivamente a partire dai sei canali carotidei e le ultime sei forme d'onda ottenute a partire dai sei canali femorali, le due forme d'onda finali che sono state utilizzate nell'algoritmo del Template Matching sono riportate di seguito (**Figura 3.4**).

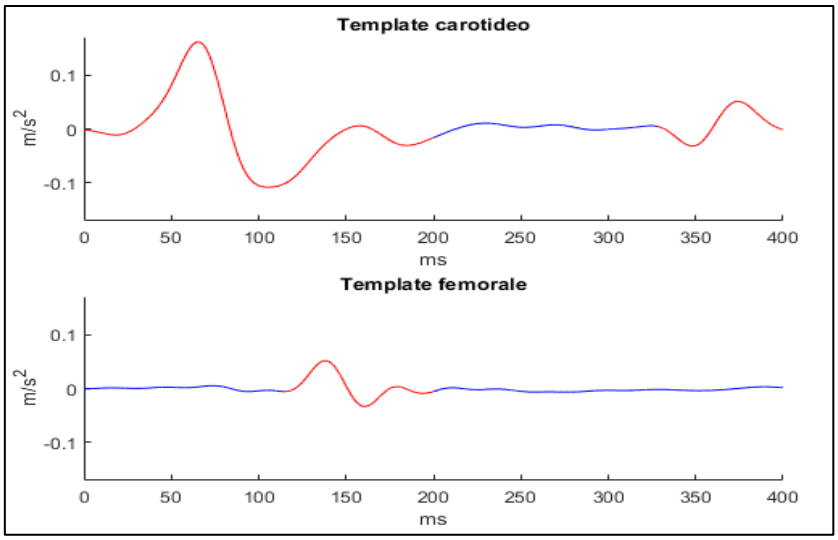


FIGURA 3.4 | RAPPRESENTAZIONE DEI TEMPLATE DEI SEGNALI DI ACCELERAZIONE OTTENUTI

Come si può ben notare nel template associato ai canali carotidei, sono ben visibili due forme d'onda (evidenziate in rosso): la prima è associabile al flesso in corrispondenza del piede dell'onda pressoria mentre la seconda, che nel template si trova approssimativamente tra i 300 e i 400 ms, è invece associabile al dicrotic notch ossia alla chiusura della valvola aortica. Questo secondo picco, del tutto irrilevante nel template femorale, rischia di causare problemi nell'algoritmo del Template Matching poiché, sebbene sia di ampiezza inferiore rispetto alla prima forma d'onda, è morfologicamente simile, quindi, potrebbe essere fonte di errore nel momento in cui si andrà a valutare la correlazione tra il template e il segnale di accelerazione. Per ovviare a questo problema si è deciso di considerare il template carotideo solamente nei suoi primi 200 ms mentre, per il template femorale si è considerato il template di durata pari a 400 ms.

3.3.1.1.2 Implementazione dell'algoritmo Template Matching – Prima versione

Una volta ricavate le due forme d'onda, è stato possibile procedere con l'individuazione dei picchi su tutti i segnali di accelerazione nel seguente modo: in maniera iterativa è stato valutato il coefficiente di correlazione di Pearson tra il template e il segnale di accelerazione all'interno di una finestra temporale (fatta traslare di un campione per volta ad ogni iterazione) con la funzione di Matlab *corrcoef* in modo da associare un valore di coefficiente di Pearson ad ogni campione del segnale in esame. Sempre facendo riferimento ai valori di coefficiente di Pearson utilizzati nell'articolo scientifico di Seoni et al. [67] sono stati scelti dei valori soglia per identificare i picchi sui segnali di correlazione.

In particolar modo, i criteri imposti sono i seguenti:

- Soglia = 0.56 per i segnali del manipolo collocato nella regione femorale.
- Soglia = 0.74 per i segnali del manipolo collocato nella regione femorale.
- Intervallo di tempo tra due picchi consecutivi non inferiore a 500 ms.

I picchi identificati nei segnali di correlazione individuano quegli istanti temporali in cui è stata valutata una correlazione piuttosto elevata tra template e segnale in esame, al fine di riportarli in maniera corretta nei segnali di accelerazione si è tenuto conto di un fattore di traslazione dovuto al fatto che i picchi, nei segnali di correlazione, fanno riferimento alla posizione della finestra temporale definita a partire dal primo campione del template, motivo per cui, dato che gli istanti di interesse sono invece i picchi, è stata effettuata una traslazione temporale dei loro indici per un numero di campioni pari alla posizione del picco all'interno del template (**Figura 3.5**).

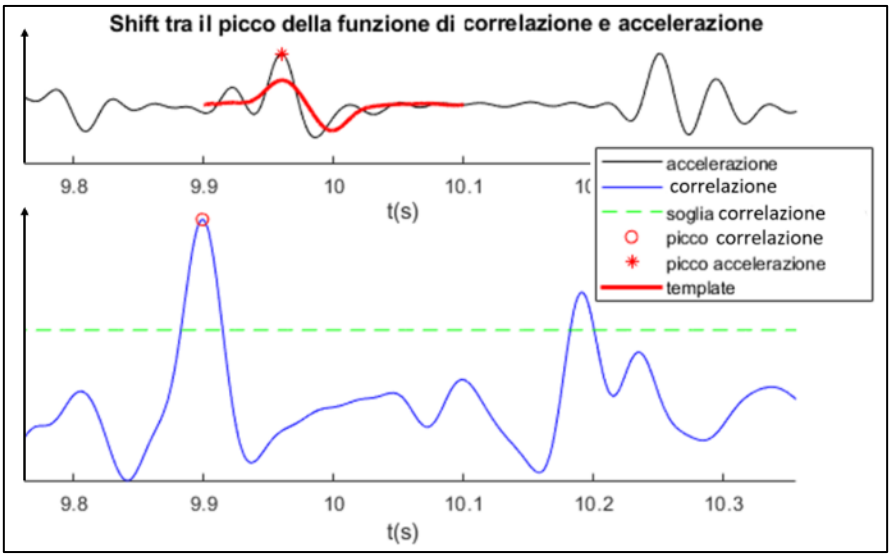


FIGURA 3.5 | RAPPRESENTAZIONE DELLA DIFFERENZA DEGLI ISTANTI TEMPORALI TRA I PICCHI INDIVIDUATI DAL SEGNALE DI CROSS-CORRELAZIONE E L'EFFETTIVO PICCO NEL SEGNALE DI ACCELERAZIONE

Per essere sicuri che i picchi nei segnali di correlazione individuassero effettivamente dei picchi anche nel segnale di accelerazione è stato introdotto un criterio di selezione (**3.1**): i picchi individuati nei segnali di accelerazione, opportunatamente shiftati in base al canale, devono corrispondere ad un punto del segnale che abbia un'ampiezza maggiore o uguale all'80% del valor medio del segnale stesso preso in modulo (**Figura 3.6**).

$$accelerazione(picco_i) \geq 0.8 * \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}|accelerazione[i]| \qquad (3.1)$$

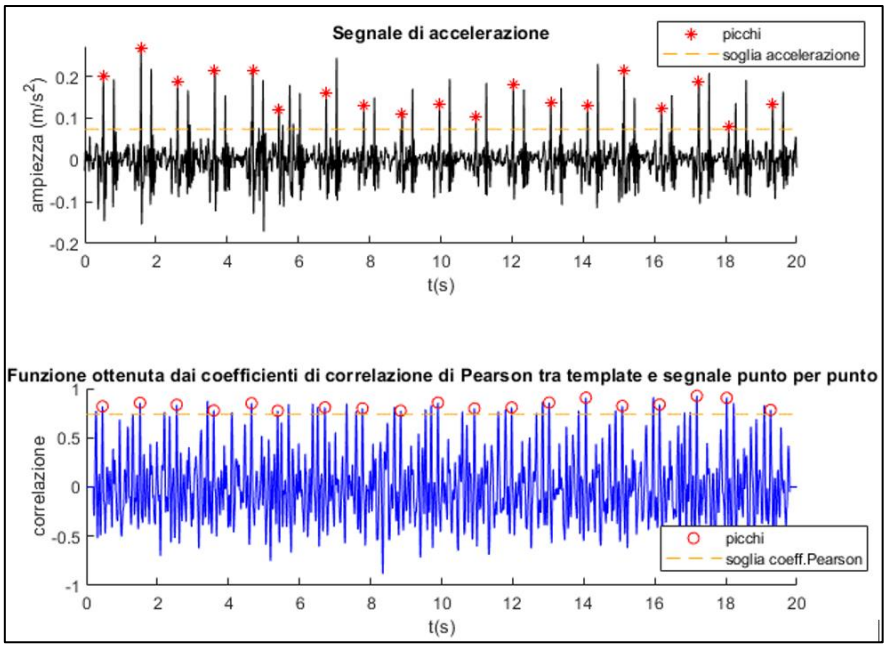


FIGURA 3.6 | RAPPRESENTAZIONE DEI PICCHI NEI RISPETTIVI SEGNALI DI ACCELERAZIONE E CROSS-CORRELAZIONE

3.3.1.1.3 Implementazione dell'algoritmo Template Matching – Seconda versione

Una volta ricavate le due forme d'onda, è stato possibile procedere con l'individuazione dei picchi su tutti i segnali di accelerazione nel seguente modo (**Figura 3.7**): in maniera iterativa è stata valutata la correlazione tra il template e una finestra temporale del segnale di accelerazione di durata pari a quella del template stesso con la funzione di Matlab *xcorr*, la quale esegue lo *zero-padding* in testa e in coda al segnale più corto e poi valuta la correlazione shiftando a passi di un campione alla volta un segnale rispetto all'altro. Così facendo la funzione di cross-correlazione (**3.2**), prendendo in considerazione solamente i ritardi positivi, è un segnale di lunghezza pari a quella del segnale di accelerazione.

$$xcorr_{x,y}[n] = \sum_{m=-\infty}^{\infty} x^*[m]y[n+m] \tag{3.2}$$

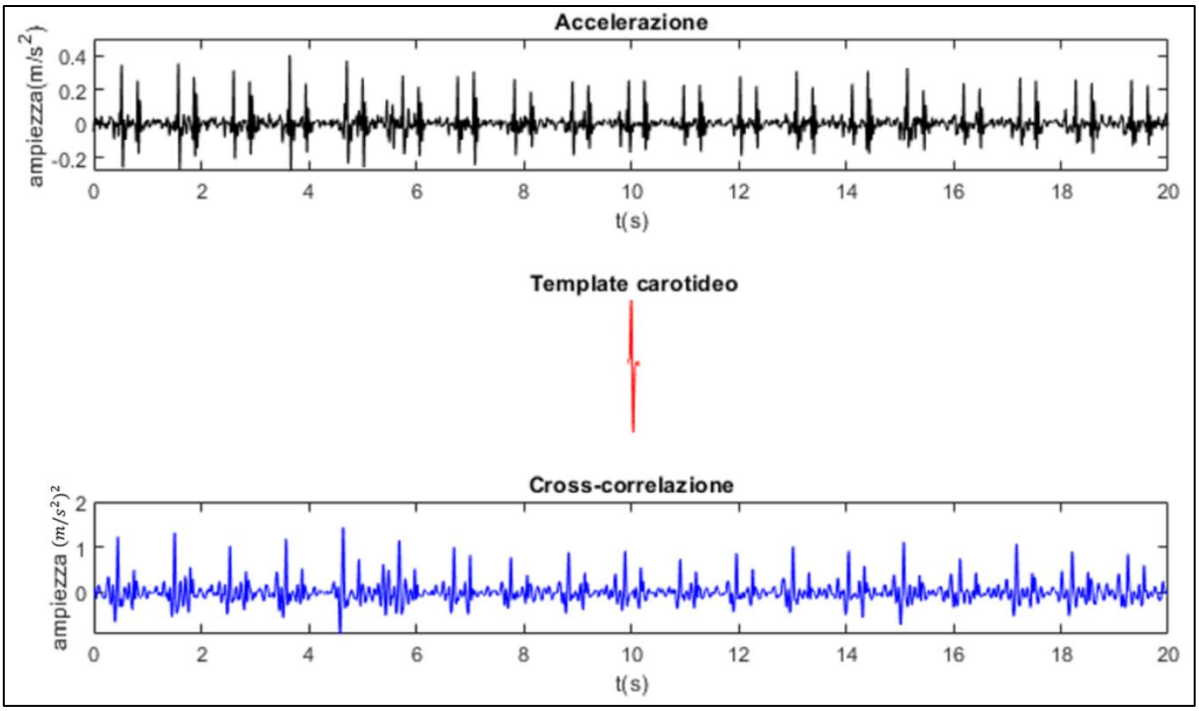


FIGURA 3.7 | SEGNALE DI CROSS-CORRELAZIONE OTTENUTO CON LA TECNICA DEL TEMPLATE MATCHING A PARTIRE DAL SEGNALE DI ACCELERAZIONE E DAL SUO RELATIVO TEMPLATE

Ottenuto il segnale di cross-correlazione tra un segnale di accelerazione e il template a questo punto si è provveduto all'individuazione dei suoi picchi, per fare ciò è stata definita una soglia (**3.3**), come limite inferiore, pari alla media del valore assoluto del segnale di cross-correlazione (Xcorr) moltiplicata per un coefficiente numerico K che sarà oggetto di indagine nella fase di validazione; per come è definita, questa soglia è un valore che varia da segnale a segnale.

$$soglia = K * \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}\left|Xcorr_{x,y}[i]\right| \tag{3.3}$$

Indentificata la soglia, è stato aggiunto un ulteriore criterio al fine di individuare i picchi in maniera coerente: due picchi consecutivi devono essere tra loro distanti almeno 500 ms, questo criterio è stato inserito per evitare di considerare picchi dovuti al rumore sul segnale acquisito.

A questo punto, sempre con la funzione findpeaks, sono stati individuati quei picchi nel segnale di cross-correlazione che avessero un valore maggiore o uguale alla soglia, distanti almeno 500 ms (**Figure 3.8** *e* **3.9**).

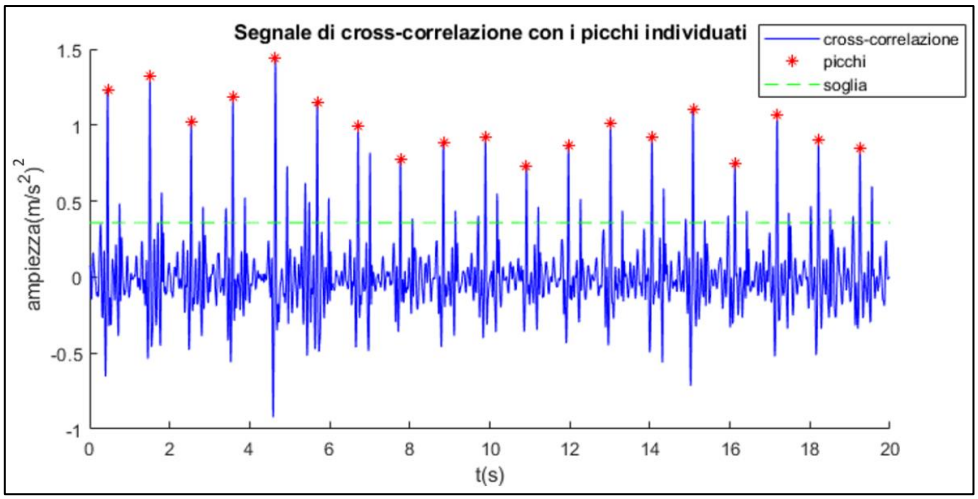


FIGURA 3.8 | PICCHI INDIVIDUATI NEL SEGNALE DI CROSS-CORRELAZIONE CON LA FUNZIONE FINDPEAKS UTILIZZANDO COME LIMITE INFERIORE UN VALORE SOGLIA CALCOLATO A PARTIRE DALL'AMPIEZZA DEL SEGNALE STESSO

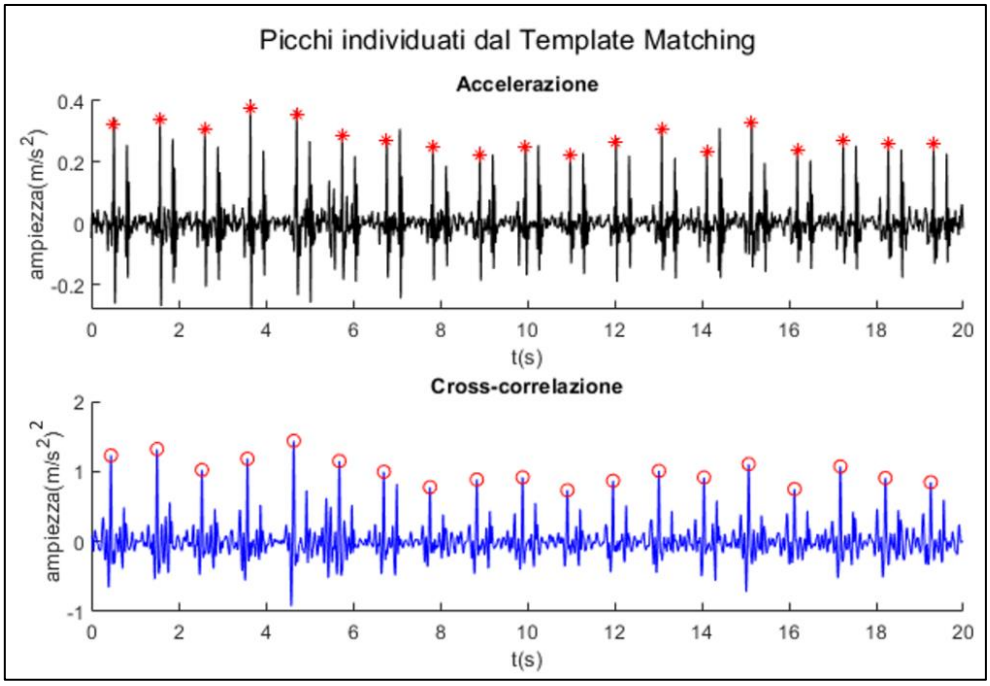


FIGURA 3.9 | RAPPRESENTAZIONE DEI PICCHI NEI RISPETTIVI SEGNALI DI ACCELERAZIONE E CROSS-CORRELAZIONE

3.3.1.2 Algoritmo semi manuale: funzione findpeaks di Matlab®

Un secondo metodo per individuare i picchi nei segnali di accelerazione è quello di utilizzare direttamente la funzione *findpeaks* sui segnali di accelerazione impostando opportuni criteri; è stata impostata una soglia inferiore, come fatto precedentemente per i segnali di cross-correlazione, pari alla media del valore assoluto del segnale di accelerazione moltiplicata per un coefficiente numerico

K e un ulteriore criterio inserito è stato quello di considerare picchi distanti tra loro almeno 500 ms (**Figura 3.10**).

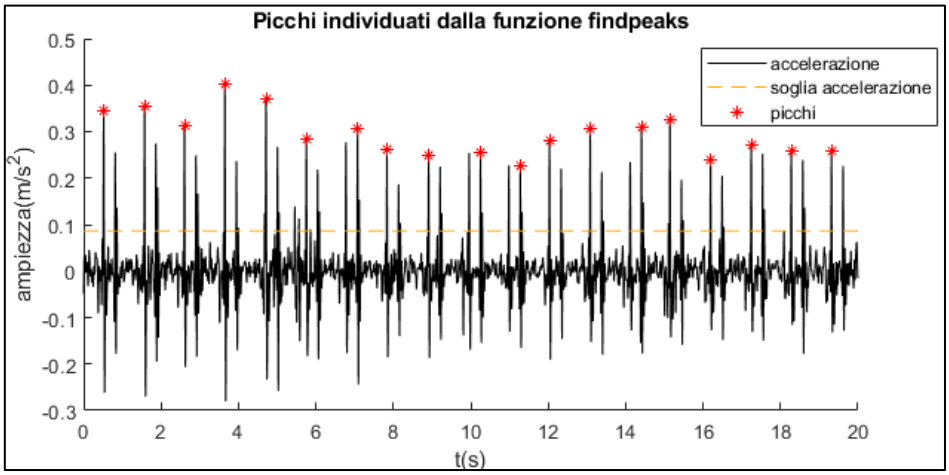


FIGURA 3.10 | PICCHI INDIVIDUATI DIRETTAMENTE NEL SEGNALE DI ACCELERAZIONE CON LA FUNZIONE FINDPEAKS IMPOSTANDO COME LIMITE INFERIORE UN VALORE SOGLIA CALCOLATO A PARTIRE DAL SEGNALE STESSO

3.3.2 Modalità per la stima del pulse transist time (PTT) per ogni battito individuato da una coppia di canali

Tenendo presente che per ogni registrazione si hanno a disposizione 12 canali, i primi sei sono relativi alla regione carotidea mentre gli ultimi sono sei relativi a quella femorale, è immediato calcolare che le possibili coppie di canali costituite rispettivamente da un canale carotideo ch_c e uno femorale ch_f sono in tutto 36 (**Figura 3.11**).

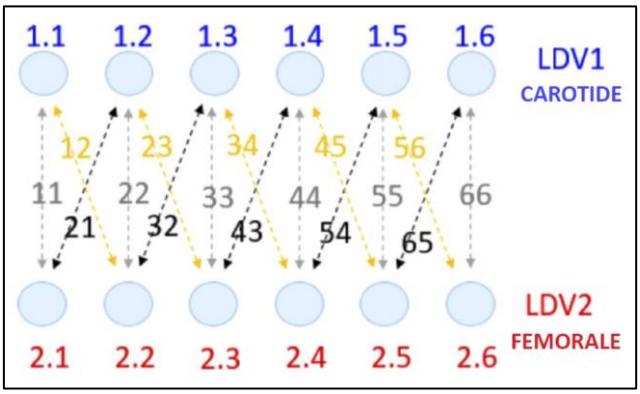


FIGURA 3.31 | SCHEMATIZZAZIONE DELLE 36 POSSIBILI COPPIE DI CANALI CAROTIDEO-FEMORALI OTTENIBILI A PARTIRE DAI SEI CANALI DI CIASCUN MANIPOLO

L'identificazione di una coppia di picchi, associata allo stesso battito, viene effettuata considerando le seguenti specifiche:

1. In un battito, il picco del segnale carotideo anticipa sempre quello del canale femorale per via del fatto che l'onda pressoria che si genera a partire dal ventricolo sinistro, giunge nell'arteria carotide in minor tempo minore rispetto a quanto impeghi per arrivare nell'arteria femorale.
2. Considerata la distanza in gioco tra i due manipoli, l'intervallo di tempo che intercorrerà tra i due picchi sarà sicuramente inferiore ai 200 ms quindi l'intervallo di tempo tra i due picchi dovrà essere inferiore ai 200 ms.

La stima del PTT associato ad ogni battito individuato da una coppia di canali è stata effettuata con tre modalità diverse: con la tecnica della distanza tra punti (o distanza tra picchi), con quella della cross-correlazione e con la tecnica dello spectral matching.

3.3.2.1 Stima del PTT come distanza tra punti

Data una coppia di canali, a partire da ogni picco del canale carotideo ch_c , è stata considerata una finestra temporale ampia 200 ms a partire dal picco, all'interno della quale si è andati a ricercare l'eventuale presenza di un picco nel canale femorale ch_f (**Figura 3.12**).

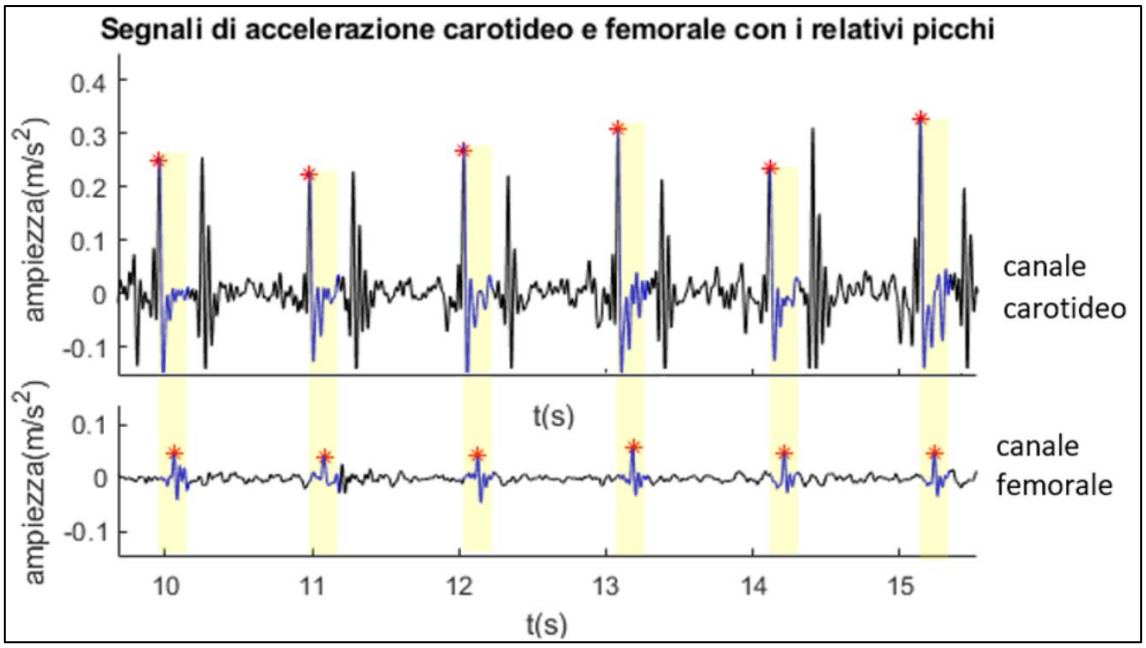


FIGURA 3.42 | INDIVIDUAZIONE DELLE COPPIE DI PICCHI CORRISPONDENTI ALLO STESSO BATTITO REGISTRATO NEI DUE DISTRETTI, IN GIALLO SONO RAPPRESENTATE LE FINESTRE TEMPORALI DI 200 MS GENERATE IN CORRISPONDENZA DI CIASCUN BATTITO DEL CANALE CAROTIDEO

Per ogni coppia di battiti individuata è stato calcolato un $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ (**3.4**) come la differenza tra l'istante temporale in corrispondenza del battito i-esimo del canale femorale ch_f e l'istante temporale in corrispondenza del battito i-esimo relativo al canale carotideo ch_c.

$$PTT_{ch_c,ch_f,i} = t_{ch_f,i} - t_{ch_f,i} \tag{3.4}$$

3.3.2.2 Stima del PTT con la funzione di cross-correlazione

Un altro metodo per stimare un PTT da attribuire ad ogni coppia di battiti individuati a partire da una coppia di canali è stato quello di valutare la cross-correlazione tra i due segnali di accelerazione all'interno di una stessa finestra temporale opportunatamente centrata; in particolar modo, per ogni picco del segnale carotideo (per il quale è possibile individuare nei 200 ms successivi un picco anche nel segnale femorale), è stata considerata una finestra temporale lunga 401 ms, 200 ms prima del picco e 200 ms dopo il picco all'interno della quale è stata valutata la funzione di cross-correlazione tra le due epoche di segnale (**Figura 3.13**).

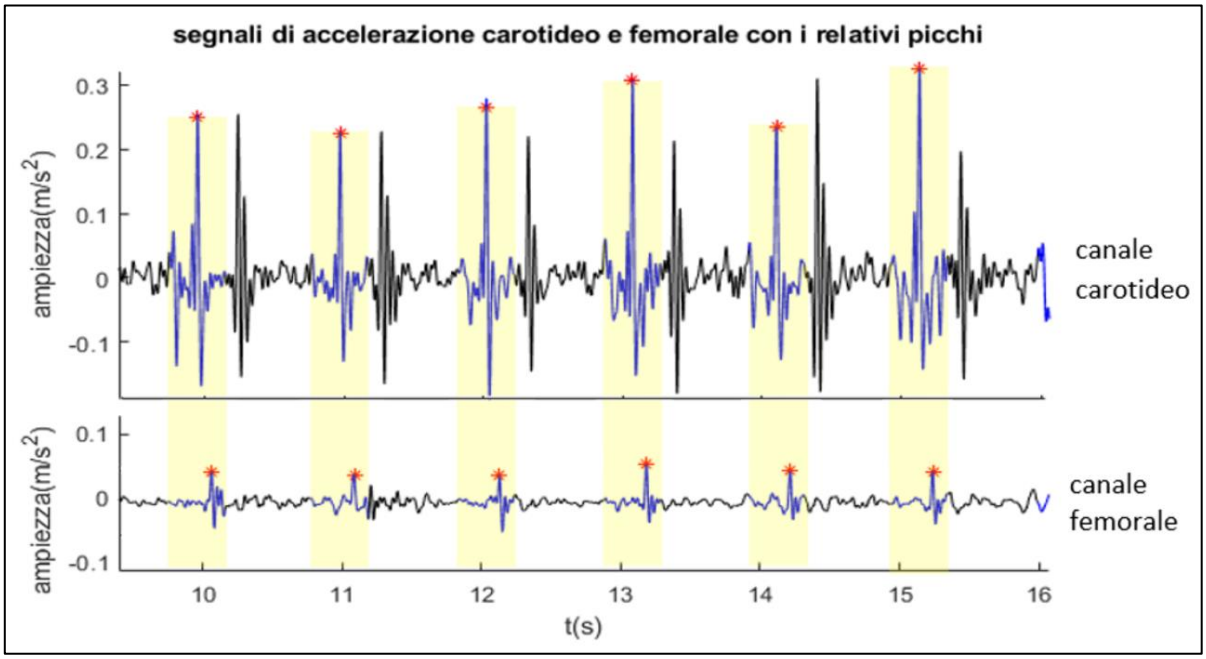


FIGURA 3.13 | COPPIE DI PICCHI CORRISPONDENTI ALLO STESSO BATTITO, IN GIALLO SONO RAPPRESENTATE LE FINESTRE TEMPORALI DI 400 MS CENTRATE IN CORRISPONDENZA DI CIASCUN BATTITO DEL CANALE CAROTIDEO, IN BLU SONO RAPPRESENTATE LE EPOCHE DEI DUE SEGNALI ALL'INTERNO DI CIASCUNA FINESTRA

Per ciascuna coppia di battiti individuata è stata quindi calcolata la funzione di cross-correlazione tra le due epoche di 400 ms ciascuna poi è stato valutato per quale ritardo, espresso in numero di campioni, la funzione di correlazione raggiungesse il suo picco massimo (**Figura 3.14**).

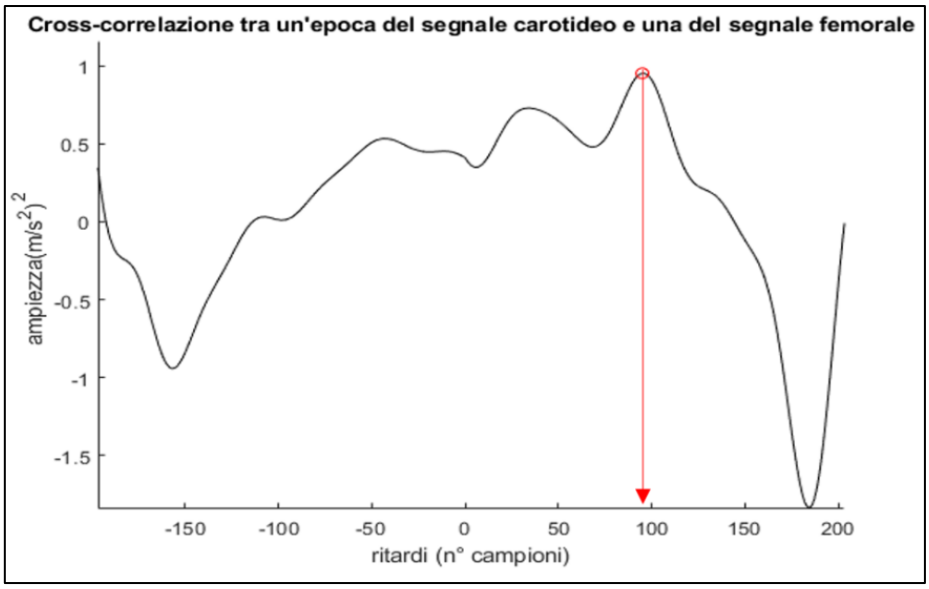


FIGURA 3.54 | FUNZIONE DI CROSS-CORRELAZIONE RAPPRESENTATA IN FUNZIONE DEI RITARDI (ESPRESSI IN NUMERO DI CAMPIONI) IN CUI È EVIDENZIATO IL SUO VALORE MASSIMO IN CORRISPONDENZA DEL QUALE VIENE CALCOLATO IL RELATIVO RITARDO CHE VERRÀ ASSEGNATO A CIASCUN BATTITO INDIVIDUATO DALLA COPPIA DI CANALI

Convertendo questo ritardo in secondi, moltiplicandolo per 1/fs, dove fs = 1kHz è la frequenza di campionamento, si ottiene il $PTT_{ch_c,ch_f,i}$.

3.3.2.3 Stima del PTT con lo spectral matching

In maniera del tutto analoga rispetto a quanto fato per la tecnica della cross-correlazione anche con quest'altra tecnica, a partire da ogni picco individuato nel canale carotideo, si è considerata una finestra temporale di 401 ms centrata su di esso ed è stato valutato il ritardo tra le due epoche di segnale all'interno della finestra con lo spectral matching. Con questo algoritmo si calcola un funzionale di errore e^2 (**Figura 3.15**) nel dominio della frequenza come mostrato nella formula (**3.5**) che è funzione del modulo quadro della differenza delle trasformate di Fourier X_1 e X_2 dei due segnali e di un fattore di ritardo φ. Il funzionale e^2, per come è definito, è un'energia e questa, per il teorema di Parseval, può essere calcolata in maniera equivalente sia nel dominio del tempo che nel dominio della frequenza, motivo per cui il coefficiente di ritardo Θ definito come il valore di Φ tale per cui e^2 è pari al suo valore minimo, coincide con il fattore di traslazione (ossia con il ritardo) tra i due segnali nel dominio del tempo. Per ogni coppia di battiti identificata assegno un $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ pari al ritardo Θ moltiplicato per il reciproco della frequenza di campionamento fs.

$$e^2 = \frac{1}{N}\sum_{k=0}^{N}\left|X_1(k)e^{\frac{2j\pi k\Phi}{N}} - X_2(k)\right|^2 \tag{3.5}$$

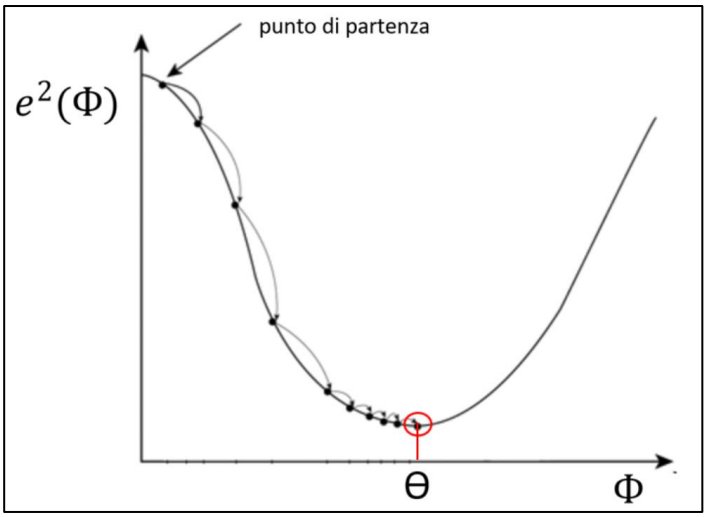


FIGURA 3.65 | FUNZIONALE DI ERRORE e^2 RAPPRESENTATO IN FUNZIONE DEL RITARDO Φ, È RAPPRESENTATO CON DELLE FRECCE IL METODO DI NEWTON CON IL QUALE CI SI SPOSTA LUNGO LA CURVA PER RAGGIUNGERE IL VALORE DI RITARDO Θ IN CORRISPONDENZA DEL QUALE SI OTTIENE IL PUNTO DI MINIMO DEL FUNZIONALE e^2.

3.3.3 Approcci per la stima della pulse wave velocity

Una volta stabiliti quelli che sono i due metodi che si possono adottare per individuare i picchi nei segnali di accelerazione e le tre modalità con le quali è possibile stimare il ritardo temporale per ogni coppia di battiti individuata tra due canali, verranno adesso proposti quelli che invece sono due approcci fondamentali, ciascuno dei quali è implementato in una versione ponderata e non ponderata, per stimare la pulse wave velocity (PWV) da associare ad una registrazione presa in esame.

I due approcci fondamentali sono:

1. L'approccio basato sulle coppie di canali in cui si va ad associare un PTT, e di conseguenza una PWV ad una specifica coppia di canali.
2. L'approccio innovativo battito-battito, proposto in questo elaborato per la prima volta, dove si associa un PTT e quindi una PWV ad ogni battito individuato nella registrazione in esame.

3.3.3.1 Approccio basato sulle coppie di canali – versione non ponderata

Per ogni coppia di battiti identificata, indipendentemente dalla modalità con cui sono stati stimati i PTT, viene assegnato un $PTT_{ch_c,ch_f,i}$; supposto di aver individuato *N* coppie di battiti tra il canale carotideo ch_c e il canale femorale ch_f, è stato poi calcolato il valore mediano tra gli *N* $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ (**3.6**) e questo valore è stato associato a quella specifica coppia di canali.

$$PTT_{ch_c,ch_f} = \widetilde{PTT_{ch_c,ch_f,i}} \tag{3.6}$$

Il motivo per cui, in tutte e tre le modalità di stima dei PTT è stato assegnato alla coppia di canali carotideo-femorale il PTT mediano tra i vari $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ è quello di andare ad escludere eventuali outliers, ossia eventuali PTT associati a specifici battiti che presentano dei valori che si discostano fortemente dai restanti, la causa di ciò è la non corretta individuazione dei picchi di accelerazione nei segnali di bassa qualità.

Si sono quindi raccolti 36 valori di PTT_{ch_c,ch_f}, uno per ogni coppia, nell'ipotesi che, all'interno di ognuna, sia stata identificata almeno una coppia di battiti (**Figura 3.16**).

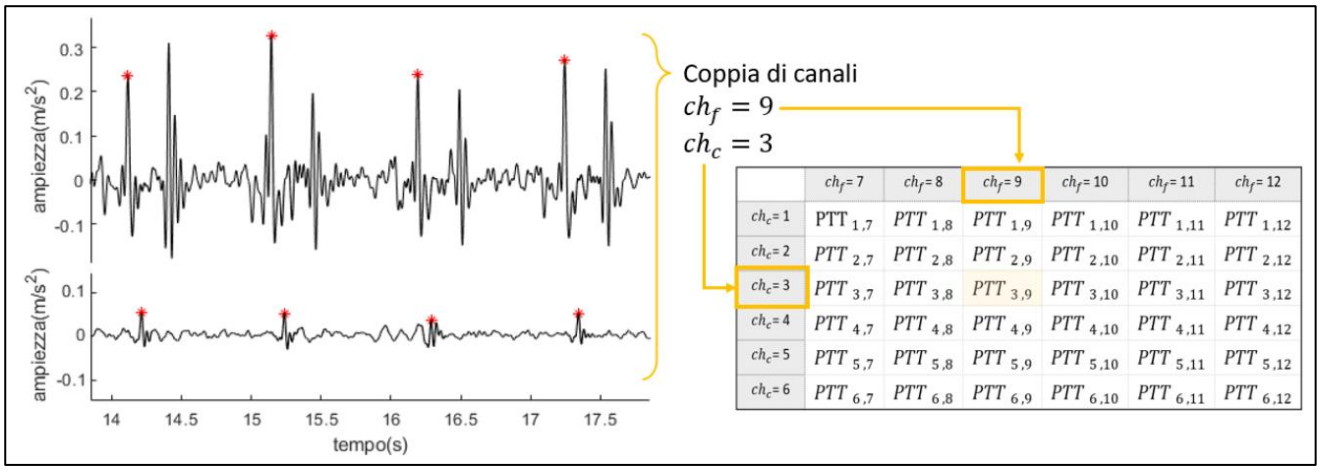


FIGURA 3.76 | ASSEGNAZIONE DI UN PTT_{ch_c,ch_f} ALLA SPECIFICA COPPIA DI CANALI SECONDO L'APPROCCIO "COPPIE DI CANALI"

Per ogni singolo PTT_{ch_c,ch_f}, nota la distanza d espressa in centimetri tra i punti di applicazione dei due manipoli, è stata calcolata la relativa PWV_{ch_c,ch_f} (**Tabella 3.1**) nel seguente modo (**3.7**).

$$PWV_{ch_c,ch_f} = \frac{0.8 * d * 10}{PTT_{ch_c,ch_f}} \tag{3.7}$$

TABELLA 3.1 | VALORI DI PWV ASSOCIATI AD UNA SPECIFICA COPPIA DI CANALI CAROTIDEO-FEMORALE

	$ch_f = 7$	$ch_f = 8$	$ch_f = 9$	$ch_f = 10$	$ch_f = 11$	$ch_f = 12$
$ch_c = 1$	$PWV_{1,7}$	$PWV_{1,8}$	$PWV_{1,9}$	$PWV_{1,10}$	$PWV_{1,11}$	$PWV_{1,12}$
$ch_c = 2$	$PWV_{2,7}$	$PWV_{2,8}$	$PWV_{2,9}$	$PWV_{2,10}$	$PWV_{2,11}$	$PWV_{2,12}$
$ch_c = 3$	$PWV_{3,7}$	$PWV_{3,8}$	$PWV_{3,9}$	$PWV_{3,10}$	$PWV_{3,11}$	$PWV_{3,12}$
$ch_c = 4$	$PWV_{4,7}$	$PWV_{4,8}$	$PWV_{4,9}$	$PWV_{4,10}$	$PWV_{4,11}$	$PWV_{4,12}$
$ch_c = 5$	$PWV_{5,7}$	$PWV_{5,8}$	$PWV_{5,9}$	$PWV_{5,10}$	$PWV_{5,11}$	$PWV_{5,12}$
$ch_c = 6$	$PWV_{6,7}$	$PWV_{6,8}$	$PWV_{6,9}$	$PWV_{6,10}$	$PWV_{6,11}$	$PWV_{6,12}$

A partire dai due metodi presentati per individuare i battiti, ossia i picchi nei segnali di accelerazione, (Template Matching e Findpeaks) considerando inoltre le tre diverse modalità per stimare il PTT da associare alla coppia di canali ch_c, ch_f (distanza tra punti, cross-correlazione, spectral matching) sono state implementate 4 tecniche per stimare un valore PWV_{ch_c, ch_f} da associare ad ognuna delle 36 possibili coppie di canali. Per ognuna di queste quattro tecniche, aggregando opportunamente i 36 dati di PWV, è stato possibile calcolare una:

- $\overline{PWV}$ ossia la media tra le PWV_{ch_c, ch_f}.<
- $\widetilde{PWV}$ ossia la mediana tra le PWV_{ch_c, ch_f}.
- Deviazione standard tra i valori di PWV_{ch_c, ch_f}.
- Numero di coppie di canali che avessero effettivamente stimato una PWV.

Così facendo sono state quindi proposte 8 strategie per stimare la PWV con l'approccio basato sulle coppie di canali non ponderato (**Tabella 3.2**).

TABELLA 3.2 | STRATEGIE PER CALCOLARE UN VALORE DI PWV DA ATTRIBUIRE ALLA SINGOLA REGISTRAZIONE CON L'APPROCCIO "COPPIE DI CANALI NON PONDERATO"

TECNICHE DI STIMA DELLE PWV_{ch_c,ch_f}		METODO AGGREGAZIONE $PTT_{ch_c,ch_f,i}$	METODO AGGREGAZIONE PWV_{ch_c,ch_f}	NOME DELLA STRATEGIA
METODO INDIVIDUAZIONE PICCHI	**MODALITÀ STIMA PTT**			
Template matching	Distanza tra punti	Mediana	Media	Distanza tra punti media
Template matching	Cross-correlazione	Mediana	Media	Cross-correlazione media
Template matching	Spectral matching	Mediana	Media	Spectral matching media
Findpeaks	Distanza tra punti	Mediana	Media	Findpeaks media
Template matching	Distanza tra punti	Mediana	Mediana	Distanza tra punti media
Template matching	Cross-correlazione	Mediana	Mediana	Cross-correlazione media
Template matching	Spectral matching	Mediana	Mediana	Spectral matching media
Findpeaks	Distanza tra punti	Mediana	Mediana	Findpeaks media

3.3.3.2 Approccio innovativo "battito-battito" – versione non ponderata

Nell'approccio innovativo denominato "battito-battito", proposto in questo elaborato per la prima volta (**Figura 3.17**), come suggerisce il nome, ci si concentra sui diversi battiti registrati in un soggetto: si considera per ogni battito (picco), individuato nei 12 canali di accelerazione con il metodo del template matching, quante sono effettivamente le coppie di canali carotideo-femorali che sono state in grado di rilevarlo e, per ogni coppia, viene calcolato il $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ con la modalità della distanza tra punti già presentata.

Un aspetto molto interessante di questo approccio innovativo è che l'individuazione dei diversi battiti, associati al passaggio dell'onda sfigmica di pressione, viene effettuata senza utilizzare il segnale elettrocardiografico.

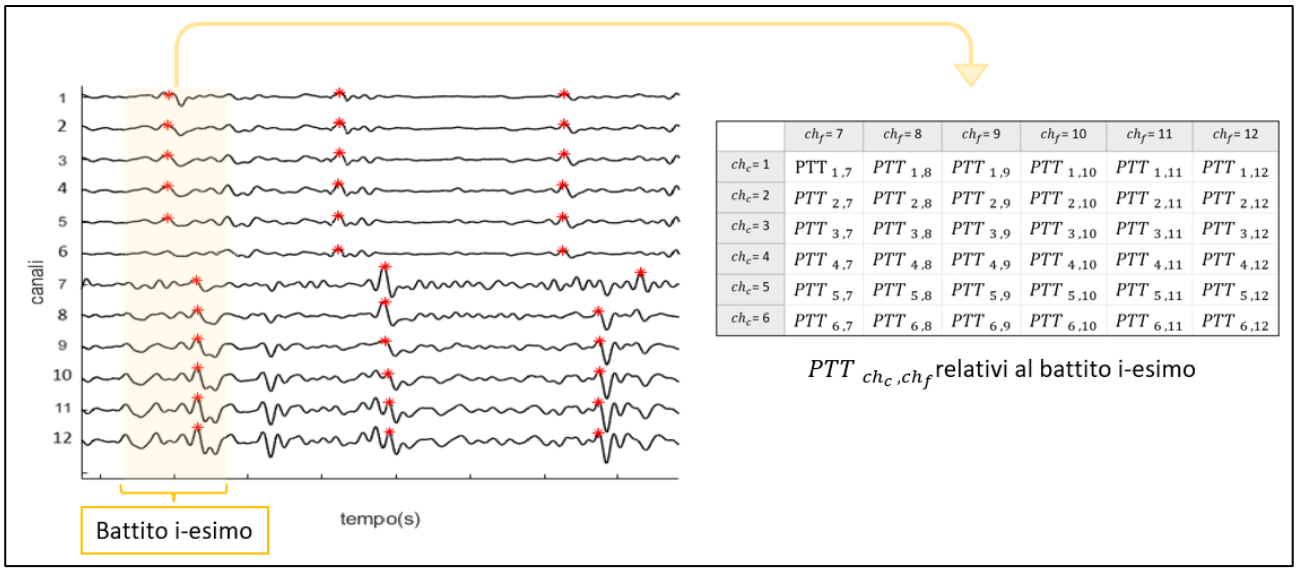


FIGURA 3.87 | RAPPRESENTAZIONE DEI BATTITI INDIVIDUATI DA CIASCUNO DEI DODICI CANALI CON IL TEMPLATE MATCHING E ASSEGNAZIONE DEI $\boldsymbol{PTT}_{ch_c,ch_f}$ CALCOLATI PER IL BATTITO I-ESIMO PER OGNI COPPIA NELL'APPROCCIO "BATTITO-BATTITO"

Per prima cosa, conoscendo già gli istanti temporali di tutti i picchi per ciascuno dei dodici canali e non volendo usufruire del segnale ECG per stabilire a quale battito è associabile ciascun picco, è stato necessario scegliere, tra i canali, uno che facesse da riferimento così da utilizzare gli indici dei suoi picchi per assegnare, alle coppie di picchi individuate dagli altri canali, l'indice del battito corrispondente.

Si è pensato di scegliere come riferimento quel canale del manipolo carotideo che ha individuato un maggior numero di battiti e, qualora ci fossero più canali con lo stesso numero (massimo) di battiti rilevati, facendo riferimento allo studio di Seoni et al. [67] in cui è stato attribuito un visual score a ciascun canale in merito alla qualità dei segnali acquisiti, l'ordine di preferenza dei canali è il seguente: quarto canale, terzo canale, secondo canale, quinto canale, sesto canale, primo canale.

Una volta stabilito per la registrazione in esame il relativo canale carotideo da utilizzare come riferimento, per ogni picco di ogni canale carotideo si è andati a ricercare, per ognuno dei canali femorali, un picco tale per cui temporalmente fosse successivo a quello del primo manipolo e tale distanza temporale fosse inferiore ai 200 ms, qualora identificato, ottenuta quindi una coppia di picchi carotideo-femorale si è assegnato a questa l'indice del battito corrispondente andando a confrontare l'indice del picco carotideo della coppia con l'indice del picco a lui più prossimo del canale di riferimento. Il $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ è stato quindi calcolato come distanza temporale tra l'indice

del picco femorale ch_f e l'indice del picco carotideo ch_c della coppia; in una registrazione in cui il canale scelto come riferimento ha individuato L battiti saranno quindi raccolte in tutto *L* matrici 6x6, dove ognuna di esse è associata ad un battito specifico e non alla specifica coppia di canali come nell'altro approccio.

Per ognuna delle *L* matrici sono stati calcolati i seguenti parametri:

- $\overline{PTT_i}$ ossia il PTT_i medio tra i PTT calcolati a partire dalle coppie di canali che hanno individuato il battito i-esimo.
- $\widetilde{PTT_i}$ ossia il PTT_i mediano tra i PTT calcolati a partire dalle coppie di canali che hanno individuato il battito i-esimo.
- Numero di coppie di canali che ha individuato il battito i-esimo.

A partire dai parametri $\overline{PTT_i}$ e $\widetilde{PTT_i}$ sono state rispettivamente calcolate per ciascun battito la PWV_i media calcolata a partire dal $\overline{PTT_i}$ definita della formula (**3.8**) e quella mediana calcolata a partire dal $\widetilde{PTT_i}$ definita dalla (**3.9**).

$$\overline{PWV_i} = \frac{0.8 * 10 * d(cm)}{\overline{PTT_i}} \tag{3.8}$$

$$\widetilde{PWV_i} = \frac{0.8 * 10 * d(cm)}{\widetilde{PTT_i}} \tag{3.9}$$

Partendo da una registrazione in cui sono stati individuati L battiti, sono stati stimati due valori di PWV per ogni battito: la $\overline{PWV_i}$ e la $\widetilde{PWV_i}$; per garantire una stima precisa della PWV si è deciso di introdurre un criterio per selezionare:

1. Quali sono quei battiti, tra gli L totali, da utilizzare per calcolare una PWV da associare alla registrazione.
2. Un numero minimo di battiti al fine di avere una stima della PWV robusta.

In particolare, il criterio introdotto, con l'obiettivo di stimare un valore di PWV affidabile e robusto da assegnare ad una registrazione, considera solamente quei battiti che sono stati individuati da almeno *N* coppie di canali dove *N* è un numero che può variare tra 1 e 36, la stima può essere effettuata solamente se questi battiti individuati da almeno *N* coppie sono almeno *M*.

L'approccio innovativo "battito-battito", sviluppato individuando picchi nei segnali di accelerazione con il template matching e calcolando i rispettivi $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ con la modalità della distanza tra punti,

ha consentito di definire una tecnica in grado di associare un primo valore di PWV ad ogni battito e un secondo all'intera registrazione in maniera robusta utilizzando solo gli *M* battiti individuati da almeno *N* coppie di canali. Aggregando opportunamente i 36 valori di $PTT_{ch_c,ch_f,i}$ per ciascuno dei battiti individuati, è stato possibile definire 4 strategie (**Tabella 3.3**) per stimare la PWV.

Qualora fosse possibile stimare la PWV in una registrazione, a partire dagli *J* battiti individuati da almeno *N* coppie di canali selezionati con il criterio, con *J* ≥ *M*, è possibile calcolare:

- $\overline{\overline{PWV}}$ ossia il valore medio tra gli *J* $\overline{PWV_i}$
- $\widetilde{\overline{PWV}}$ ossia il valore mediano tra gli *J* $\overline{PWV_i}$
- $\overline{\widetilde{PWV}}$ ossia il valore medio tra gli *J* $\widetilde{PWV_i}$
- $\widetilde{\widetilde{PWV}}$ ossia il valore mediano tra gli *J* $\widetilde{PWV_i}$

TABELLA 3.3 | STRATEGIE PER CALCOLARE UN VALORE DI PWV DA ATTRIBUIRE ALLA SINGOLA REGISTRAZIONE CON L'APPROCCIO "BATTITO-BATTITO NON PONDERATO"

TECNICA DI STIMA DELLA $PWV_{ch_c,ch_{f,i}}$		**METODO AGGREGAZIONE $PTT_{ch_c,ch_{f,i}}$**	**METODO AGGREGAZIONE PWV_i**	**NOME DELLA STRATEGIA**
METODO INDIVIDUAZIONE PICCHI	**MODALITÀ STIMA PTT**			
Template Matching	Distanza tra punti	Media	Media	Media PWV medie
Template Matching	Distanza tra punti	Media	Mediana	Media PWV mediane
Template Matching	Distanza tra punti	Mediana	Media	Mediana PWV medie
Template Matching	Distanza tra punti	Mediana	Mediana	Mediana PWV mediane

3.3.3.3 Approccio basato sulle coppie di canali – versione ponderata

A partire dall'approccio basato sulle coppie di canali, è stata implementata una sua versione che assegna ad ogni picco individuato da ciascun canale un coefficiente di peso che verrà utilizzato per calcolare una media pesata del parametro PTT. Utilizzando l'algoritmo del Template Matching per l'individuazione dei picchi nei segnali di accelerazione, è stato possibile associare ad ogni picco dei segnali di accelerazione carotidei e femorali un coefficiente (coefficiente di correlazione di Pearson)

con il quale è possibile calcolare ed assegnare ad ogni picco un termine di peso$W_{ch_c,i}$ o $W_{ch_f,i}$ a seconda del manipolo e del battito in questione secondo le equazioni (**3.10**) e (**3.11**).

$$W_{ch_c,i} = \frac{Coeff\ Pearson_{\,i}}{\widetilde{Coeff\ Pearson}_{\,c}} \tag{3.10}$$

$$W_{ch_f,i} = \frac{Coeff\ Pearson_{\,i}}{\widetilde{Coeff\ Pearson}_{\,f}} \tag{3.11}$$

Dove il pedice i fa riferimento al battito i-esimo e i pedici ch_c e ch_f fanno riferimento al canale carotideo e femorale della coppia di canali considerata.

Una volta identificate le coppie di battiti tra un canale carotideo e un canale femorale con la stessa modalità precedentemente descritta si è assegnato un coefficiente di peso alla coppia (**Figura 3.18**) a partire dai due coefficienti di peso dei picchi costituenti la stessa come definito dalla relazione (**3.12**).

$$W_{ch_c,\,ch_f,\,i} = \frac{W_{ch_c,i} + W_{ch_f,i}}{2} \tag{3.12}$$

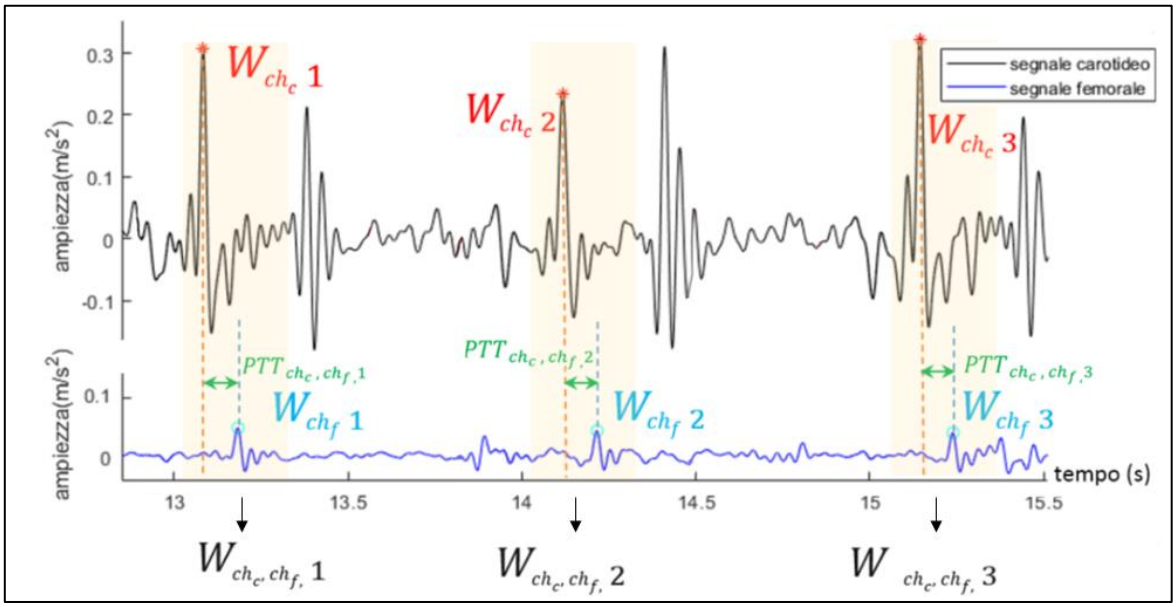


FIGURA 3.98 | SEGNALI CAROTIDEO E FEMORALE AI QUALI PICCHI SONO STATI ASSOCIATI DEI COEFFICIENTI DI PESO W_{ch_c} E W_{ch_f}, ALLE TRE COPPIE DI BATTITI, EVIDENZIATE IN GIALLO, È STATO POI ASSOCIATO UN COEFFICIENTE DI PESO $W_{ch_c,\,ch_f}$, FUNZIONE DEI DUE COEFFICIENTI ASSEGNATI AI PICCHI DELLA COPPIA

Noti per ogni coppia di canali i coefficienti di peso $W_{ch_c,\, ch_f,\, i}$ associati a ciascun battito e i relativi intervalli di tempo, i $PTT_{ch_c\,,\, ch_f\,,\, i}$, è stata calcolata una media pesata dei PTT secondo la modalità della distanza tra punti da associare alla coppia di canali ch_c e ch_f (**3.13**), a partire da essa, è poi stata calcolata secondo la relazione (**3.14**), la relativa PWV.

$$\overline{PTT}_{W_{ch_c,\, ch_f}} = \frac{\sum_{i=1}^{L}(\Delta t_i * W_{ch_c,\, ch_f,\, i})}{\sum_{i=1}^{L}(W_{ch_c,\, ch_f,\, i})} \tag{3.13}$$

$$\overline{PWV}_{W_{ch_c,\, ch_f}} = \frac{0.8 * d(cm) * 10}{\overline{PTT}_{W_{ch_c,\, ch_f}}} \tag{3.14}$$

Ripetendo questa tecnica per le possibili coppie di canali si ottengono 36 valori di $\overline{PWV}_{W_{ch_c,\, ch_f}}$ ed aggregandoli in maniera opportuna è stato possibile definire due strategie (**Tabella 3.4)** per stimare la PWV calcolando rispettivamente:

- $\overline{\overline{PWV_w}}$ ossia la media tra le $\overline{PWV}_{W_{ch_c,\, ch_f}}$ di ogni coppia di canali
- $\overline{\widetilde{PWV_w}}$ ossia la mediana tra le $\overline{PWV}_{W_{ch_c,\, ch_f}}$ di ogni coppia di canali
- Deviazione standard tra le $\overline{PWV}_{W_{ch_c,\, ch_f}}$ di ogni coppia di canali

TABELLA 3.4 | STRATEGIE PER CALCOLARE UN VALORE DI PWV DA ATTRIBUIRE ALLA SINGOLA REGISTRAZIONE CON L'APPROCCIO "COPPIE DI CANALI PONDERATO"

TECNICHE DI STIMA DELLE PWV_{ch_c,ch_f}		**METODO AGGREGAZIONE $PTT_{ch_c,ch_f,i}$**	**METODO AGGREGAZIONE PWV_{ch_c,ch_f}**	**NOME DELLA STRATEGIA**
METODO INDIVIDUAZIONE PICCHI	**MODALITÀ STIMA PTT**			
Template Matching	Distanza tra punti	Media Ponderata	Media	Distanza tra punti media pesata
Template Matching	Distanza tra punti	Media Ponderata	Mediana	Distanza tra punti mediana pesata

3.3.3.4 Approccio innovativo “battito-battito” – versione ponderata

In maniera del tutto analoga all’approccio appena descritto, è stata implementata una variante pesata dell’approccio innovativo battito-battito che assegna ad ogni picco, individuato da ciascun canale, un coefficiente di peso che è funzione del valore della funzione di cross-correlazione tra il template e il segnale in quello specifico punto come mostrato dalle equazioni (**3.15**) e (**3.16**).

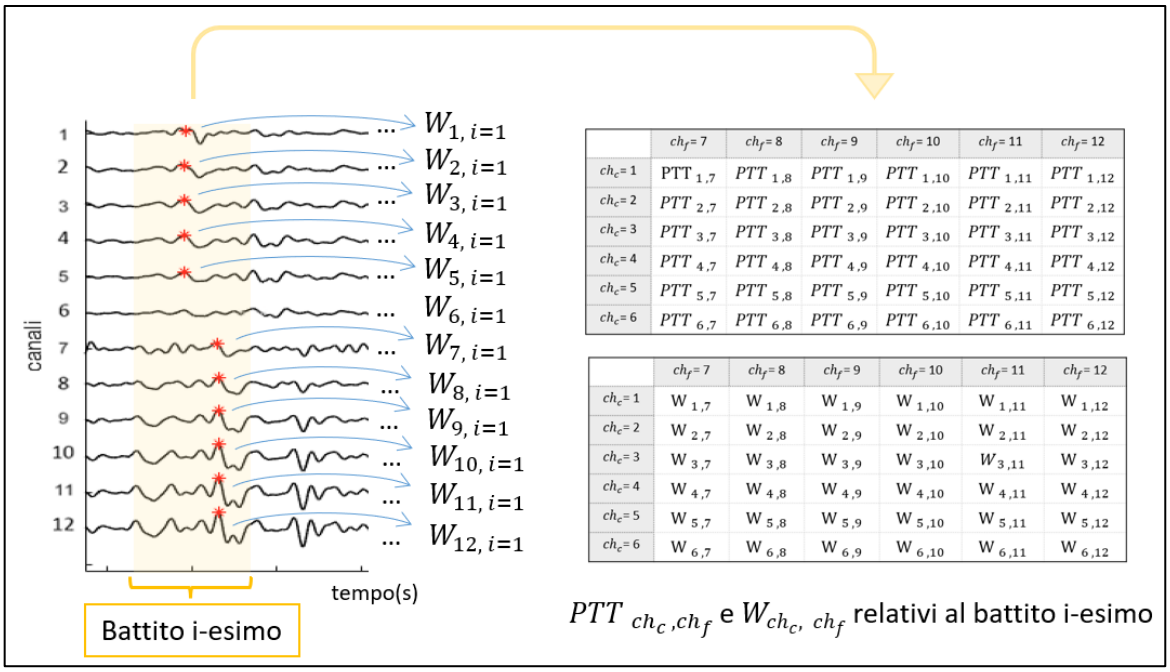
$$W_{ch_c,\ i} = \frac{Coeff\ Pearson_{\ ch_c,i}}{\widetilde{Coeff\ Pearson}_{\ ch_c}} \tag{3.15}$$

$$W_{ch_f\ i} = \frac{Coeff\ Pearson_{ch_f,i}}{\widetilde{Coeff\ Pearson}_{\ ch_f}} \tag{3.16}$$

Come nell’approccio battito-battito standard, per ogni picco di ogni canale carotideo si è andati a ricercare, per ognuno dei canali femorali, un picco entro i 200 ms successivi ed è stato calcolato il $PTT_{ch_c,ch_{f,\ i}}$ con la modalità della distanza tra i picchi della coppia di canali ch_c e ch_f in merito al battito i-esimo; al $PTT_{ch_c,ch_{f,\ i}}$ è stato inoltre assegnato un peso calcolato a partire dai due pesi $W_{c\ i}$ e $W_{f\ i}$ secondo la (**3.17**) con la stessa modalità precedentemente illustrata.

$$W_{ch_c,\ ch_{f,\ i}} = \frac{W_{ch_c,i} + W_{ch_f,i}}{2} \tag{3.17}$$

Ogni battito individuato viene individuato da un numero di coppie pari ad *N*, dove *N* può variare da un minimo di 1 a un massimo di 36, ciascuna coppia ha stimato un $PTT_{ch_c,ch_f,i}$, al quale viene associato il peso $W_{ch_c,\ ch_{f,\ i}}$ (**Figura 3.19**) con questi due parametri si è calcolata una media ponderata dei PTT (**3.18**) e una PWV ponderata per ogni battito (**3.19**).



	$ch_f=7$	$ch_f=8$	$ch_f=9$	$ch_f=10$	$ch_f=11$	$ch_f=12$
$ch_c=1$	$PTT_{1,7}$	$PTT_{1,8}$	$PTT_{1,9}$	$PTT_{1,10}$	$PTT_{1,11}$	$PTT_{1,12}$
$ch_c=2$	$PTT_{2,7}$	$PTT_{2,8}$	$PTT_{2,9}$	$PTT_{2,10}$	$PTT_{2,11}$	$PTT_{2,12}$
$ch_c=3$	$PTT_{3,7}$	$PTT_{3,8}$	$PTT_{3,9}$	$PTT_{3,10}$	$PTT_{3,11}$	$PTT_{3,12}$
$ch_c=4$	$PTT_{4,7}$	$PTT_{4,8}$	$PTT_{4,9}$	$PTT_{4,10}$	$PTT_{4,11}$	$PTT_{4,12}$
$ch_c=5$	$PTT_{5,7}$	$PTT_{5,8}$	$PTT_{5,9}$	$PTT_{5,10}$	$PTT_{5,11}$	$PTT_{5,12}$
$ch_c=6$	$PTT_{6,7}$	$PTT_{6,8}$	$PTT_{6,9}$	$PTT_{6,10}$	$PTT_{6,11}$	$PTT_{6,12}$

	$ch_f=7$	$ch_f=8$	$ch_f=9$	$ch_f=10$	$ch_f=11$	$ch_f=12$
$ch_c=1$	$W_{1,7}$	$W_{1,8}$	$W_{1,9}$	$W_{1,10}$	$W_{1,11}$	$W_{1,12}$
$ch_c=2$	$W_{2,7}$	$W_{2,8}$	$W_{2,9}$	$W_{2,10}$	$W_{2,11}$	$W_{2,12}$
$ch_c=3$	$W_{3,7}$	$W_{3,8}$	$W_{3,9}$	$W_{3,10}$	$W_{3,11}$	$W_{3,12}$
$ch_c=4$	$W_{4,7}$	$W_{4,8}$	$W_{4,9}$	$W_{4,10}$	$W_{4,11}$	$W_{4,12}$
$ch_c=5$	$W_{5,7}$	$W_{5,8}$	$W_{5,9}$	$W_{5,10}$	$W_{5,11}$	$W_{5,12}$
$ch_c=6$	$W_{6,7}$	$W_{6,8}$	$W_{6,9}$	$W_{6,10}$	$W_{6,11}$	$W_{6,12}$

FIGURA 3.109| RAPPRESENTAZIONE DEI BATTITI INDIVIDUATI DA CIASCUNO DEI DODICI CANALI CON IL TEMPLATE MATCHING E ASSEGNAZIONE DEI $\boldsymbol{PTT}_{ch_c,\,ch_f}$ E DEI $\boldsymbol{W}_{ch_c,\,ch_f}$ CALCOLATI PER IL BATTITO I-ESIMO PER OGNI COPPIA NELL'APPROCCIO "BATTITO-BATTITO PONDERATO"

$$\overline{PTT}_{W_i} = \frac{\frac{1}{N_i}\sum_{ch_c=1}^{6}\sum_{ch_f=7}^{12}\left(PTT_{ch_c,ch_f,\ i} * W_{ch_c,\,ch_f,\,i}\right)}{\sum_{ch_c=1}^{6}\sum_{ch_f=7}^{12}\left(W_{ch_c,\,ch_f,\,i}\right)} \tag{3.18}$$

$$\overline{PWV}_{W_i} = \frac{0.8 * d * 10}{\overline{PTT}_{W_i}} \tag{3.19}$$

Ripetendo questa tecnica per ciascuno degli *L* battiti individuati si otterranno *L* valori di $\overline{PWV}_{W_i}$.

Anche in questa versione ponderata dell'approccio innovativo battito-battito è stato utilizzato il criterio precedentemente descritto per considerare solamente quei battiti che sono stati individuati da almeno *N* coppie di canali, qualora questo numero di battiti fosse maggiore o uguale ad *M,* aggregando i coefficienti $\overline{PWV}_{W_i}$ in maniera opportuna, sono state definite due strategie (**Tabella 3.5**) per associare una PWV alla registrazione in esame calcolando:

- $\overline{\overline{PWV}_w}$ ossia la media tra le $\overline{PWV}_{W_i}$
- $\overline{\widetilde{PWV}_w}$ ossia la mediana tra le $\overline{PWV}_{W_i}$
- Deviazione standard tra le $\overline{PWV}_{W_i}$

TABELLA 3.5 | STRATEGIE PER CALCOLARE UN VALORE DI PWV DA ATTRIBUIRE ALLA SINGOLA REGISTRAZIONE CON L'APPROCCIO "BATTITO-BATTITO PONDERATO"

TECNICA DI STIMA DELLA $PWV_{ch_c,ch_{f,i}}$		METODO AGGREGAZIONE $PTT_{ch_c,ch_{f,i}}$	METODO AGGREGAZIONE $\mathbf{PWV}_i$	NOME DELLA STRATEGIA
METODO INDIVIDUAZIONE PICCHI	MODALITÀ STIMA PTT			
Template Matching	Distanza tra punti	Media ponderata	Media	Media PWV medie pesata
Template Matching	Distanza tra punti	Media ponderata	Mediana	Mediana PWV medie pesata

3.3.4 Validazione delle strategie di stima della pulse wave velocity (PWV) con il Bland-Altman plot e tuning dei parametri al fine di garantire una stima eccellente o accettabile

Riassumendo quanto fatto fino ad ora sono stati presentati:

- Due metodi per individuare i battiti nei segnali di accelerazione (Template Matching e Findpeaks).
- Tre modalità per calcolare il ritardo (PTT) associato ad una coppia di battiti individuata da due canali (distanza tra punti, spectral matching e cross-correlazione).
- Due approcci (approccio delle coppie di canali e approccio battito-battito), ciascuno nella sua versione ponderata e non ponderata, per stimare una PWV da associare a ciascuna registrazione.

Combinando i due metodi, le tre modalità, gli approcci ed infine aggregando opportunatamente i risultati (considerando i valori medi o mediani associati ai parametri PTT e PWV all'interno dei due approcci fondamentali) sono in tutto state scelte e implementate sedici strategie per la stima della PWV (**Tabella 3.6**).

TABELLA 3.6 | SCHEMATIZZAZIONE DI METODI PER L'INDIVIDUAZIONE DEI PUNTI FIDUCIALI, MODALITÀ DI STIMA DEI PTT E APPROCCI PER LA STIMA DELLA PWV PER LE TECNICHE PROPOSTE, IL TEMPLATE MATCHING IN QUESTA PRIMA FASE FA RIFERIMENTO ALLA VERSIONE 1

NOMI DELLE STRATEGIE	METODO PER INDIVIDUARE I BATTITI	APPROCCIO UTILIZZATO	MODALITÀ PER LA STIMA DEI PTT
01) DISTANZA TRA PUNTI MEDIA	Template Matching*	Coppie di canali	Distanza tra punti
02) CROSS-CORRELAZIONE MEDIA	Template Matching*	Coppie di canali	Cross-correlazione
03) SPECTRAL MATCHING MEDIA	Template Matching*	Coppie di canali	Spectral Matching
04) FINDPEAKS MEDIA *	Findpeaks	Coppie di canali	Distanza tra punti
05) DISTANZA TRA PUNTI MEDIANA	Template Matching*	Coppie di canali	Distanza tra punti
06) CROSS-CORRELAZIONE MEDIANA	Template Matching*	Coppie di canali	Cross-correlazione
07) SPECTRAL MATCHING MEDIANA	Template Matching*	Coppie di canali	Spectral Matching
08) FINDPEAKS MEDIANA *	Findpeaks	Coppie di canali	Distanza tra punti
09) DISTANZA TRA PUNTI MEDIA PESATA	Template Matching*	Coppie di canali ponderato	Distanza tra punti
10) DISTANZA TRA PUNTI MEDIANA PESATA	Template Matching*	Coppie di canali ponderato	Distanza tra punti
11) MEDIA PWV MEDIE	Template Matching*	Battito-battito	Distanza tra punti
12) MEDIANA PWV MEDIE	Template Matching*	Battito-battito	Distanza tra punti
13) MEDIA PWV MEDIANE	Template Matching*	Battito-battito	Distanza tra punti
14) MEDIANA PWV MEDIANE	Template Matching*	Battito-battito	Distanza tra punti
15) MEDIA PWV MEDIE PESATE	Template Matching*	Battito-battito ponderato	Distanza tra punti
16) MEDIANA PWV MEDIE PESATE	Template Matching*	Battito-battito ponderato	Distanza tra punti

NOTA 1 | IL TEMPLATE MATCHING* È STATO IMPLEMENTATO NELLA SUA PRIMA VERSIONE

3.3.4.1 Prima fase – Validazione delle strategie di stima della PWV

La validazione delle suddette strategie è stata effettuata con il Bland-Altman plot, il quale consente di valutare la concordanza tra la stima effettuata dalla tecnica sotto esame e quella effettuata da una tecnica di riferimento definita *gold standard*.

Per ogni misurazione effettuata dalla strategia in esame e dal gold standard su uno stesso campione viene valutata la differenza tra le due misurazioni e la loro media, a partire da questi due parametri calcolati per ogni campione si costruisce il Bland-Altman [69] plot nel quale si raffigura la differenza tra le misurazioni (asse y) in funzione della loro media (asse x).

Nel presente caso i campioni sono le 410 registrazioni, le tecniche in esame sono le sedici strategie di stima della PWV e i gold standard considerati sono:

1. La referenza tonometrica
2. La strategia "Findpeaks media"
3. La strategia "Findpeaks mediana"

Per ogni Bland-Altman plot è possibile estrarre due parametri:

- Il valor medio della differenza tra le misurazioni effettuate dal gold standard e dalla strategia in esame sulle 410 registrazioni (*Mean Diff*).
- La deviazione standard della differenza tra le misurazioni effettuate con il gold standard e con la strategia in esame sulle 410 registrazioni (*stdv Diff*).

Al fine di voler stimare la PWV in maniera robusta, sono state selezionate, tra le 410 registrazioni disponibili, solamente quelle in cui fossero rilevati almeno 10 battiti individuati ciascuno almeno da 6 coppie di canali carotideo-femorali; introducendo questo criterio di selezione la validazione è stata effettuata utilizzando 35 registrazioni appartenenti a 17 soggetti diversi (**Tabella 3.7**).

TABELLA 3.7 | RISULTATI DELLA VALIDAZIONE CON IL BLAND-ALTMAN PLOT DELLE SEDICI TECNICHE DI STIMA DELLA PWV

Strategie proposte	GS: TONOMETRO		GS: Findpeaks Media		GS: Findpeaks Mediana	
	Mean Diff (m/s)	stdv Diff (m/s)	Mean Diff (m/s)	Stdv Diff(m/s)	Mean Diff (m/s)	stdv Diff (m/s)
Referenza Tonometrica	0	0	0.599003	2.760680	-0.190024	0.654267
01) Distanza tra punti media	0.271579	0.740543	0.870581	2.668998	0.081555	0.773161
02) Cross-correlazione media	-0.796289	2.711468	-0.197286	2.009047	-0.986312	2.479666
03) Spectral Matching media	-0.725199	2.506832	-0.126196	1.851471	-0.915223	2.264497
04) **Findpeaks media ***	-0.599003	2.760680	0	0	-0.789026	2.529853
05) Distanza tra punti mediana	0.219350	0.694947	0.818353	2.763790	0.029326	0.519426
06) cross-correlazione mediana	-0.251376	1.093554	0.347626	2.323710	-0.441400	0.734079
07) Spectral Matching mediana	-0.234860	1.068499	0.364143	2.319820	-0.424884	0.710001
08) **Findpeaks mediana ***	0.190024	0.654267	0.789026	2.529853	0	0
09) Distanza tra punti media PESATA	0.317948	0.691815	0.916951	2.671595	0.127924	0.745584
10) Distanza tra punti mediana PESATA	0.318667	0.556777	0.91767	2.685918	0.128644	0.339188
11) Media PWV medie	0.307172	0.538250	0.906175	2.617874	0.117149	0.411486
12) Mediana PWV medie	0.277789	0.661819	0.876791	2.650284	0.087765	0.254397
13) Media PWV mediane	0.263539	0.628684	0.862542	2.602776	0.073515	0.263124
14) Mediana PWV mediane	0.283467	0.635329	0.882469	2.554046	0.093443	0.226064
15) Media PWV medie PESATE	0.309527	0.541878	0.90853	2.617241	0.119503	0.412423
16) Mediana PWV medie PESATE	0.284467	0.676089	0.88347	2.648369	0.094444	0.272370

NOTA 2 | IL SIMBOLO * INDICA QUELLE STRATEGIE UTILIZZATE COME STANDARD

Facendo riferimento all'articolo pubblicato da Wilkinson et al. [70], nel quale sono presenti delle linee guida in merito alla validazione delle tecniche di stima della PWV con il Bland-Altman plot, una tecnica sottoposta a validazione rispetto al un gold standard può fornire una stima:

- Eccellente se Mean Diff ≤ 0.5 m/s e stdv Diff ≤ 0.8 m/s (evidenziate in verde) (**Tabella 3.7)**
- Accettabile se Mean Diff < 1.0 m/s e stdv Diff ≤ 1.5 m/s (evidenziate in giallo) (**Tabella 3.7)**
- Scadente se Mean Diff ≥ 1.0 m/s o stdv Diff > 1.5 m/s (evidenziate in rosso) (**Tabella 3.7)**

3.3.3.2 Seconda fase – Tuning dei parametri per la stima della PWV

Lo scopo di questa seconda fase è quello di andare a ricercare la miglior combinazione dei parametri *N* ed *M* , precedentemente introdotti nel criterio dell'approccio "battito-battito", che consente di ottenere in fase di validazione dei coefficienti di Mean Diff e stdv Diff tali da garantire una stima accettabile o eccellente secondo le linee guida in modo da trovare un compromesso tra il voler garantire una miglior stima possibile della PWV (avere bassi valori di Mean Diff e stdv Diff) e il voler garantire il calcolo della PWV anche su quelle registrazioni caratterizzate da una qualità dei segnali non troppo buona, in altre parole vorremmo calcolare la PWV su un più alto numero possibile di soggetti anche in condizioni non ottimali.

Si ricorda che i parametri N ed M rivestono un ruolo fondamentale in quanto:

- N è il minimo numero di coppie di canali necessarie per individuare un battito
- M è il minimo numero di battiti individuati ciascuno da almeno N coppie che consente di stimare la PWV in maniera robusta

Questo criterio stabilisce quindi se, data una registrazione, è possibile o meno stimare la PWV con una delle strategie proposte.

Le strategie per la stima della PWV che verranno utilizzate in questa fase sono le sei dell'approccio battito-battito dove però, per la ricerca dei picchi di accelerazione, si utilizzerà la seconda versione dell'algoritmo Template Matching in quanto essa è caratterizzata da un peso computazionale inferiore rispetto alla prima versione ed è in grado di individuare con maggior precisione i picchi in quanto, nella funzione di cross-correlazione in cui avviene in prima istanza la ricerca degli stessi, si va ad utilizzare un valore soglia adattativo ossia una soglia che si adatta alla funzione a differenza

della prima versione in cui la ricerca si basava esclusivamente su dei valori soglia espressi come coefficienti di correlazione di Pearson stabiliti a priori.

Questo valore adattativo utilizzato come soglia si ricorda (**3.3**) essere espresso anche in funzione di un parametro K da definire dove: ad un maggiore valore assegnato al parametro K corrisponde un valore di soglia più alto, pertanto, sarà minore il numero di picchi che si andranno ad individuare nel segnale di cross-correlazione; al contrario, ad un minor valore assegnato al parametro K, corrisponderà un maggior numero di picchi individuabili.

Quello che è sato effettuato a questo punto è un tuning dei tre parametri K, N ed M da utilizzare nelle tecniche di stima con l'obiettivo di andare a ricercare due terne di parametri (K, N, M) in grado rispettivamente di garantire una stima che in fase di validazione possa essere definita dalle linee guida come:

- Eccellente: con Mean Diff ≤ 0.5 m/s e stdv Diff ≤ 0.8 m/s.
- Accettabile: con Mean Diff ≤ 1.0 m/s e stdv Diff ≤ 1.3 m/s (si noti che questo secondo criterio, per rimanere in condizione di sicurezza, è più stringente rispetto a quello proposto precedentemente proprio dalle linee guida).

Ognuno dei tre parametri è stato fatto variare all'interno di un suo specifico range di valori mantenendo gli altri due invariati, per ogni terna sono state contate le registrazioni in grado di soddisfare il criterio degli M battiti individuati ciascuno da almeno N coppie di canali e su queste registrazioni è stata stimata la PWV con una delle strategie precedentemente selezionata; la validazione, per ogni terna, è stata effettuata con il Bland Altman plot utilizzando come gold standard la referenza tonometrica.

I range di valori testati per ogni parametro sono:

- Per il parametro K sono stati testati i valori {1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5} (9 valori)
- Per il parametro N sono stati testati i valori {10, 15, 20} (3 valori)
- Per il parametro M sono stati testati i valori {5, 10, 15} (3 valori)

pertanto, per ognuna delle sei strategie, sono state testate 9x3x3=81 terne. Si riportano di seguito (**Tabella 3.8**) quelle terne dalle quali sono stati ottenuti i parametri di Mean Diff e stdv Diff migliori nella validazione con la referenza tonometrica.

TABELLA 3.8 | TERNE DI PARAMETRI K, N, M CHE FORNISCONO PER OGNI STRATEGIA IL MIGLIOR COMPROMESSO TRA I VOLER GARANTIRE UNA STIMA ACCETTABILE O ECCELLENTE E UN NUMERO DI REGISTRAZIONI SUFFICIENTEMENTE ELEVATO

STRATEGIA DI STIMA DELLA PWV	K	N COPPIE	M BATTITI	MEAN DIFF (m/s)	SDTV DIFF (m/s)	N°REC	N°SOGGETTI	QUALITÀ
MEDIA PWV MEDIE	3.5	15	10	0.2144	0.8976	58	22	accettabile
	3.5	15	15	0.1672	0.7082	34	11	eccellente
	4.5	15	5	0.0872	1.2601	49	18	accettabile
	4.5	15	10	0.1930	0.5354	32	10	eccellente
MEDIANA PWV MEDIE	3.5	15	10	0.1992	0.9221	58	22	accettabile
	3.5	15	15	0.1194	0.7606	34	11	eccellente
MEDIA PWV MEDIANE	3	20	10	0.1886	1.0676	65	24	accettabile
	3	20	15	0.2846	0.6278	31	11	eccellente
	3.5	15	10	0.2605	0.8162	58	22	accettabile
	3.5	15	15	0.2483	0.6111	34	11	eccellente
MEDIANA PWV MEDIANE	1	20	10	0.4690	1.2003	154	52	accettabile
	1	20	15	0.3871	0.7043	58	26	eccellente
	2	20	10	0.3183	1.2021	125	44	accettabile
	2	20	15	0.3295	0.6398	47	20	eccellente
	2.5	15	10	0.4139	1.2791	151	52	accettabile
	2.5	15	15	0.2542	0.7706	69	25	eccellente
	3	15	10	0.2966	1.2000	102	37	accettabile
	3	15	15	0.2131	0.6817	47	17	eccellente
	3.5	10	10	0.3348	0.8177	88	31	accettabile
	3.5	10	15	0.1645	0.7031	49	17	eccellente
MEDIA PWV MEDIE PESATE	3	20	10	0.2691	0.9822	65	24	accettabile
	3	20	15	0.2426	0.7340	31	11	eccellente
MEDIANA PWV MEDIE PESATE	3	15	10	0.3290	1.2311	102	37	accettabile
	3	15	15	0.1451	0.7490	47	17	eccellente

3.4 Discussione dei risultati

In merito alla prima validazione effettuata su tutte le sedici strategie, quelle basate sulla modalità "distanza tra punti" per stimare il PTT tra due battiti si sono rivelate eccellenti in base a quanto stabilito dalle linee guida utilizzando come gold standard la misurazione effettuata dal tonometro o quella effettuata con la tecnica Findpeaks mediana.

Per quanto riguarda le strategie dell'approccio basato sulle coppie di canali, invece, le uniche in grado di fornire una stima eccellente con i gold standard Findpeaks mediana e referenza tonometrica sono le due che usano la distanza tra punti come modalità per calcolare i PTT.

Tutte le strategie dell'approccio battito-battito forniscono una stima eccellente sia considerando come gold standard la referenza tonometrica sia la tecnica Findpeaks mediana, per questo motivo sono state utilizzate nelle successive fasi del processo di validazione.

Per quanto riguarda la seconda fase del processo di validazione, base dei risultati ottenuti nel tuning dei tre parametri K, N e M si è deciso di selezionare la strategia *mediana delle PWV mediane* ($\widetilde{\widetilde{PWV}}$) in quanto è quella che consente di stimare la PWV su un più alto numero di registrazioni sia in modo eccellente che accettabile, la coppia di terne selezionata è la seguente (**Tabella 3.9**):

TABELLA 3. 9 | COPPIA DI TERNE SELEZIONATE PER GARANTIRE UNA STIMA ACCETTABILE ED ECCELLENTE CON LA TECNICA MEDIANA DELLE PWV MEDIANE

K	N COPPIE	M BATTITI	MEAN DIFF (m/s)	STDV DIFF (m/s)	N°REC	N°SOGGETTI	QUALITÀ
2.5	**15**	**10**	0.4139	1.2791	151	52	accettabile
2.5	**15**	**15**	0.2542	0.7706	69	25	eccellente

Le terne selezionate richiedono dei valori dei parametri N ed M non troppo elevati (entrambi < 20), ciò rende il criterio per effettuare la stima meno stringente consentendo di stimare nelle due condizioni la PWV in maniera affidabile visti i valori di Mean Diff e stdv Diff ottenuti nella validazione.

La prima terna consente di stimare la PWV su 69 registrazioni (16.8% delle totali) appartenenti a 25 soggetti (il 25.0% dei totali) mentre la seconda terna consente la stima su 151 registrazioni (36.8% delle totali) appartenenti a 52 soggetti (52.0% dei totali); il tuning dei parametri ha consentito di trovare due combinazioni degli stessi tali da garantire una stima eccellente (**Figura 3.20**) o accettabile (**Figura 3.21**) su un numero di soggetti e registrazioni superiore rispetto alla prima fase

di validazione, in cui i valori di N ed M erano stati fissati a priori e la stima era stata effettuata solamente su 35 registrazioni (8.5 % delle totali) appartenenti a 17 soggetti (17% dei totali) .

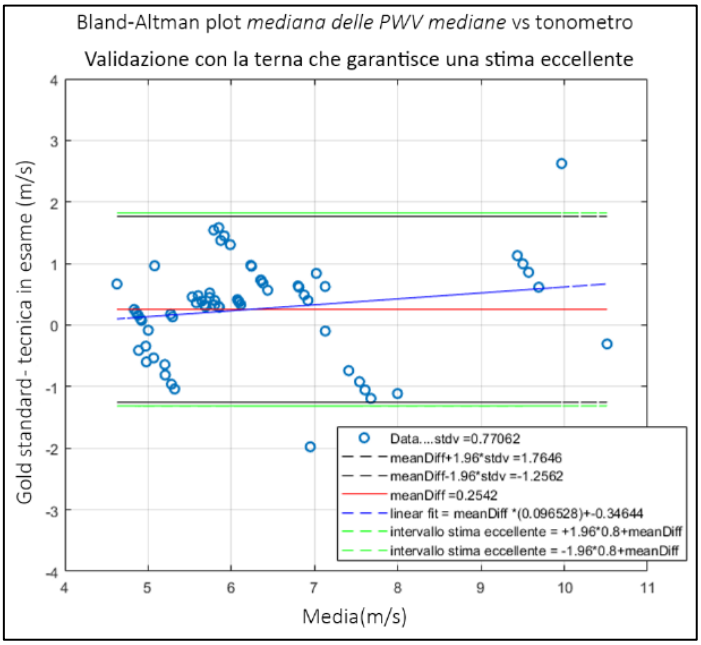


FIGURA 3.20 | BLAND-ALTMANN PLOT RELATIVO ALLA VALIDAZIONE CON DELLA TECNICA MEDIANA DELLE PWV MEDIANE CON LA TERNA DI PARAMETRI CHE GARANTISCE UNA STIMA ECCELLENTE DELLA PWV

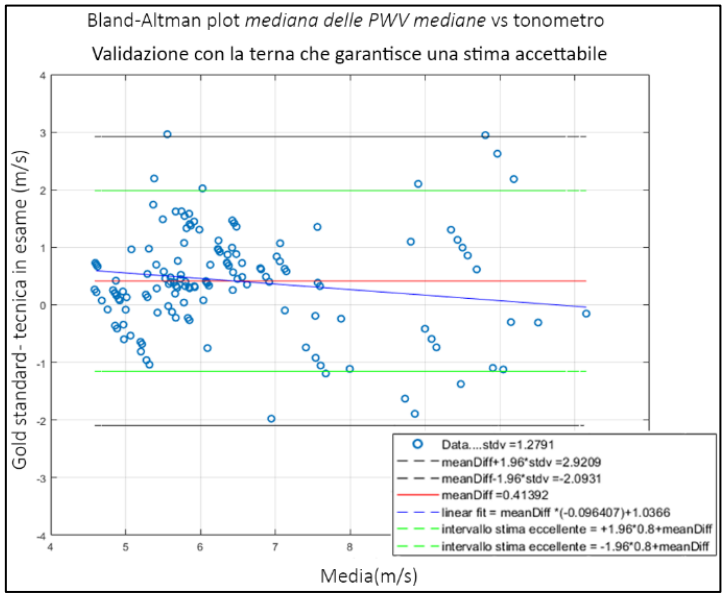


FIGURA 3.111 | BLAND-ALTMANN PLOT RELATIVO ALLA VALIDAZIONE CON DELLA TECNICA MEDIANA DELLE PWV MEDIANE CON LA TERNA DI PARAMETRI CHE GARANTISCE UNA STIMA ACCETTABILE DELLA PWV

Conclusione e sviluppi futuri

Lo scopo di questo lavoro di tesi era quello di implementare e validare delle tecniche con delle strategie in grado di fornire una stima del parametro pulse wave velocity a partire da acquisizioni LDV effettuate con il dispositivo Cardis® in maniera non invasiva al fine di fornire una valutazione della rigidità del tratto arterioso carotideo-femorale.

Nella fase di elaborazione dei dati è stato sviluppato un approccio innovativo denominato "battito-battito", questo consente di stimare il parametro PWV la maniera robusta secondo diverse strategie.

L'innovazione apportata alla stima della PWV da parte di questo nuovo approccio risiede nel fatto che viene effettuata, a differenza delle normali strategie, prendendo in considerazione solamente quei battiti rilevati da un sufficiente numero di coppie di canali senza l'ausilio del segnale elettrocardiografico, ciò rende molto più semplice la fase di acquisizione dei segnali nei pazienti in quanto non è necessaria la strumentazione per eseguire un prelievo ECG in contemporanea.

La strategia *mediana delle PWV mediane*, sviluppata a partire da tale approccio, utilizzata impostando i parametri K, M, N secondo una delle due terne proposte, sembrerebbe garantire una stima della PWV eccellente o accettabile, secondo le linee guida.

Un possibile sviluppo futuro per questa strategia potrebbe essere una sua implementazione all'interno di un nuovo dispositivo LDV per fornire una stima della PWV in modalità *real-time*: un secondo progetto, finanziato dal programma di ricerca e innovazione *Horizon 2020* dell'Unione Europea di nome Inside®, sta infatti sviluppando un nuovo dispositivo LDV wireless alimentato a batteria in grado di fornire in tempo reale una stima della PWV sul tratto carotideo femorale evitando così l'accumulo di dati e la necessità di effettuare un'analisi dei dati in post-processing al fine di valutare la rigidità del tratto arterioso in esame.

Bibliografia

[1] Laurent, S., Cockcroft, J., Van Bortel, L., Boutouyrie, P., Giannattasio, C., Hayoz, D., ... & Struijker-Boudier, H. (2006). Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. European heart journal, 27(21), 2588-2605.

[2] Testut, L., & Latarjet, A. (1971). Trattato di anatomia umana. Utet.

[3] Kucharska-Newton, A. M., Stoner, L., & Meyer, M. L. (2019). Determinants of vascular age: an epidemiological perspective. Clinical chemistry, 65(1), 108-118.

[4] Cecil, R. L. F., Goldman, L., & Schafer, A. I. (2012). Goldman's Cecil Medicine, Expert Consult Premium Edition--Enhanced Online Features and Print, Single Volume, 24: Goldman's Cecil Medicine (Vol. 1). Elsevier Health Sciences.

[5] Azuma, T., & Hasegawa, M. (1973). Distensibility of the vein: from the architectural point of view. Biorheology, 10(3), 469-479.

[6] Hopkins, J., Maton, A., Charles, W. M., Susan, J., Maryanna, Q. W., David, L., & Jill, D. W. (1993). Human Biology and Health. New Jersey: Englewood Cliffs.

[7] M. Mattioli, La scoperta della circolazione del sangue. 1792.

[8] Lanza, G. A., Satolli, R., & Crea, F. (2010). FISIOLOGIA DELLA CONTRAZIONE CARDIACA. Atrio, 20, 0.

[9] Ambrosi, G., Cantino, D., Castano, P., Correr, S., D'Este, L., Donato, R. F., ... & Zummo, G. (2006). Anatomia dell’uomo. Seconda Edizione edi-ermes.

[10] Chobanian, A. V., Bakris, G. L., Black, H. R., Cushman, W. C., Green, L. A., Izzo Jr, J. L., ... & National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. (2003). Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. hypertension, 42(6), 1206-1252.

[11] Kannel, W. B. (1996). Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. Jama, 275(20), 1571-1576.

[12] Dart, A. M., & Kingwell, B. A. (2001). Pulse pressure—a review of mechanisms and clinical relevance. Journal of the American College of Cardiology, 37(4), 975-984.

[13] Cavalcante, J. L., Lima, J. A., Redheuil, A., & Al-Mallah, M. H. (2011). Aortic stiffness: current understanding and future directions. Journal of the American College of Cardiology, 57(14), 1511-1522.

[14] Kim, H. L., & Kim, S. H. (2019). Pulse wave velocity in atherosclerosis. Frontiers in cardiovascular medicine, 6, 41.

[15] Otto Frank, “Die Grundform des arteriellen Pulses, Z Biol 37 (1899).

[16] Bramwell, J. C., & Hill, A. V. (1922). The velocity of pulse wave in man. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character, 93(652), 298-306.

[17] Avolio, A. (1995). Genetic and environmental factors in the function and structure of the arterial wall. Hypertension, 26(1), 34-37.

[18] Vlachopoulos, C., O'Rourke, M., & Nichols, W. W. (2011). McDonald's blood flow in arteries: theoretical, experimental and clinical principles. CRC press.

[19] D. Korpas, J. Hálek, and L. Doležal, “Parameters Describing the Pulse Wave,” 2009.

[20] C. Vlachopoulos, M. O’Rourke, and W. W. Nichols, “McDonald’s Blood Flow in Arteries: Theoretical, Experimental and Clinical Principles,” McDonald’s Blood Flow in Arteries, Jul. 2011, doi: 10.1201/B13568.

[21] Stoner, L., Young, J. M., & Fryer, S. (2012). Assessments of arterial stiffness and endothelial function using pulse wave analysis. International journal of vascular medicine, 2012.

[22] London, G. M., Blacher, J., Pannier, B., Guérin, A. P., Marchais, S. J., & Safar, M. E. (2001). Arterial wave reflections and survival in end-stage renal failure. Hypertension, 38(3), 434-438.

[23] Wilkinson, I. B., Fuchs, S. A., Jansen, I. M., Spratt, J. C., Murray, G. D., Cockcroft, J. R., & Webb, D. J. (1998). Reproducibility of pulse wave velocity and augmentation index measured by pulse wave analysis. Journal of hypertension, 16(12), 2079-2084.

[24] Baim, D. S., & Grossman, W. (1996). Cardiac catheterization, angiography, and intervention. (No Title).

[25] Chambers, D., Huang, C., & Matthews, G. (2019). Arterial pressure waveforms. Basic Physiology for Anaesthetists, 155-157.

[26] Mancia, G., De Backer, G., Dominiczak, A., Cifkova, R., Fagard, R., Germano, G., ... & Zamorano, J. L. (2007). 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). European heart journal, 28(12), 1462-1536.

[27] Thomas Young, "The Croonian Lecture, on the Functions of the Heart and Arteries," 1808.

[28] Bramwell, J. C., & Hill, A. V. (1922). Velocity of transmission of the pulse-wave: and elasticity of arteries. The Lancet, 199(5149), 891-892.

[29] Cohn, J. N., Quyyumi, A. A., Hollenberg, N. K., & Jamerson, K. A. (2004). Surrogate markers for cardiovascular disease: functional markers. Circulation, 109(25_suppl_1), IV-31.

[30] Latham, R. D., Westerhof, N., Sipkema, P., Rubal, B. J., Reuderink, P., & Murgo, J. P. (1985). Regional wave travel and reflections along the human aorta: a study with six simultaneous micromanometric pressures. Circulation, 72(6), 1257-1269.

[31] Kaptoge, S., Pennells, L., De Bacquer, D., Cooney, M. T., Kavousi, M., Stevens, G., ... & Di Angelantonio, E. (2019). World Health Organization cardiovascular disease risk charts: revised models to estimate risk in 21 global regions. The Lancet Global Health, 7(10), e1332-e1345.

[32] Ben-Shlomo, Y., Spears, M., Boustred, C., May, M., Anderson, S. G., Benjamin, E. J., ... & Wilkinson, I. B. (2014). Aortic pulse wave velocity improves cardiovascular event prediction: an individual participant meta-analysis of prospective observational data from 17,635 subjects. Journal of the American College of Cardiology, 63(7), 636-646.

[33] Mattace-Raso, F. U., van der Cammen, T. J., Hofman, A., van Popele, N. M., Bos, M. L., & Maarten, A. D. H. (2006). Schalekamp, Roland Asmar, Robert S. Reneman, Arnold PG Hoeks, Monique MB Breteler, Jacqueline CM Witteman. Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam study. Circulation, 113(5), 657-63.

[34] Blacher, J., Asmar, R., Djane, S., London, G. M., & Safar, M. E. (1999). Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients. Hypertension, 33(5), 1111-1117.

[35] Laurent, S., Boutouyrie, P., Asmar, R., Gautier, I., Laloux, B., Guize, L., ... & Benetos, A. (2001). Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. Hypertension, 37(5), 1236-1241.

[36] Gurovich, A. N., & Braith, R. W. (2011). Pulse wave analysis and pulse wave velocity techniques: are they ready for the clinic? Hypertension Research, 34(2), 166-169.

[37] Reference Values for Arterial Stiffness' Collaboration. (2010). Determinants of pulse wave velocity in healthy people and in the presence of cardiovascular risk factors:'establishing normal and reference values'. European heart journal, 31(19), 2338-2350.

[38] Mitchell, G. F., Hwang, S. J., Vasan, R. S., Larson, M. G., Levy, D., Benjamin, E. J., ... & Vita, J. A. (2010). Response to letters regarding article,"Arterial stiffness and cardiovascular events: The Framingham Heart Study". Circulation, 122(19), e515-e515.

[39] Vlachopoulos, C., Aznaouridis, K., & Stefanadis, C. (2010). Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. Journal of the American College of Cardiology, 55(13), 1318-1327.

[40] Sugawara, J., Hayashi, K., Yokoi, T., & Tanaka, H. (2008). Age-associated elongation of the ascending aorta in adults. JACC: Cardiovascular Imaging, 1(6), 739-748.

[41] Pereira, T., Correia, C., & Cardoso, J. (2015). Novel methods for pulse wave velocity measurement. Journal of medical and biological engineering, 35(5), 555-565.

[42] Chiu, Y. C., Arand, P. W., Shroff, S. G., Feldman, T., & Carroll, J. D. (1991). Determination of pulse wave velocities with computerized algorithms. American heart journal, 121(5), 1460-1470.

[43] Poles, J., Burnet, K., Kelsch, E., Heffernan, K. S., Meyer, M. L., Kowalsky, R. J., ... & Stoner, L. (2022). Overall and repeated measures agreement between brachial-femoral and carotid-femoral measures of pulse wave velocity in young and healthy individuals. Blood Pressure Monitoring, 27(5), 334-340.

[44] Zieff, G., Stone, K., Paterson, C., Fryer, S., Diana, J., Blackwell, J., ... & Stoner, L. (2023). Pulse-wave velocity assessments derived from a simple photoplethysmography device: Agreement with a referent device. Frontiers in Cardiovascular Medicine, 10, 1108219.

[45] Willemet, M., Chowienczyk, P., & Alastruey, J. (2015). A database of virtual healthy subjects to assess the accuracy of foot-to-foot pulse wave velocities for estimation of aortic stiffness. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 309(4), H663-H675.

[46] Salvi, P., Magnani, E., Valbusa, F., Agnoletti, D., Alecu, C., Joly, L., & Benetos, A. (2008). Comparative study of methodologies for pulse wave velocity estimation. Journal of human hypertension, 22(10), 669-677.

[47] Baguet, J. P., Kingwell, B. A., Dart, A. L., Shaw, J., Ferrier, K. E., & Jennings, G. L. (2003). Analysis of the regional pulse wave velocity by Doppler: methodology and reproducibility. Journal of human hypertension, 17(6), 407-412.

[48] De Melis, M., Morbiducci, U., Scalise, L., Tomasini, E. P., Delbeke, D., Baets, R., ... & Segers, P. (2008). A noncontact approach for the evaluation of large artery stiffness: a preliminary study. American journal of hypertension, 21(12), 1280-1283.

[49] Drzewiecki, G., Krishna, G., & Katta, H. (2019). Method of deflection corrected tonometry with phantom vessel experiments. Computers in Biology and Medicine, 104, 329-334.

[50] Naidu, M. U. R., Reddy, B. M., Yashmaina, S., Patnaik, A. N., & Rani, P. U. (2005). Validity and reproducibility of arterial pulse wave velocity measurement using new device with oscillometric technique: a pilot study. Biomedical engineering online, 4(1), 1-14.

[51] Horvath, I. G., Nemeth, A., Lenkey, Z., Alessandri, N., Tufano, F., Kis, P., ... & Cziraki, A. (2010). Invasive validation of a new oscillometric device (Arteriograph) for measuring augmentation index, central blood pressure and aortic pulse wave velocity. Journal of hypertension, 28(10), 2068-2075.

[52] Hwang, M. H., Yoo, J. K., Kim, H. K., Hwang, C. L., Mackay, K., Hemstreet, O., ... & Christou, D. D. (2014). Validity and reliability of aortic pulse wave velocity and augmentation index determined by the new cuff-based SphygmoCor Xcel. Journal of human hypertension, 28(8), 475-481.

[53] Munakata, M., Ito, N., Nunokawa, T., & Yoshinaga, K. (2003). Utility of automated brachial ankle pulse wave velocity measurements in hypertensive patients. American journal of hypertension, 16(8), 653-657.

[54] Oreggia, D., Guarino, S., Parisi, A., Pernice, R., Adamo, G., Mistretta, L., ... & Busacca, A. C. (2015, October). Physiological parameters measurements in a cardiac cycle via a combo PPG-ECG system. In 2015 AEIT International Annual Conference (AEIT) (pp. 1-6). IEEE.

[55] Peter, L., Noury, N., & Cerny, M. (2014). A review of methods for non-invasive and continuous blood pressure monitoring: Pulse transit time method is promising?. Irbm, 35(5), 271-282.

[56] Benthin, M., Dahl, P., Ruzicka, R., & Lindström, K. (1991). Calculation of pulse-wave velocity using cross correlation—effects of reflexes in the arterial tree. Ultrasound in medicine & biology, 17(5), 461-469.

[57] Tang, C. J., Lee, P. Y., Chuang, Y. H., & Huang, C. C. (2020). Measurement of local pulse wave velocity for carotid artery by using an ultrasound-based method. Ultrasonics, 102, 106064.

[58] Calabia Martínez, J., Torguet Escuder, P., García Gil, M. D. M., Garcia, I., Martin Alemany, N., Guasch, B., ... & Vallés Prats, M. (2011). Doppler ultrasound in the measurement of pulse wave velocity: agreement with the Complior method. Cardiovascular Ultrasound, 2011, vol. 9, núm. 13.

[59] Fu, X., Huang, C., Wong, K. S., Chen, X., & Gao, Q. (2016). A new method for cerebral arterial stiffness by measuring pulse wave velocity using transcranial Doppler. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 23(8), 1004-1010.

[60] Mohiaddin, R. H., & Longmore, D. B. (1989). MRI studies of atherosclerotic vascular disease: structural evaluation and physiological measurements. British medical bulletin, 45(4), 968-990.

[61] Wentland, A. L., Grist, T. M., & Wieben, O. (2014). Review of MRI-based measurements of pulse wave velocity: a biomarker of arterial stiffness. Cardiovascular diagnosis and therapy, 4(2), 193.

[62] De Melis, M., Morbiducci, U., & Scalise, L. (2007, August). Identification of cardiac events by Optical Vibrocardiograpy: Comparison with Phonocardiography. In 2007 29th Annual

International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (pp. 2956-2959). IEEE..

[63] Rothberg, S. J., Allen, M. S., Castellini, P., Di Maio, D., Dirckx, J. J. J., Ewins, D. J., ... & Vignola, J. F. (2017). An international review of laser Doppler vibrometry: Making light work of vibration measurement. Optics and Lasers in Engineering, 99, 11-22.

[64] Li, Y., Dieussaert, E., & Baets, R. (2022). Miniaturization of laser Doppler vibrometers—a review. Sensors, 22(13), 4735.

[65] Rembe, C., & Kowarsch, R. (2017). High-Resolution Laser-Vibrometer Microscopy. In AMA Conferences 2017.

[66] Li, Y., Marais, L., Khettab, H., Quan, Z., Aasmul, S., Leinders, R., ... & Baets, R. (2020). Silicon photonics-based laser Doppler vibrometer array for carotid-femoral pulse wave velocity (PWV) measurement. Biomedical Optics Express, 11(7), 3913-3926.

[67] Seoni, S., Beeckman, S., Li, Y., Aasmul, S., Morbiducci, U., Baets, R., ... & Segers, P. (2022). Template matching and matrix profile for signal quality assessment of carotid and femoral laser doppler vibrometer signals. Frontiers in Physiology, 12, 2389.

[68] Marais, L., Khettab, H., Li, Y., Segers, P., Baets, R., Reesink, K., ... & Boutouyrie, P. (2019). Measurement of aortic stiffness by laser doppler vibrometry: the cardis study. Journal of Hypertension, 37, e88.

[69] Bland, J. M., & Altman, D. (1986). Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. The lancet, 327(8476), 307-310.

[70] Wilkinson, I. B., McEniery, C. M., Schillaci, G., Boutouyrie, P., Segers, P., Donald, A., & Chowienczyk, P. J. (2010). ARTERY Society guidelines for validation of non-invasive haemodynamic measurement devices: Part 1, arterial pulse wave velocity. Artery Research, 4(2), 34-40.