

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Ingegneria
Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione
Corso di Laurea Magistrale in Bioingegneria

**PROCESSING PIPELINE PER SEGNALI NIRS ACQUISITI IN
CONTINUA PER 7 GIORNI IN NEONATI PRETERMINE**

Relatore: Prof. Giovanni Sparacino
Correlatore: Dott.ssa Sabrina Brigadoi

Laureando: Edoardo Pieropan

Data: 08/04/2019
A.A. 2018/2019

Firma laureando

Firma relatore

Desidero ringraziare il Professore Sparacino e la Dottoressa Brigadoi per avermi guidato durante lo sviluppo di questo lavoro di tesi e per essersi sempre dimostrati molti disponibili nel chiarire dubbi e fornirmi aiuto.

Un ringraziamento speciale poi va alla mia famiglia, ai miei amici ed a tutti coloro che mi sono stati vicini e mi hanno supportato e sopportato durante questi anni di studio. Con una piccola dose di fiducia in se stessi e l'affetto delle persone care, si può arrivare ovunque si voglia!

*« Per aspera ad astra »,
attraverso le asperità sino alle stelle!*

Indice

Abstract.....	3
Capitolo 1. Emodinamica e metabolismo cerebrale nei neonati prematuri.....	5
1.1 Legame tra emodinamica e metabolismo nel cervello.....	5
1.2 Importanza del metabolismo del glucosio nei neonati e legame con l’emodinamica.....	9
1.3 Metabolismo cerebrale del glucosio e altri substrati.....	10
1.4 Studio della relazione tra emodinamica cerebrale e glicemia: stato dell’arte.....	13
1.5 Monitoraggio glicemico continuo e applicazioni in ambito neonatale.....	16
1.6 Spettroscopia nel vicino infrarosso e applicazioni in ambito neonatale.....	19
1.6.1 <i>Fondamenti della NIRS.....</i>	19
1.6.2 <i>Il segnale NIRS e le sue sorgenti di rumore.....</i>	21
1.6.3 <i>Applicazioni NIRS in ambito neonatale.....</i>	24
1.6.4 <i>Pipeline di elaborazione generale per l’analisi dei dati NIRS.....</i>	25
1.6.5 <i>Principali tecniche di rimozione degli artefatti da movimento.....</i>	28
1.7 Scopo della tesi.....	32
Capitolo 2. Dataset.....	35
2.1 Descrizione del protocollo.....	35
2.2 Criteri di analisi.....	38
Capitolo 3. Metodi di analisi dei dati NIRS.....	43
3.1 Processing pipeline per i dati NIRS.....	43
3.2 Eliminazione dei canali rumorosi: ipotesi di partenza e classificazione automatica.....	46
3.2.1 <i>Paradigma di classificazione.....</i>	50
3.2.2 <i>Features estratte dai dati.....</i>	53
3.2.3 <i>Valutazione dei risultati della classificazione.....</i>	55
3.2.4 <i>Miglioramento del classificatore: paradigma GSVM-RU.....</i>	56
3.3 Prima tecnica di correzione degli artefatti da movimento: Targeted PCA.....	57
3.3.1 <i>Principi di funzionamento della PCA.....</i>	61
3.4 Seconda tecnica di correzione degli artefatti da movimento: interpolazione spline.....	63
3.5 Detrending.....	66
3.6 Filtro Wavelet.....	69
3.7 Conversione dei dati di intensità luminosa in dati di concentrazione.....	74
Capitolo 4. Risultati.....	77
4.1 Considerazioni iniziali sul dataset.....	77
4.2 Performance del sistema di classificazione automatico.....	79

4.2.1	<i>Risultati del processo di selezione delle features</i>	79
4.2.2	<i>Risultati della classificazione automatica</i>	80
4.3	Valutazione della risposta emodinamica	83
4.4	Analisi preliminare di correlazione tra risposta emodinamica e glicemia	95
Capitolo 5. Conclusioni	101
5.1	Riassunto del lavoro svolto	101
5.2	Problemi aperti	105
5.3	Sviluppi futuri	106
Appendice A	109
Appendice B	113
Bibliografia	119

Abstract

Recenti studi hanno messo in luce l'esistenza di uno stretto rapporto tra ossigenazione cerebrale e glicemia nei neonati, soprattutto in quelli nati prematuri. Nella popolazione dei neonati pretermine gli eventi di ipoglicemia ed iperglicemia sono molto frequenti durante la prima settimana post-partum e, se non trattati, possono portare allo sviluppo di molte patologie, quali ipossie ischemiche, retinopatie ed in generale un ritardo nello sviluppo neurosensoriale. Una migliore comprensione del legame tra variazioni in ossigenazione cerebrale e variazioni in glicemia in neonati prematuri sarebbe di grande importanza per valutare la possibilità di creare un trattamento di controllo glicemico personalizzato basato sulle variazioni individuali dell'emodinamica cerebrale. Sebbene esistano sistemi di controllo glicemico stretto e continuativo nel tempo che sono stati applicati con successo nella popolazione pretermine, il monitoraggio continuativo dell'emodinamica cerebrale per lunghi periodi di tempo ed in popolazioni neonatali non è ancora stato realizzato su ampia scala.

Presso il Policlinico Universitario di Padova nel 2016, usando tecniche di imaging ottico (spettroscopia nel vicino infrarosso – NIRS), nell'ambito di una collaborazione tra il Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione (DEI), Laboratorio fNIRS del Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione (DPSS) e il Reparto di Patologia Neonatale del Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, si sono acquisiti dati di emodinamica cerebrale in continua per 7 giorni in un neonato prematuro ricoverato in terapia intensiva neonatale. In simultanea, il neonato è stato monitorato anche con un sistema di monitoraggio continuo della glicemia (CGM). L'analisi dei dati NIRS di questo esperimento pilota costituisce l'oggetto di questa tesi. Oltre ad essere di durata molto elevata, tali dati celano una risposta emodinamica relativa ad eventi di ipoglicemia o iperglicemia molto lenta, e sono pesantemente corrotti da artefatti da movimento. I normali metodi di elaborazione dei segnali spettroscopici normalmente usati in letteratura per ridurre la presenza degli artefatti da movimento non sono sufficienti a trattare adeguatamente questi dati.

In particolare, lo scopo di questa tesi è lo sviluppo di una nuova processing pipeline specifica per questa tipologia particolare di dati NIRS. Per risolvere il problema preliminare dell'eliminazione dei segnali con rapporto-segnale rumore troppo basso o eccessivamente corrotti da artefatti da movimento, è stato messo a punto un sistema di classificazione automatico basato su una Support Vector Machine (SVM) in grado di tenere conto delle molteplici caratteristiche dei segnali. Per far fronte al problema degli artefatti da movimento,

sono state combinate tra di loro alcune delle principali tecniche presenti in letteratura per la riduzione degli artefatti da movimento, quali l'analisi delle componenti principali (PCA), l'interpolazione spline degli artefatti e il filtraggio basato sulla trasformata Wavelet, con lo scopo di ottenere una stima quanto più verosimile della risposta emodinamica, introducendo il minor numero possibile di distorsioni o bias. I risultati ottenuti attraverso questa nuova processing pipeline hanno permesso di valutare la presenza di pattern comuni nelle risposte emodinamiche agli eventi di ipo o iperglicemia e di valutare in modo preliminare l'effettiva correlazione tra emodinamica cerebrale e glicemia nel neonato pretermine attraverso l'uso di specifiche metriche. La processing pipeline proposta può essere usata come punto di partenza per lo sviluppo di strategie di elaborazione dei dati NIRS con lo scopo di migliorare la comprensione dei complessi fenomeni che regolano lo stretto legame che intercorre tra emodinamica cerebrale e glicemia nella popolazione dei neonati pretermine.

Capitolo 1. Emodinamica e metabolismo cerebrale nei neonati prematuri

1.1 Legame tra emodinamica e metabolismo nel cervello

Il glucosio e l'ossigeno sono i substrati (rispettivamente organico ed inorganico) essenziali per il sostentamento del metabolismo cerebrale. I neuroni nelle diverse aree della corteccia cerebrale sono adibiti a svolgere funzioni diverse; ad esempio ci sono neuroni adibiti al riconoscimento di volti, altri adibiti alla pianificazione del movimento, ecc.

Il cervello umano adulto costituisce solo il 2 % del peso corporeo, ma rappresenta da solo il 20 % del consumo dell'ossigeno basale ed il 25 % del consumo di glucosio basale, ricevendo per questo il 15 % della gittata cardiaca complessiva. Esistono delle specifiche soglie di concentrazione di glucosio e saturazione di ossigeno al di sotto delle quali si possono registrare effetti negativi per il corpo, come perdita di conoscenza, metabolismo cerebrale anaerobico, compromissione dell'omeostasi ionica, perdita di integrità della membrana cellulare e infine danneggiamento irreversibile del tessuto cerebrale stesso [1].

Quando i neuroni adibiti all'elaborazione di un certo stimolo vengono chiamati in causa, questi esibiscono un aumento locale dell'attività metabolica e con essa un aumento della richiesta di ossigeno e glucosio, causando un aumento proporzionale dell'ossigenazione cerebrale e consumo di ossigeno. Circa tre quarti dell'apporto di ossigeno è utilizzato per il rifornimento di molecole di *ATP*, prodotte attraverso reazioni di ossidazione mitocondriali del glucosio, successivamente alla depolarizzazione della membrana neuronale dovuta al passaggio di un impulso nervoso [1]. Il cervello possiede un intricato e mirato meccanismo per reagire a queste richieste di ossigeno e glucosio, a cui si fa spesso riferimento come *accoppiamento neurovascolare*. Sebbene i fenomeni che regolano questo preciso meccanismo siano tutt'ora oggetto di studi, si sa che ad un aumento localizzato dell'attività neuronale segue un aumento del flusso ematico localizzato, chiamato risposta emodinamica. Ci si potrebbe aspettare una diminuzione localizzata della concentrazione dell'ossigeno dovuta all'aumento del metabolismo, tuttavia quello che si osserva è un aumento dei livelli dell'ossigenazione, in quanto il flusso sanguigno localizzato è significativamente maggiore del reale consumo di ossigeno: non appena il sangue fluisce con vigore nella zona cerebrale attiva si ha un aumento localizzato della concentrazione di *ossiemoglobina (HbO)* e una contemporanea diminuzione

della concentrazione di *deossiemoglobina* (*HbR*) [2]. Sebbene questo meccanismo sia ben definito nel cervello adulto, alcune differenze sono state trovate nel cervello neonatale. Nei neonati pretermine la risposta emodinamica dovuta all'attivazione neuronale pare essere incompleta rispetto a quanto accade nei soggetti adulti. Inoltre, alcuni studi di risonanza magnetica funzionale (fMRI) in neonati pretermine hanno rivelato un aumento nei livelli di *deossiemoglobina* ed una diminuzione del segnale *BOLD*, in controtendenza rispetto a quanto accade in neonati a termine e negli adulti [3].

In generale, il cervello umano è in grado di mantenere un flusso ematico relativamente costante lungo un intervallo anche piuttosto ampio di pressioni. Questa capacità è nota come autoregolazione cerebrale. Molte sono le ipotesi che sottendono i meccanismi dell'autoregolazione cerebrale, schematizzate in *Figura 1.1*.

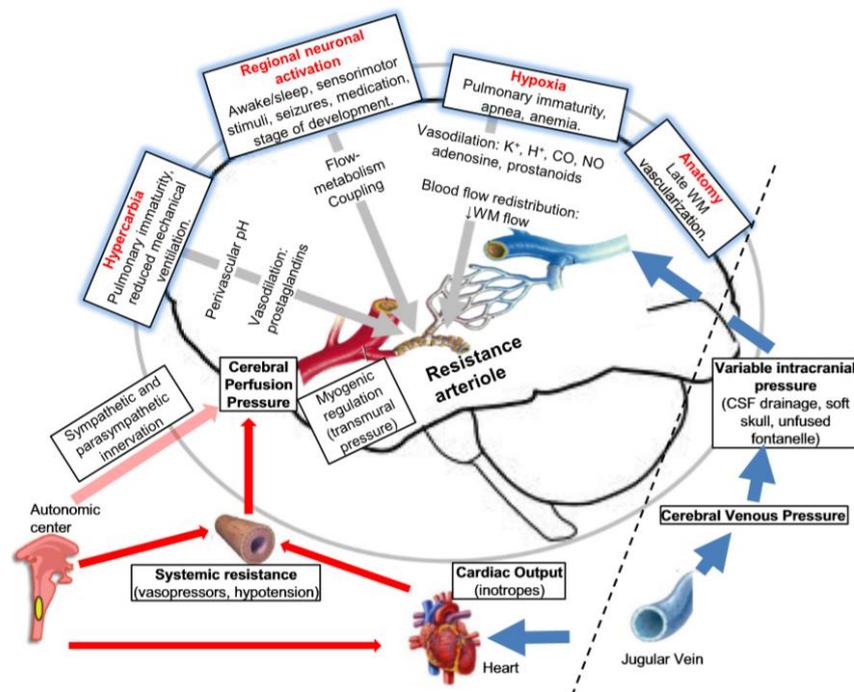


Figura 1.1: Illustrazione dei principali meccanismi che intervengono nell'autoregolazione del flusso ematico cerebrale nei neonati. Preso da [3].

Una di queste è il risultato diretto del cosiddetto riflesso miogenico, azionato attraverso una via calcio-dipendente nelle cellule muscolari lisce dei vasi sanguigni in risposta a cambiamenti

nella pressione transmurale (e presumibilmente nella tensione delle pareti dei vasi) causate da cambiamenti nella pressione di perfusione. La resistenza dei vasi sanguigni cerebrali è fondamentalmente regolata dagli strati muscolari dei vasi delle arteriole. Nel caso dei neonati pretermine la vasoreattività avviene prevalentemente nelle regioni superficiali e periferiche del cervello, con i vasi più profondi che rimangono praticamente passivi [1], [3].

Il flusso ematico cerebrale in prima battuta è proporzionale alla pressione parziale della CO_2 ma resta comunque governato dall'ossigenazione dei tessuti ed il contenuto di ossigeno arteriale è correlato principalmente con l'ossigeno legato all'emoglobina (e quindi alla saturazione di ossigeno) piuttosto che alla pressione parziale dell'ossigeno [1]. L'effetto della pressione parziale di CO_2 sulle cellule muscolari lisce delle pareti vascolari è dovuto ai cambiamenti del pH perivascolare che avvengono al passaggio delle molecole di CO_2 attraverso la barriera ematoencefalica, che attivano le pompe sodio-potassio causando una iperpolarizzazione delle cellule [3].

Quando i livelli di ossigeno trasportati sono bassi, come nel caso di ipoperfusione cerebrale oppure anemia, un possibile rimedio messo in atto dal cervello per supplire alla richiesta di ossigeno è quello di aumentare il tasso di estrazione dell'ossigeno dal sangue. Questo meccanismo rappresenta una difesa importante messa in atto dal cervello immaturo nel caso di un aumento della richiesta di metaboliti in condizioni particolarmente critiche, come nel caso di ipossia ischemica. Non è ancora tuttavia chiaro quale sia il limite di saturazione nell'estrazione di ossigeno nei neonati pretermine, sebbene in generale si osservi che il tasso di saturazione di ossigeno sia più elevato rispetto ai neonati a termine [3].

Un'altra ipotesi alla base del funzionamento dell'autoregolazione è il meccanismo metabolico, secondo il quale in risposta ad una riduzione del flusso ematico seguirebbe il rilascio di fattori vasoattivi da parte di neuroni ed astrociti, che promuovono la dilatazione dei vasi cerebrali adiacenti, come si può osservare in *Figura 1.2* [1].

Neuroni ed astrociti sono fisicamente molto vicini e sono funzionalmente accoppiati con le cellule muscolari lisce e le cellule endoteliali delle arteriole cerebrali. In risposta ad una attività cerebrale si ha quindi il rilascio di fattori metabolici vasoattivi, come H^+ , K^+ , NO , O_2 , adenosina, Ca^{++} e metaboliti del ciclo dell'acido arachidonico [3], i quali inducono un aumento della perfusione e quindi un conseguente lavaggio della zona interessata dagli stessi, operando come un sistema a feedback negativo che agisce direttamente sul tono (e quindi sulla resistenza) vascolare [1].

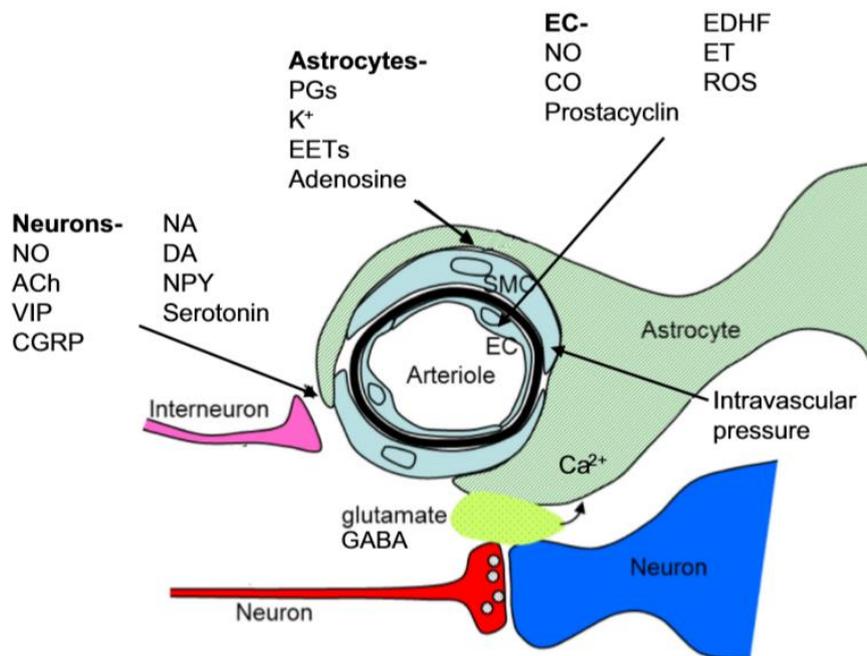


Figura 1.2: Illustrazione dei fattori metabolici che agiscono sul tono vascolare cerebrale. Presa da [3].

In particolare, la concentrazione dell'*adenosina*, un metabolita dell'*ATP*, aumenta durante l'ipossia o ipotensione cerebrale arteriale. Si tratta di un noto vasodilatatore cerebrale ed è considerato uno dei principali mediatori metabolici dell'autoregolazione.

Alcuni studi suggeriscono inoltre che la vasodilatazione, a seguito di una riduzione della pressione arteriale, sia dovuta alla ridotta pressione parziale dell'ossigeno nei tessuti, in grado di attivare un riflesso localizzato o causare un secondo rilascio di metaboliti vasodilatatori, come *adenosina* oppure *NO* [1], [3].

Il sistema nervoso autonomo può anch'esso agire sull'emodinamica cerebrale, principalmente per quanto riguarda i grandi vasi fino ad includere le parti prossimali, medie ed anteriori delle arterie cerebrali. Anche la temperatura è un fattore da tenere in considerazione, in quanto è in grado di incidere sulla variazione del flusso ematico cerebrale, agendo sull'utilizzo dell'ossigeno da parte delle cellule [1].

1.2 Importanza del metabolismo del glucosio nei neonati e legame con l'emodinamica

Durante la gravidanza la placenta fornisce al feto ossigeno e sangue ricco di nutrienti. Non appena il cordone ombelicale viene reciso, è il meccanismo di autoregolazione del neonato stesso che deve mantenere un adeguato apporto di ossigeno e substrati al cervello, per prevenire danni al tessuto cerebrale. [4]. I progressi nella medicina neonatale hanno fatto in modo di ridurre il tasso di mortalità infantile, soprattutto nel caso dei neonati prematuri (nati prima delle 37 settimane di gestazione). Tuttavia, rimangono ancora forti preoccupazioni per i problemi cognitivi o neurologici derivanti da uno sviluppo cerebrale avverso, causato ad esempio da emorragie, ipossie ischemiche e perturbazioni nell'emodinamica cerebrale, che accadono più frequentemente al ridursi dell'età gestazionale di nascita del neonato, a causa probabilmente della non terminata maturazione di alcune strutture cerebrali, come capillari fragili nella matrice germinale [5]. L'ipoglicemia è un disordine comune nei neonati ed è in grado di causare danni permanenti. Nella prima settimana di vita infatti episodi di ipoglicemia accadono in almeno il 60 % dei neonati pretermine e sono stati associati sia a fenomeni avversi a breve termine, come emorragie intraventricolari e retinopatie, sia ad un peggioramento nello sviluppo neurosensoriale durante i primi 2 anni di vita [6]. Il mantenimento di un livello glicemico fisiologico è quindi di importanza critica nella cura dei bambini nati pretermine in quanto in generale i problemi nel controllo dei livelli glicemici comportano un aumento generale del livello di mortalità infantile.

La somministrazione di insulina si è dimostrata una terapia efficiente per ridurre gli episodi di iperglicemia, ma allo stesso tempo conduce ad un aumento degli episodi ipoglicemici senza tuttavia aumentare il rischio di mortalità [6]. Alcuni studi suggeriscono peraltro che la concentrazione di glucosio sia in grado di influenzare i livelli di ossigenazione cerebrale durante il periodo di transizione neonatale [4].

I neonati pretermine presentano nello specifico un flusso ematico cerebrale significativamente ridotto, in quanto la densità di vascolarizzazione cerebrale del cervello in fase di sviluppo non è molto elevata, la gittata cardiaca è bassa e più in generale il flusso circolatorio è minore. Questo comporta un rischio maggiore per la sicurezza dei neonati, in quanto sono più esposti a danni neurologici. Sebbene l'etiologia delle lesioni cerebrali nei neonati pretermine sia piuttosto complessa, è generalmente accettato che l'ipossia e una scarsa perfusione cerebrale portino alcune regioni cerebrali, in particolare la materia bianca, ad essere maggiormente

esposte a condizioni patologiche anche gravi, come ad esempio l'ipossia ischemica, in grado di provocare danni cerebrali sia a breve che lungo termine, con un conseguente impatto sulla qualità della vita del nascituro [3]. La neuro-morbilità tende ad aumentare con il decrescere dell'età gestazionale e questo fa pensare che il fattore determinante dei danni cerebrali nei neonati pretermine sia proprio dovuto al meccanismo di autoregolazione non ancora perfettamente sviluppato e al sistema di circolazione cerebrovascolare non ancora completamente maturo [3]. Eventi come iper-perfusione ed ipo-perfusione rappresentano perciò fattori di rischio da non sottovalutare nei neonati pretermine. L'iper-perfusione, provocata da un aumento del flusso ematico, può causare un aumento di pressione a livello di vene e capillari (fragili, perché ancora in fase di formazione), fluttuazioni nella perfusione cerebrale e disturbi nel processo di autoregolazione. L'ipo-perfusione, provocata da una diminuzione del flusso ematico, può causare scompensi nell'emodinamica cerebrale e danni irreversibili come ipossie ischemiche, soprattutto a livello periventricolare della materia bianca [5].

Non è difficile intuire quindi quanto sia importante la possibilità di monitorare per periodi di tempo anche prolungati parametri vitali quali la glicemia e l'emodinamica cerebrale, in particolar modo i livelli di ossigenazione, soprattutto in soggetti potenzialmente fragili come lo sono i neonati pretermine, in quanto una volta insorte complicazioni cerebrali non esistono opzioni terapeutiche che le possano risolvere [5]. Da qui l'esigenza di trovare tecnologie e metodiche di monitoraggio che siano allo stesso tempo poco invasive (per poter permettere l'acquisizione di dati per tempi molto lunghi) e che possano integrarsi con la normale strumentazione già presente nelle sale di terapia intensiva. Strumentazioni come i sistemi di monitoraggio glicemico continuo per il controllo continuo della glicemia ed i metodi di neuroimaging ottico cerebrale offrono grandi potenzialità di applicazione sia in ambito clinico che di ricerca in ambito neonatale.

1.3 Metabolismo cerebrale del glucosio e altri substrati

Per trasmettere gli impulsi nervosi è necessario mantenere un preciso gradiente ionico attraverso le membrane delle cellule cerebrali. Questo processo richiede energia sotto forma di *ATP*. La sorgente principale di energia nel cervello è rappresentata dall'ossidazione del glucosio in CO_2 e H_2O [1]. Subito dopo il parto, quando avviene il taglio del cordone ombelicale, i

neonati devono adattarsi in fretta alle nuove condizioni ambientali e produrre in maniera indipendente il glucosio, precedentemente fornito dalla madre, per rispondere alla richiesta cellulare di *ATP*. Il mantenimento dell'euglicemia dipende dalla produzione endogena del glucosio epatico attraverso i processi di glicogenolisi e gluconeogenesi da parte del tessuto epatico, in risposta a cambiamenti di concentrazione di catecolamine, glucagone, insulina e corticosteroidi nel plasma. Il controllo insulinico sulla produzione del glucosio non è ancora del tutto sviluppato, soprattutto per quanto riguarda i neonati pretermine, in quando le cellule β pancreatiche sono ancora immature, inducendo quindi degli squilibri nei livelli di insulina che possono causare eventi ipoglicemici. È necessario ricordare che i disturbi dell'omeostasi glicemica nei neonati sono dovuti anche alle ridotte riserve metaboliche, incluso il glicogeno. Il rischio di ipoglicemia aumenta se sono presenti ulteriori fattori di rischio quali sepsi, asfissia natale o stress da freddo [7].

La richiesta elevata di glucosio nei neonati riflette l'utilizzo del glucosio da parte del cervello, il quale utilizza circa l'80 % dell'ammontare totale di glucosio prodotto per produrre energia. Il glucosio è trasportato attraverso la membrana ematoencefalica verso i neuroni ed astrociti (glia) sfruttando due sistemi di trasporto isoformi specifici per il glucosio, rispettivamente *GLUT-1* nella barriera ematoencefalica e glia, *GLUT-3* nei neuroni. Gli astrociti sono le centrali elettriche locali in cui è immagazzinato il glicogeno e fungono da sorgente immediata di glucosio (*Figura 1.3*) [1], [7].

Oltre al glucosio, anche altri substrati come chetoni e lattato sono trasportati attraverso la membrana ematoencefalica verso i neuroni attraverso specifiche isoforme dei trasportatori. Il lattato specialmente ricopre un ruolo importante, in quanto fa parte di un meccanismo di protezione compensatorio in caso di eventi ipoglicemici. Sono sempre più evidenti le prove dell'esistenza di un *metabolismo del lattato accoppiato*: il lattato prodotto dalla glicolisi nella glia è rilasciato nello spazio extracellulare, dove viene catturato dai neuroni ed utilizzato anaerobicamente attraverso il piruvato e l'acido tricarbossilico per generare energia, come si può osservare in dettaglio in *Figura 1.3* [1], [7].

Si suppone quindi che il lattato possa essere un substrato energetico essenziale durante l'attivazione neuronale ed il recupero delle funzionalità sinaptiche post-ipossia. Il cervello è comunque in grado di utilizzare anche altri substrati oltre al lattato per ricavare energia, come piruvato, amminoacidi, acidi grassi, corpi chetonici e glicerolo. Tuttavia, è necessario tenere presente che, rispetto ai neonati a termine, i neonati pretermine non hanno grandi riserve lipidiche e non sono quindi in grado di effettuare una lipolisi efficiente, rendendoli più sensibili

a danni derivanti da ipoglicemie in quanto i meccanismi di protezione ipoglicemica non sono totalmente funzionanti [1], [7].

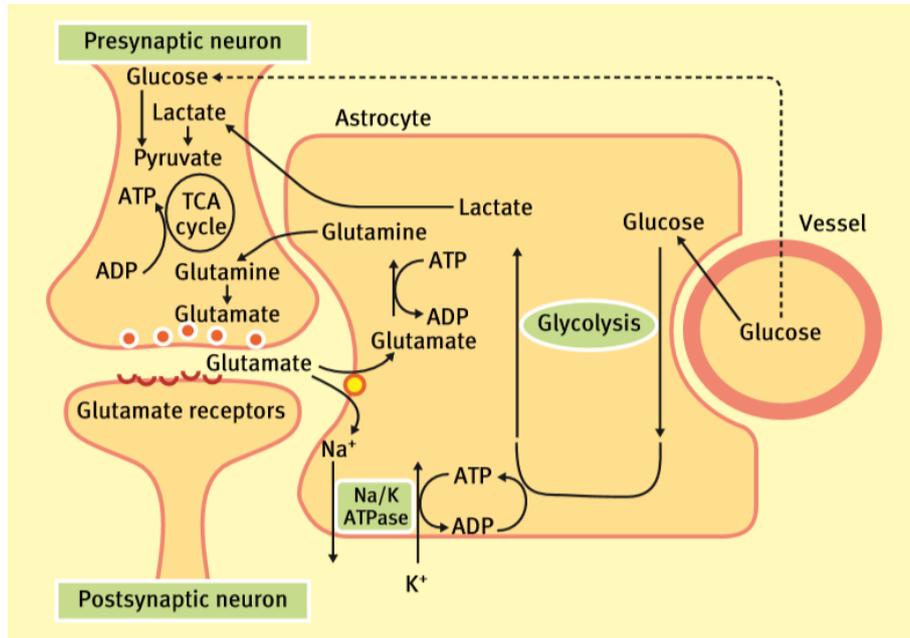


Figura 1.3: Illustrazione del ruolo degli astrociti nel metabolismo cerebrale del glucosio e dell'esistenza del meccanismo di compensazione metabolico basato sul ciclo del lattato. Presa da [1].

L'ipoglicemia neonatale può causare convulsioni, danni neuronali e morte. Sono molti gli studi volti a spiegare i meccanismi di danno subiti da materia grigia e bianca durante gli eventi ipoglicemici. Studi su modello animale hanno dimostrato che sono necessari lunghi periodi di ipoglicemia affinché ipossia ed ischemia possano provocare seri danni cerebrali. Il cervello dei neonati, soprattutto la materia bianca, ha un consumo di ossigeno relativamente ridotto, perciò il rifornimento di glucosio è essenzialmente quello necessario a rispondere alle sole richieste metaboliche cellulari. La sorgente principale di glucosio è quindi proprio il flusso ematico cerebrale. Nel caso si verifichi un episodio di ipoglicemia l'ipotesi più probabile è che si verifichi un aumento del flusso ematico atto a compensare la ridotta concentrazione di glucosio. Quando però l'ipoglicemia è prolungata nel tempo ed i substrati metabolici alternativi sono stati esauriti possono comparire gli effetti biochimici negativi del metabolismo cellulare. L'*eccitotossicità* è un meccanismo importante coinvolto nel danneggiamento del tessuto

cerebrale dei neonati. Il glutammato è il principale neurotrasmettitore eccitatorio e la maggior parte di neuroni, oligodendrociti e astrociti possiede dei recettori per il glutammato. Fenomeni come ischemia ipossica, ipoglicemia, ictus ecc. possono disturbare le funzioni sinaptiche provocando un accumulo di glutammato extracellulare e quindi una sovraeccitazione dei rispettivi recettori. La stimolazione eccessiva dei recettori del glutammato oppure dei complessi di trasporto dei canali ionici induce un influsso di calcio che a sua volta innesca una cascata di eventi cellulari che terminano in apoptosi o necrosi cellulare. Anche i radicali liberi reagenti con l'ossigeno (*ROS*) giocano un ruolo chiave nel processo di danno da ipoglicemia neonatale. A seguito di un evento ipoglicemico, i mitocondri di un cervello immaturo aumentano la produzione di radicali liberi, i quali sono in grado di alterare struttura e funzioni cerebrali a causa del loro elevato potere ossidativo su proteine mitocondriali, DNA e segnali di trasduzione [7].

Si sa inoltre che durante un evento ipoglicemico viene liberata *adenosina*, un metabolita dell'*ATP*, che a sua volta può indurre morte cellulare. Tuttavia, sono stati osservati dei recettori antagonisti dell'*adenosina* in grado di invertire l'effetto negativo di questa molecola sui neuroni. Come ultima osservazione, ipoglicemia ed ipossia aumentano l'afflusso di ioni calcio che controllano l'attivazione di enzimi proteolitici, i geni di attivazione dell'apoptosi e la produzione diretta dei radicali liberi [7].

1.4 Studio della relazione tra emodinamica cerebrale e glicemia: stato dell'arte

Il mantenimento di un livello fisiologico della quantità di glucosio nel sangue nella prima settimana di vita è di importanza critica nei neonati pretermine, in quanto, come spiegato precedentemente, il loro sistema di controllo glicemico non è ancora completamente maturo. Alcuni studi hanno mostrato un impatto negativo della variabilità glicemica presente in questa popolazione sullo sviluppo cerebrale, con un aumento del rischio di danni cerebrali quali emorragie intraventricolari, retinopatie ed in generale un aumento della morbilità, all'aumentare del numero critico di eventi di ipo o iperglicemia [4], [6].

I neonati pretermine possono tuttavia tollerare anche bassi livelli di glucosio senza la comparsa di malfunzionamenti cerebrali immediati. I bassi livelli dell'attività cerebrale nel cervello immaturo e l'uso di substrati alternativi potrebbero essere in parte il motivo della diversa

tolleranza alle ipoglicemie a differenti età. Durante i periodi di bassa disponibilità di glucosio si è infatti osservato un aumento del flusso cerebrale, probabilmente per aiutare a mantenere un apporto di glucosio a livelli fisiologici. Non è ancora del tutto chiaro come il glucosio agisca sul controllo del flusso ematico cerebrale, ma è necessario tenere a mente due importanti fattori: il reclutamento di capillari non ancora perfusi e la presenza di flusso laminare nei capillari. Un aumento del flusso di sangue dovuto ad un aumento del numero di capillari coinvolti determina un aumento dell'area superficiale di endotelio in cui sono presenti trasportatori di glucosio, mentre un aumento del flusso locale all'interno dei singoli capillari aumenta la concentrazione media di glucosio. Il trasporto del glucosio dal sangue ai neuroni è mediato principalmente attraverso specifici siti di trasporto che presentano una cinetica a saturazione nel caso in cui la concentrazione di glucosio sia elevata. In accordo con la legge di Michaelis-Menten, il flusso di glucosio è determinato dalla concentrazione media di glucosio nel plasma e dalla velocità massima di saturazione. In condizioni normali approssimativamente il 50 % dei capillari cerebrali sono contemporaneamente aperti ed il reclutamento di nuovi capillari può potenziare la capacità di trasporto, essendo la velocità massima di saturazione proporzionale all'area superficiale contenente i siti di trasporto del glucosio. Analogamente, il reclutamento di nuovi capillari sarebbe in grado di preservare il quantitativo di glucosio trasportato nei regimi di restrizione glicemica [8].

In uno studio condotto da Pryds e colleghi su gruppi di neonati normoglicemici ed ipoglicemici, il flusso ematico cerebrale è risultato significativamente più elevato nel gruppo ipoglicemico rispetto al gruppo normoglicemico. Questo è dovuto ad una clearance maggiore nei due compartimenti lenti (rispettivamente materia bianca e grigia). Successivamente al trattamento con infusione di glucosio, si è notata una diminuzione rilevante del flusso ematico. In questi pazienti i casi di ipoglicemia sono stati di breve durata, e non si sono rilevati fenomeni quali ipotensione arteriale, ipossia o precedente asfissia che avrebbero potuto impedire l'aumento compensatorio del flusso ematico e quindi aumentare la vulnerabilità rispetto all'ipoglicemia. L'iper-perfusione in questo caso non è dovuta a pressione sanguigna elevata, iperemia, ipossia, ecc., ma bensì alla vasodilatazione in risposta alla mancanza di substrati da parte delle cellule. Successivamente all'infusione di glucosio si è notato un significativo decremento del flusso ematico cerebrale, a riprova quindi del legame diretto tra flusso ematico e disponibilità di substrati [9].

Skov e Pryds in un loro studio [8] suggeriscono una possibile spiegazione della relazione tra glicemia e flusso ematico cerebrale: l'esistenza di specifici sensori glicemici cerebrali. L'accoppiamento tra richiesta cerebrale di glucosio e trasporto di substrato è mediato dal tono

delle arteriole precapillari, perciò il volume ematico cerebrale e la concentrazione di ossiemoglobina decrescono in parallelo. La velocità con cui i vasi sanguigni reagiscono alle infusioni di glucosio è identica a quella indotta da una variazione nel trasporto di ossigeno o da cambiamenti della pressione parziale di CO_2 e potrebbe indicare quindi la presenza di sensori cerebrali per il glucosio nel cervello [8].

Sebbene la risposta iniziale all'ipoglicemia sia un aumento del flusso cerebrale per compensare la carenza di glucosio, è stata comunque osservata anche una ipo-perfusione ritardata dopo ipoglicemie moderate e severe. Il fenomeno di ipo-perfusione è rilevante, in quanto è correlato anch'esso a possibili danni cerebrali. In uno studio condotto da Nan-Tsing e colleghi [10] su tre neonati affetti da encefalopatia ipoglicemica sono state rilevate anomalie nella perfusione cerebrale attraverso tomografia ad emissione a singolo fotone (*SPECT*). Il livello di ipo-perfusione rilevato si è dimostrato correlato con il grado di encefalopatia causato da ipoglicemia acuta e con la severità dei danni neurologici riportati. Durante le fasi più acute due pazienti hanno mostrato sintomi severi, quali livelli di glucosio molto bassi, cianosi, convulsioni intrattabili ed ipossia. Questo studio suggerisce quindi come l'ipo-perfusione cerebrale ed i conseguenti sintomi possano essere a tutti gli effetti correlati con l'*encefalopatia ipoglicemica* causata da ipoglicemia acuta nei neonati. Sebbene i neonati mostrino un flusso cerebrale elevato nelle regioni occipitali del cervello, altri fattori incluso il glucosio cerebrale, richieste metaboliche e l'afflusso di glucosio stesso contribuiscono alla vulnerabilità di tali aree durante eventi ipoglicemici. Utilizzando delle analisi *SPECT* e *fMRI* è stato osservato che le aree maggiormente coinvolte in danni da ipoglicemia sono localizzate prevalentemente nella porzione posteriore del cervello, in particolare nelle regioni occipitali e parietali posteriori [10]. Per finire, in un recente studio condotto da Matterberger e colleghi su neonati a termine e pretermine, viene riportata una significativa correlazione tra il tasso di estrazione dell'ossigeno cerebrale ($crSO_2$), il tasso di saturazione dell'ossigeno cerebrale regionale ($cFTOE$) ed i livelli di glicemia durante il periodo di transizione neonatale immediatamente dopo il parto, come si osserva in *Figura 1.4* [4].

La correlazione maggiore si presenta nei soggetti nati pretermine, sebbene ci sia una buona correlazione anche nei neonati a termine, in accordo con la teoria del reclutamento dei capillari cerebrali in base alla concentrazione di glucosio e con il sistema di autoregolazione neonatale non ancora completamente stabile e maturo [4].

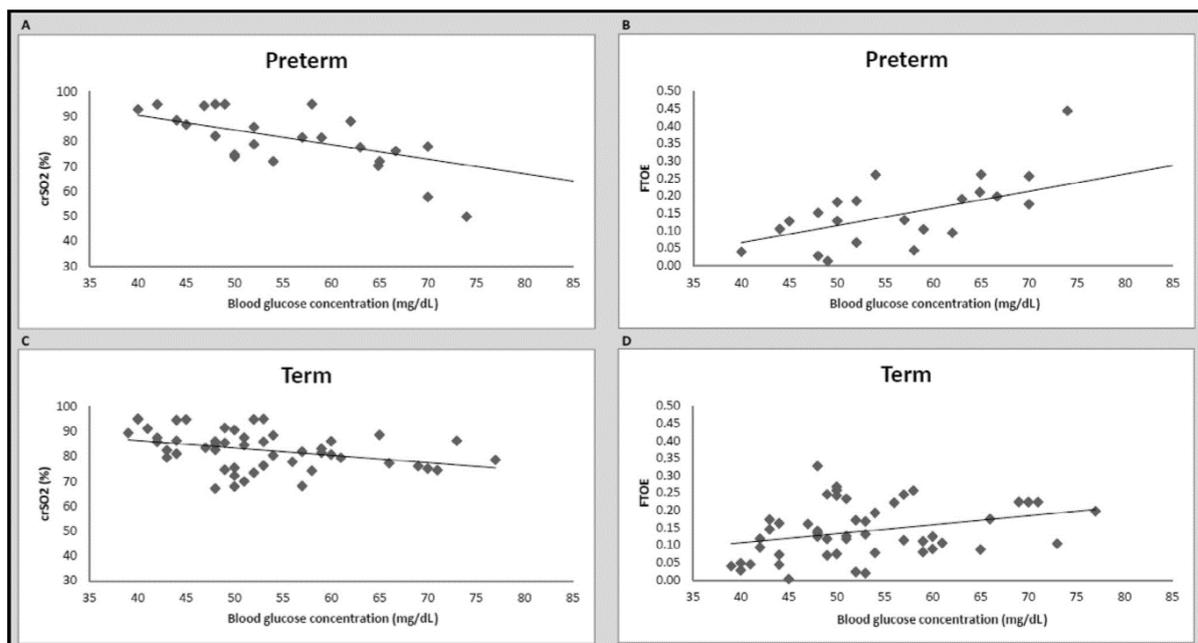


Figura 1.4: Correlazioni tra $crSO_2$, $cFTOE$ e concentrazione di glucosio in neonati pretermine ed in termine. Presa da [4].

1.5 Monitoraggio glicemico continuo e applicazioni in ambito neonatale

I sistemi di monitoraggio glicemico continuo (Continuous Glucose Monitoring - CGM) rappresentano una classe di apparecchiature in grado di fornire misurazioni dinamiche e in tempo reale delle variazioni dei livelli di glucosio nel sangue e permettono quindi un controllo glicemico continuativo, più fine e sicuro. Sono spesso associati ad avanzati algoritmi di controllo in tempo reale per il trattamento insulinico [6]. I principi di funzionamento di tali dispositivi sono presenti, per agilità di lettura, in Appendice A.

In *Figura 1.5* è possibile osservare un esempio di questi sistemi. Sono solitamente utilizzati in pazienti diabetici adulti di tipo 1 e 2, quando è necessaria una terapia insulinica intensiva. Attraverso il sistema classico di controllo, infatti, la maggior parte dei pazienti non è in grado di raggiungere un adeguato livello glicemico senza incorrere in episodi di ipoglicemia anche severa [11]. Molto spesso i trattamenti non sono ottimali e questo è causa di un cattivo controllo glicemico, in quanto non tutti i pazienti sono in grado di identificare correttamente ed interpretare i risultati dei test glicemici, la complessità dei regimi glicemici o delle loro medicazioni ed in generale i comportamenti della vita quotidiana possono influenzare il loro livello di glucosio compromettendo di fatto la qualità della terapia. Non è raro poi che gli

episodi di ipoglicemia avvengano di notte oppure che siano asintomatici. Entrambi questi scenari impediscono al paziente di percepire correttamente il proprio livello glicemico e di agire tempestivamente per risolvere il problema. Le ipoglicemie notturne inoltre costituiscono la maggior parte degli episodi ipoglicemici totali e destano una grande preoccupazione sia in adulti che bambini, soprattutto dopo aver svolto dell'attività fisica [11].



Figura 1.5: Esempio di sistema CGM e sua applicazione in situ su neonati pretermine. Preso da [12].

I sistemi CGM sono stati inizialmente sviluppati per i pazienti affetti da diabete mellito e sono stati utilizzati in ambito neonatale solo recentemente e a scopo di ricerca, ad esempio per studi riguardanti il metabolismo. Il monitoraggio continuo del glucosio nei reparti di terapia intensiva neonatale, sebbene di vitale importanza, non è ancora una pratica clinica di routine, in quanto si vuole limitare il numero di interventi sui neonati. I sistemi *CGM* sono ben tollerati dai

neonati, anche quelli nati pretermine, sebbene abbiano un peso ridotto, limitata disponibilità di tessuti sottocutanei e siano potenzialmente più a rischio di infezioni [12], [13].

Alcuni neonati, ad esempio, possono presentare episodi di ipoglicemie transitorie prolungate, che anziché risolversi nel giro di qualche giorno hanno una durata di alcune settimane, a causa di una regolazione non corretta da parte delle cellule β del pancreas: si capisce come un controllo glicemico stretto e continuo sarebbe estremamente necessario in questa popolazione per evitare l'insorgenza di danni cerebrali. I sistemi CGM potrebbero quindi avvisare di un imminente stato ipo o iperglicemico e potrebbero facilitare la transizione precoce del paziente verso l'alimentazione enterale [13]. Problemi nel controllo glicemico sono inoltre comuni nei neonati affetti da encefalopatia ipossica ischemica e sia episodi di ipoglicemia che iperglicemia possono ridurre ulteriormente la sopravvivenza dei pazienti e impattare sullo sviluppo cerebrale. Il controllo glicemico in questa tipologia di neonati dovrebbe quindi essere in grado di mantenere un livello di glicemia quanto più possibile regolare e può essere difficoltoso con le normali tecniche di monitoraggio, a meno di aumentare la frequenza dei prelievi di sangue. Anche in questo caso il controllo in continua della glicemia utilizzando sistemi CGM renderebbe possibile un regime glicemico più stabile. Nel caso di neonati pretermine, sia gli eventi iperglicemici che quelli ipoglicemici sono risultati essere associati ad un aumento della mortalità, retinopatie, sepsi e/o in generale a problemi nello sviluppo cerebrale a lungo termine [13]. Come descritto in precedenza, il sistema di gestione del glucosio nei neonati pretermine è ancora immaturo e per questo sono soggetti a queste importanti variazioni glicemiche. I neonati pretermine sono quindi una popolazione che sicuramente potrebbe trarre beneficio dall'uso di sistemi CGM in ambito clinico e sono anche una popolazione su cui i sistemi CGM sono facilmente testabili, proprio grazie all'elevata preponderanza di ipo e iperglicemie in questa popolazione. In un recente studio pubblicato da Galderisi e colleghi, è stato messo in evidenza come l'uso di questi sistemi possa migliorare nettamente il controllo glicemico nella popolazione dei neonati pretermine [6]. La procedura standard per il controllo glicemico nei neonati pretermine prevede saltuari campionamenti di sangue per valutarne la concentrazione glicemica. La mancanza di un campionamento costante impedisce tuttavia la rilevazione di tutte le fluttuazioni del segnale glicemico che avvengono tra un campionamento e l'altro, anche quelle più estese che potrebbero sfociare spesso in episodi di ipoglicemia o iperglicemia. I sistemi CGM sono invece in grado di registrare con successo tutte queste fluttuazioni. Inoltre, offrono la possibilità di aggiustare i nutrienti in tempo reale in base agli specifici requisiti metabolici di ciascun individuo ed al trend glicemico misurato. Nel caso di iperglicemia, si

potrebbe intervenire tempestivamente, o modificando l'apporto nutrizionale oppure, nei casi più estremi, somministrando insulina [12], [13].

Sebbene l'uso questi sistemi sia molto attraente in ambito di terapia intensiva neonatale, attualmente vi sono solo alcuni studi che cercano di capire i benefici e i rischi dell'uso di questa tecnologia: non sono ancora del tutto risolti problemi legati all'accuratezza delle misure, ritardi nelle stime glicemiche rispetto ai valori reali, drift delle misurazioni stesse e la calibrazione dei sensori, che deve essere ripetuta obbligatoriamente dopo alcune ore. Esistono tuttavia svariate situazioni cliniche in cui il controllo glicemico continuo attraverso sistemi CGM potrebbe fare la differenza nella cura del paziente [13].

1.6 Spettroscopia nel vicino infrarosso e applicazioni in ambito neonatale

1.6.1 Fondamenti della NIRS

La spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) è una tecnica di imaging ottico non invasiva, sviluppata alla fine degli anni '70 del secolo scorso, che sfrutta le proprietà di onde luminose con lunghezza d'onda nel rosso e nel vicino infrarosso per investigare l'emodinamica cerebrale attraverso la misurazione di variazioni di concentrazione di *ossiemoglobina (HbO)* e *deossiemoglobina (HbR)*. Si basa sul principio dell'"accoppiamento neurovascolare", per cui l'attivazione neurale è accompagnata da variazioni emodinamiche. La NIRS utilizza delle sorgenti, che emettono onde luminose, poste a contatto con la cute della testa, e dei rilevatori, posti anch'essi a contatto con la cute della testa, che misurano la quantità di luce che riemerge. Ogni coppia sorgente-rilevatore viene definita canale e definisce una distinta misura emodinamica in un punto preciso della corteccia cerebrale. Nel caso si utilizzi una configurazione che prevede più sorgenti luminose e più rilevatori, posizionati secondo precise regole, la tecnica si chiama Tomografia Ottica Diffusa (DOT). Grazie alla particolare disposizione dei canali, con la DOT si possono ottenere delle vere e proprie mappe tomografiche delle variazioni emodinamiche cerebrali [2], [14].

I metodi ottici sono stati usati sin dai primi decenni del ventesimo secolo per investigare le proprietà dei tessuti. Matthes e Gross, ancora nel 1940, dimostrarono per la prima volta che la luce nel vicino infrarosso era sensibile alla concentrazione delle molecole di ossiemoglobina e deossiemoglobina. Nel 1977 Frans Jöbis realizzò il primo esperimento di spettroscopia

transcranica, dimostrando che la luce nell'intervallo del vicino infrarosso era in grado di viaggiare attraverso lo scalpo fino al tessuto cerebrale e ritorno, per essere misurata sulla superficie della testa. Per la prima volta un metodo ottico fu impiegato per rilevare cambiamenti nell'ossigenazione cerebrale nei soggetti adulti [2].

Con il passare degli anni, numerose furono le applicazioni della tecnologia *NIRS* per lo studio funzionale delle varie aree cerebrali, incluse quella visiva [15], uditiva [16] e le cortecce prefrontali [17], somatosensoriali [18], motorie [19] ed il sistema del linguaggio [20]. Oltre agli studi relativi ad esperimenti sulla funzionalità cerebrale, la *NIRS* è stata ed è tutt'ora impiegata in ambiti di ricerca clinici. Esempi della sua applicazione si possono trovare nella prevenzione e trattamento di convulsioni e nel morbo di Alzheimer [21], per il monitoraggio dello stato cerebrale dei neonati subito dopo il parto [22] e nei pazienti con ictus cerebrale [23]. Ulteriori applicazioni si trovano anche in campo psichiatrico, per quanto concerne depressione e schizofrenia [24].

Negli ultimi anni si è visto un incremento nel numero dei dispositivi *NIRS*, in quanto le misurazioni *NIRS* possono fornire informazioni addizionali rispetto alle altre tecniche di imaging dell'emodinamica cerebrale, quali ad esempio la Risonanza Magnetica Funzionale (fMRI) e la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET), e, soprattutto, la *NIRS* può essere utilizzate in ambiti in cui queste altre tecniche non possono o possono difficilmente essere impiegate (ad esempio su pazienti con protesi metalliche o sui neonati). In particolare, la *NIRS* offre una risoluzione temporale maggiore della fMRI e permette di ricavare informazioni sia sulle variazioni di concentrazione della ossiemoglobina che della deossiemoglobina, mentre l'fMRI fornisce una misura unica. La *NIRS* è una tecnica meno costosa della fMRI e della PET, in quanto i sistemi ottici sono molto meno esosi in termini di acquisto e manutenzione, hanno dimensioni ridotte e sono maggiormente portabili. Inoltre, le acquisizioni *NIRS* possono essere condotte in ambienti sperimentali maggiormente controllati rispetto ai rumorosi e confinati scanner fMRI o PET. Infine, i sistemi *NIRS* sono in grado di tollerare maggiormente i movimenti del paziente sotto esame, in quanto è possibile fissare saldamente la strumentazione alla testa del paziente attraverso appositi caschetti, permettendo studi con i movimenti dei pazienti stessi, come ad esempio studi sugli effetti di particolari esercizi o posture sui segnali cerebrali [25]. La *NIRS* non è tuttavia esente da svantaggi o prestazioni inferiori alla fMRI e alla PET sotto altri aspetti. Ad esempio, la risoluzione e localizzazione spaziali sono inferiori rispetto a quelle che si riescono ad ottenere tramite MRI [2]. Per quello che riguarda i principi fisici di funzionamento della *NIRS*, si rimanda all'Appendice B.

1.6.2 Il segnale NIRS e le sue sorgenti di rumore

Per quello che riguarda questa tesi, di interesse sono le sorgenti di rumore e artefatti nelle misurazioni NIRS. Innanzitutto, è sempre presente il *rumore elettronico* prodotto dalla strumentazione di misura e dai sistemi di elaborazione. In generale per il rumore elettronico si assume che possa essere descritto da un modello a spettro bianco oppure un modello in cui lo spettro di frequenza del rumore possa essere stimato attraverso specifici esperimenti che impieghino dei phantom con proprietà ottiche realistiche. La frequenza di campionamento dei segnali NIRS è in genere molto più elevata rispetto alla frequenza con cui variano le componenti emodinamiche registrate nei segnali e questo permette di valutare le caratteristiche del rumore elettronico anche semplicemente analizzando lo spettro dei segnali nelle bande di frequenza più elevate [26].

Esistono poi molte altre componenti indesiderate nei segnali acquisiti, che possono essere definite *errori sperimentali*. Per esempio, artefatti dovuti al movimento del soggetto oppure dovuti a qualche inosservanza del paradigma sperimentale scelto [26].

I movimenti del soggetto possono introdurre variazioni indesiderate piuttosto rilevanti nelle misurazioni, a cui ci si riferisce in generale come *artefatti da movimento*. Questi artefatti da movimento possono essere originati da molteplici fattori. Il movimento della testa del soggetto può provocare il disaccoppiamento tra gli optodi e la cute e indurre anche variazioni locali nella circolazione sanguigna dello scalpo. Anche il semplice movimento dei muscoli facciali e della mascella può indurre la comparsa di questi artefatti. Queste componenti indesiderate possono oscurare le variazioni emodinamiche cerebrali più rilevanti e piccole contenute nel segnale e devono quindi necessariamente essere eliminate o almeno ridotte prima di procedere con la stima delle variazioni emodinamiche [27], [28]. Gli artefatti da movimento possono avere forme differenti, così come differenti contenuti spettrali. Si possono presentare come picchi con ampiezza e frequenza elevate facilmente individuabili nelle serie di dati oppure si possono presentare come variazioni a bassa frequenza, quindi essere difficilmente distinguibili dalle variazioni emodinamiche. In generale possiamo riconoscere tre tipologie fondamentali di artefatti da movimento:

- 1) Spike
- 2) Cambiamenti di baseline
- 3) Variazioni a bassa frequenza

Nel caso di un semplice spike (Figura 1.6), l'artefatto si presenta come una variazione molto rapida e ampia del segnale, con un ritorno veloce al valore medio di intensità precedente all'artefatto. Nel caso di cambiamenti di baseline (Figura 1.6) invece si nota un salto nei dati di intensità luminosa, per cui localmente prima e dopo l'artefatto i valori di intensità saranno mediamente diversi. Questi artefatti possono essere isolati o correlati temporalmente con la risposta emodinamica. Proprio per questo motivo l'efficienza di una tecnica di riduzione degli artefatti da movimento piuttosto che un'altra risente molto della particolare tipologia di artefatto che si vuole eliminare [27].

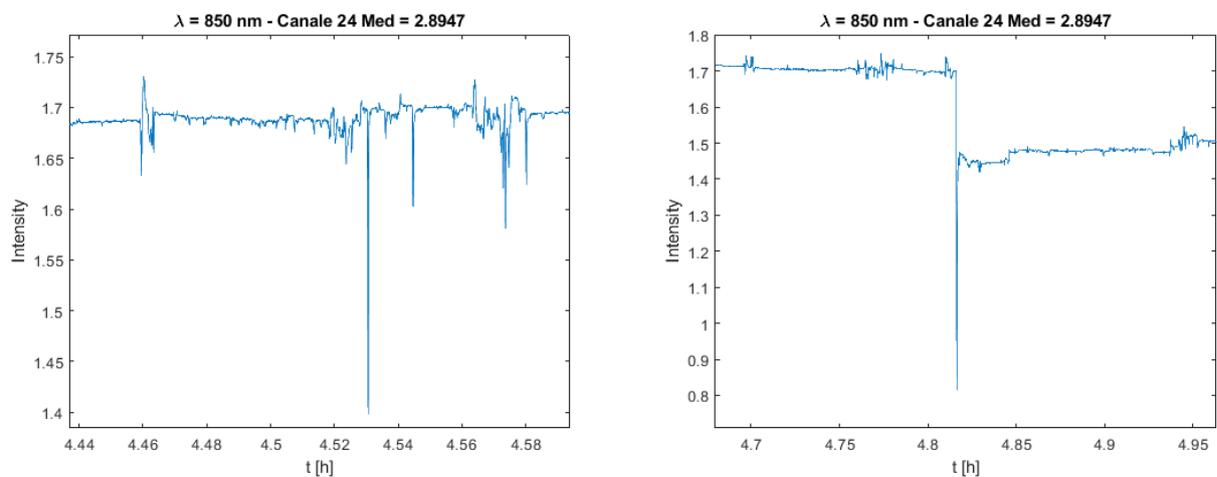


Figura 1.6: A sinistra, esempi di artefatti di tipo spike ad alta frequenza. A destra, esempio di artefatto dovuto al cambiamento della baseline.

I metodi ottici sono comunque piuttosto tolleranti nei confronti degli artefatti da movimento: sebbene il segnale ottico possa essere transitoriamente compromesso a causa del moto relativo tra lo scalpo e la strumentazione, i dati acquisiti prima e dopo l'artefatto generalmente non risentono dell'artefatto stesso [2]. Se la strumentazione è saldamente fissata alla testa del soggetto, si aumenta la possibilità che il soggetto sia libero di muoversi liberamente riducendo l'effetto di questi artefatti. Tuttavia, non è possibile eliminare del tutto la presenza di questi artefatti per via meccanica, soprattutto nel caso di soggetti particolari come bambini e neonati, in quanto è impensabile pretendere di posizionare perfettamente la strumentazione sulla testa di questi soggetti e realizzare misurazioni per lunghi periodi in cui si ci sia anche un buon controllo del movimento [26].

Oltre al normale rumore da strumentazione, un tipico segnale ottico conterrà anche componenti di rumore di derivazione fisiologica. Mentre il rumore elettronico di misura può essere eliminato attraverso una semplice operazione di filtraggio, implementando ad esempio un filtro in frequenza che elimini la componente di spettro relativa al rumore, gli artefatti fisiologici sono molto più insidiosi e possono mascherare parte della risposta emodinamica. Il rumore fisiologico include tutte quelle variazioni dei segnali NIRS che hanno origine fisiologica ma che non sono collegate all'attività cerebrale: battito cardiaco, respirazione, variazioni di pressione localizzate, onde vasomotorie (chiamate anche onde di Mayer) e oscillazioni a bassa frequenza sono alcuni esempi di queste fluttuazioni (*Figura 1.7*) [2], [26].

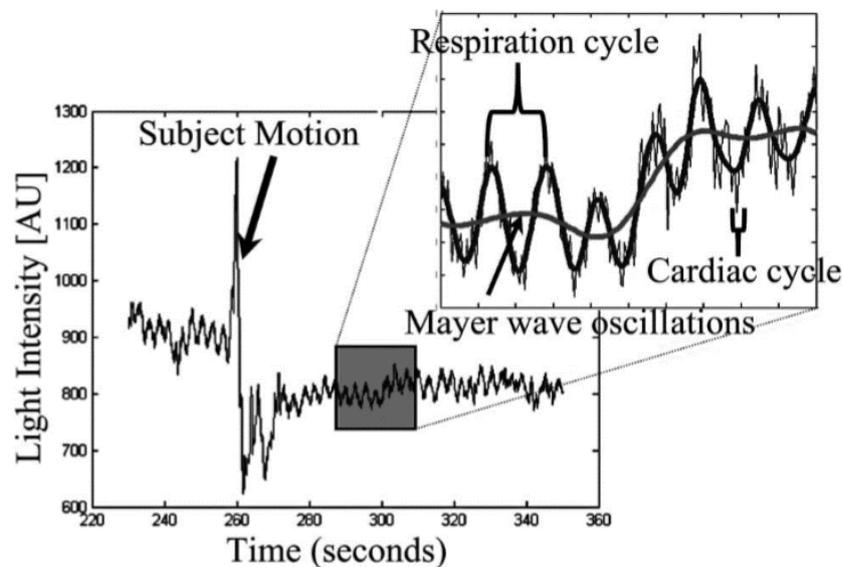


Figura 1.7: Esempi dei più comuni artefatti e oscillazioni dovuti al rumore fisiologico. Presa da [26].

Le onde vasomotorie, in particolare, sono molto insidiose in quanto il loro contenuto in frequenza è simile a quello della risposta emodinamica funzionale. Queste interferenze fisiologiche hanno origine sia da compartimenti cerebrali che da quelli extra-cerebrali. A causa del fenomeno di dispersione della luce, i segnali misurati saranno influenzati maggiormente dal contributo dei tessuti superficiali. Lo scalpo e la cute sono particolarmente vascolarizzati e costituiscono perciò zone di forte interferenza per le misurazioni, in quanto l'impulso luminoso sarà molto più sensibile a questi primi strati superficiali rispetto al materiale cerebrale sottostante, da cui si ricava la risposta emodinamica cerebrale vera e propria [2]

In generale l'intensità media dei segnali e la deviazione standard sono correlati con la quantità di luce catturata dal rilevatore. Canali con intensità molto bassa e/o con deviazione standard

elevata saranno quindi dominati principalmente dal rumore di misura della strumentazione e dovrebbero essere rimossi dall'analisi. Questo accade generalmente quando la distanza tra sorgente e rilevatore è molto ampia oppure quando sono presenti molti capelli tra le fibre ottiche e lo scalpo [2].

1.6.3 Applicazioni NIRS in ambito neonatale

Le tecnologie NIRS si stanno sempre più affermando in ambito neonatale, grazie alle loro caratteristiche di non invasività e portabilità che ne permettono l'utilizzo anche con pazienti problematici come i neonati, in maniera continuativa e in un ambiente complesso come quello della terapia intensiva. In generale, le misurazioni NIRS sui neonati per lo studio delle variazioni emodinamiche non si sono prolungate mai oltre le 2 h, sebbene prolungare la finestra temporale potrebbe migliorare le conoscenze sugli eventi intracranici soprattutto in condizioni patologiche [14].

In un lavoro svolto da Singh e colleghi [29] ad esempio la DOT è stata impiegata, assieme all'elettroencefalografia (EEG), per la rilevazione e il monitoraggio di convulsioni epilettiche in neonati. Per la prima volta si è riusciti ad ottenere dati di emodinamica cerebrale di un evento convulsivo. Le convulsioni neonatali, sintomo della presenza di un possibile danno cerebrale, sono difficilmente diagnosticabili e scarsamente classificate, rendendo questo problema difficile da trattare. La tecnica standard di diagnosi per lo studio ed il monitoraggio di convulsioni prevede l'utilizzo di EEG. L'interpretazione dei tracciati elettroencefalografici in ambito convulsivo è una sfida non di poco conto e non è ancora del tutto chiaro quale sia la relazione tra i sintomi clinici delle convulsioni e le variazioni dei segnali EEG. Non è raro poi che una vera e propria manifestazione clinica delle convulsioni possa essere anche del tutto assente, rendendone difficile l'identificazione in ambito clinico. Attraverso l'utilizzo di apparecchiature NIRS si sono ricavati dati relativi all'emodinamica cerebrale ben correlati con i dati ricavabili da EEG. Inoltre, è stato anche possibile dedurre come la variazione emodinamica di un evento convulsivo preceda a tutti gli effetti la variazione rilevabile nell'EEG, permettendo quindi di avere una stima anticipatoria dell'inizio di una possibile convulsione, che potrebbe fornire al medico il tempo necessario per intervenire e prevenirla [29].

In un recente lavoro pubblicato da Galderisi e colleghi [14], si è dimostrata la possibilità di effettuare misurazioni DOT in continua durante i primi 7 giorni di vita in neonati pretermine, facendo ricorso a particolari cuffie morbide create appositamente per evitare problemi di comfort sui neonati ed evitare interferenze con le normali pratiche cliniche di terapia intensiva. Inoltre, queste particolari cuffie offrono la possibilità di potersi interfacciare anche con altre tipologie di strumentazioni, come ad esempio l'EEG. Si è dimostrata quindi la possibilità di poter eseguire rilevazioni DOT per periodi di tempo molto lunghi su neonati pretermine, offrendo quindi l'opportunità di studiare l'impatto che dei possibili eventi stressanti giornalieri possono avere sul cervello di questi neonati [14].

1.6.4 Pipeline di elaborazione generale per l'analisi dei dati NIRS

Negli studi di attivazione funzionale lo scopo principale è stimare la risposta emodinamica a seguito di uno stimolo funzionale. Generalmente questa risposta ha inizio pochi secondi dopo la presentazione dello stimolo, raggiunge un picco dopo circa 5-8 secondi e poi ritorna allo stato basale, per una durata complessiva della risposta emodinamica di circa 12 – 15 secondi. Negli studi clinici invece, lo scopo principale è solitamente stimare le variazioni emodinamiche relative ad un dato evento clinico di interesse. Queste variazioni possono essere molto più lente della risposta emodinamica funzionale [14].

Sebbene la ricerca nel campo NIRS proceda da più di 20 anni, non si è ancora arrivati a definire una procedura di analisi dati standard. Attualmente non sono stati pubblicati articoli con guide standardizzate per l'analisi dei segnali NIRS universalmente accettate. Esiste infatti una differenza sostanziale nel bagaglio di conoscenze tra i ricercatori di vecchia data ed i tra i nuovi ricercatori che si affacciano su questo campo di ricerca, che in genere tendono ad applicare le procedure di analisi proposte dalle case produttrici delle strumentazioni, senza tenere conto delle possibili contaminazioni dei segnali derivanti da fonti fisiologiche non legate alla precisa risposta emodinamica, rischiando di ottenere molti falsi negativi e positivi nei loro risultati, soprattutto nel caso di studi di attivazione funzionale [30]. Sono stati creati vari pacchetti di analisi preconfezionati, che incorporano al loro interno molte delle funzioni che spesso sono utilizzate nell'analisi dei dati NIRS e per la ricostruzione di immagini sulla base di atlanti anatomici, come ad esempio HOMER2 [26] (un toolbox di Matlab che contiene un insieme di script di analisi e la possibilità di creare elaborazioni sfruttando una comoda interfaccia grafica).

Tutti questi pacchetti di analisi si basano su una serie di passaggi di elaborazione comuni che possono essere riassunti nel diagramma di flusso raffigurato in *Figura 1.8*.

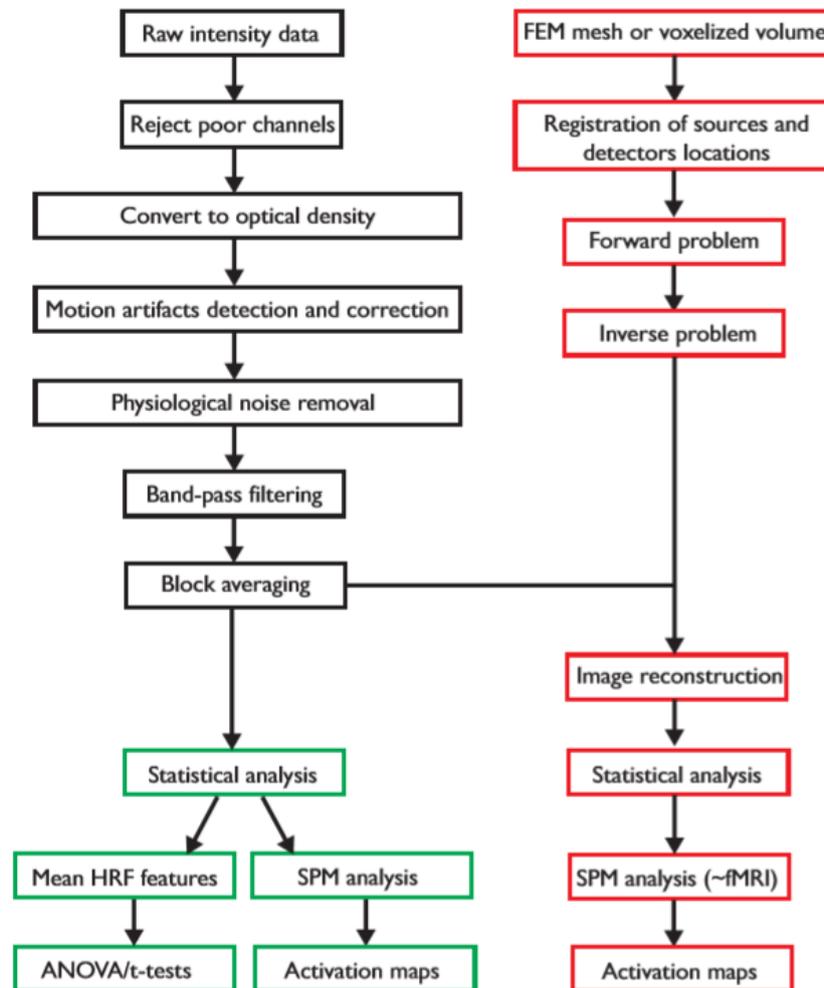


Figura 1.8: Processing pipeline generale per l'analisi dei dati NIRS e DOT. In nero, i blocchi di elaborazione per i segnali, in rosso i blocchi per la ricostruzione di immagini attraverso un modello anatomico, in verde i blocchi di analisi statistiche. Presa da [2].

Il primo passo generale nell'analisi del dato NIRS consiste nell'eliminare i canali eccessivamente rumorosi, ovvero quelli in cui la qualità delle informazioni misurate è stata compromessa a causa di vari fattori, come rumore ambientale o della strumentazione, artefatti dovuti al movimento dei soggetti, scarso accoppiamento ottico tra gli optodi e la testa, ecc. [30], [31]. Per operare questa scelta è necessario fissare dei precisi criteri che possano indicare, in automatico, se escludere o meno un canale. In generale si procede basandosi sull'intensità

media del canale, ponendo delle soglie che escludano i canali con intensità troppo bassa (ovvero inferiore al rumore di misura del macchinario) o troppo alta (ovvero superiore all'intensità misurabile in maniera efficace dal rivelatore). Tuttavia, l'impostazione della soglia è dipendente dal macchinario utilizzato e non sempre questo metodo è efficace, rimuovendo a volte canali non rumorosi e viceversa. Una possibile modifica a questo metodo è l'implementazione di un sistema automatico per l'esclusione dei canali più rumorosi, che si basi su qualche caratteristica statistica del rumore contenuto nei segnali, come ad esempio il coefficiente di variazione [30], [31]. Anche questa soluzione non è tuttavia ideale quando i segnali misurati sono composti da ampi intervalli di segnale contenente informazione utile intervallati da zone di segnale con artefatti da movimento estremi.

Il successivo passo cruciale nell'analisi dati NIRS prevede il rilevamento e la correzione degli artefatti dovuti al movimento del soggetto, che come è stato precedentemente illustrato, possono contaminare i dati acquisiti. Esistono vari metodi atti a correggere questi artefatti. La scelta del metodo migliore ed il suo utilizzo devono essere ben valutati per evitare di introdurre distorsioni nei segnali e/o eliminare anche parti di segnale utile. Molti di questi metodi richiedono di specificare alcuni parametri e usare valori errati può portare non solo ad eliminare solo parzialmente gli artefatti, ma anche ad introdurre di nuovi [31].

Un ulteriore passo nell'analisi dei dati NIRS consiste nell'eliminazione delle componenti indesiderate dovute a variazioni fisiologiche che non hanno origine neuronale e che costituiscono possibili falsi positivi o falsi negativi soprattutto durante gli studi di attivazione funzionale [31]. Molti studi assumono che gli artefatti fisiologici siano temporalmente non correlati con la risposta emodinamica, permettendone quindi l'eliminazione ad esempio attraverso la media convenzione, ma si tratta spesso di assunzioni ingiustificate. Per questo motivo, in molti studi sono stati usati ulteriori sistemi di misura, come misuratori di pressione, pulsossimetri e fMRI, per rilevare in maniera indipendente le contaminazioni fisiologiche per poi rimuoverle attraverso regressione lineare [2]. Un altro modo per eliminare queste componenti è di utilizzare dei filtri passabanda per rimuovere le alte frequenze ($\geq 0.2 \text{ Hz}$, dovute a respirazione, battito cardiaco e rumore elettronico) e le bassissime frequenze ($< 0.01 \text{ Hz}$) dai segnali. Purtroppo, alcune di queste componenti fisiologiche a bassa frequenza (comprese tra 0.01 Hz e 0.15 Hz), come variazioni di pressione, vasoreattività, ecc. si sovrappongono al segnale emodinamico cerebrale di interesse e non possono quindi essere eliminate con un filtraggio passabanda [31]. Un modo innovativo per eliminare gli artefatti fisiologici, soprattutto dovuti a contaminazione degli strati superficiali, consiste nell'utilizzare canali di lunghezza molto breve ($< 10 \text{ mm}$), sensibili esclusivamente agli effetti superficiali

ed utilizzare questi segnali per eliminare le componenti fisiologiche contaminanti attraverso metodi di regressione lineare, come il Modello Lineare Generale (o GLM), fit ai minimi quadrati, filtraggio alla Kalman ecc. [2]. L'uso di questi canali è tuttavia realizzabile per ora solo nei soggetti adulti, in quanto la distanza sorgente-canale per misurare solo gli strati superficiali nei neonati sarebbe intorno ai 2 mm, una distanza troppo piccola per l'attuale dimensione delle fibre ottiche presenti sul mercato. Per il recupero finale delle risposte emodinamiche, ultimo passo della procedura di analisi standard, è generalmente accettato sia l'uso del GLM che quello della media convenzionale [2], [31].

1.6.5 Principali tecniche di rimozione degli artefatti da movimento

Durante un esperimento NIRS, i movimenti del corpo e della testa del soggetto possono modificare l'accoppiamento luminoso tra sorgente/rilevatore e lo scalpo, causando artefatti da movimento nei segnali registrati. Nel caso di soggetti non consci dei propri movimenti (come neonati oppure animali) è impensabile l'esclusione di dati affetti da questo tipo di artefatti, in quanto questo comporterebbe l'esclusione di tutto il dataset a disposizione. Per risolvere il problema, un semplice filtraggio lineare non è applicabile, in quanto le variazioni di ossiemoglobina e deossiemoglobina, così come le componenti artefattuali dovute al movimento, sono altamente non stazionarie [32].

Gli artefatti da movimento presentano in genere componenti di frequenza distinte rispetto al rumore di fondo dovuto ad esempio alla strumentazione di misura. Per questa ragione nel corso degli anni, in letteratura, sono stati proposti molti metodi atti ad eliminare o quantomeno ridurre la componente di rumore dovuta agli artefatti da movimento che affliggono le misurazioni ottiche, nello specifico i segnali derivanti da misure NIRS [33].

Questi metodi vengono solitamente suddivisi in tre grandi categorie:

- 1) Metodi basati sulle caratteristiche temporali dei segnali
- 2) Metodi basati sulle caratteristiche spaziali dei segnali
- 3) Metodi basati su filtraggio adattativo che sfruttano segnali esterni

Nella prima categoria rientrano, ad esempio, il filtraggio alla Wiener, il filtraggio basato su analisi Wavelet, il metodo Correlation Based Signal Improvement (o CBSI) , il filtraggio alla Kalman ed il metodo Movement Artifact Reduction Algorithm (o MARA) [27], [28], [32].

Il filtraggio alla Wiener non richiede segnali di ingresso esterni, in quanto i coefficienti del filtro sono stimati sulla base delle proprietà statistiche del segnale misurato. Tuttavia, sono comunque richieste due calibrazioni, una con un segnale privo di artefatti da movimento e l'altro invece con artefatti da movimento. Questo potrebbe rivelarsi potenzialmente un problema, in quanto non è detto che si dispongano di segnali privi di artefatti [34]. Affianco al filtro di Wiener, troviamo anche il filtro di Kalman come possibile metodo per eliminare gli artefatti da movimento. In questo caso però è necessario assumere un modello a priori per i dati ed un modello a priori per la distribuzione del rumore. Per la stima dei parametri di questi modelli si ha anche in questo caso bisogno di segnali privi di artefatti [35]. Il filtraggio basato sulla trasformata Wavelet invece, sebbene efficace soprattutto per eliminare i picchi di breve durata e rumore ad alta frequenza, rischia di eliminare anche parte dell'informazione utile se non utilizzato con cautela. Inoltre, questo metodo non risulta efficace nell'eliminare i cambiamenti di baseline [28]. Il metodo CBSI si basa invece sull'assunzione che i veri andamenti di ossiemoglobina e deossiemoglobina siano tra di loro negativamente correlati, ma le ipotesi su cui si basa questo metodo non sono sempre verificate [36]. Il metodo MARA utilizza un algoritmo per individuare, segnale per segnale, la presenza di artefatti da movimento che successivamente vengono sottratti attraverso regressione con un modello a spline cubica regolarizzata [32].

I metodi relativi alla seconda categoria si basano principalmente sulla decomposizione agli autovalori (come ad esempio l'Analisi delle Componenti Principali o PCA) e necessitano di un insieme di segnali relativi alla stessa misurazione per poter ottenere una stima della covarianza spaziale. Sebbene risultino piuttosto efficaci, non è sempre facile discernere precisamente tra le componenti che si riferiscono al solo rumore o artefatti e quelle che si riferiscono propriamente alla variazione emodinamica [27], [37].

Nella terza categoria ricadono invece tutte quelle procedure di filtraggio adattativo per l'eliminazione del rumore e richiedono, come ulteriore ingresso, dei segnali che siano fortemente correlati con le componenti indesiderate e allo stesso tempo non correlati con la risposta funzionale che si desidera ricavare. Questi segnali di ingresso possono provenire, ad esempio, da degli accelerometri o più frequentemente da segnali di riferimento NIRS, cioè da particolari segnali che non siano sensibili alla risposta funzionale di interesse. I segnali aggiuntivi possono quindi essere utilizzati per eliminare gli andamenti indesiderati attraverso

un semplice processo di regressione lineare. Purtroppo, la bontà di queste tecniche dipende fortemente dall'affidabilità delle informazioni esterne fornite ai filtri, in quanto un'informazione incompleta porta alla rimozione solo parziale degli artefatti [2], [33]. Zhang e colleghi [38], ad esempio, hanno utilizzato misurazioni ottiche superficiali dello scalpo come segnali di riferimento per eliminare gli artefatti dalle attività funzionali cerebrali. La caratteristica comune di questi approcci è la necessità di avere a disposizione segnali addizionali correlati alle interferenze che si desidera eliminare, come riferimento per l'operazione di filtraggio, ma non è detto che queste siano sempre disponibili.

In alcuni recenti lavori, è stato anche proposto di utilizzare l'Analisi delle Componenti Indipendenti (o ICA), per l'eliminazione degli artefatti da movimento. In questo caso viene sfruttata la capacità di questa tecnica di ricostruire, a partire da una mistura di segnali in cui sia presente anche del rumore, i segnali originali depurati dal rumore. In questo modo è possibile identificare le componenti relative a rumore ed artefatti sulla base della loro densità spettrale oppure in base alla correlazione con informazioni derivanti da segnali esterni, come ad esempio accelerometri, ma legati al movimento dei soggetti [39], [40].

In uno studio svolto da Brigadoi e colleghi [27] sono state messe a confronto tra di loro le principali tecniche di riduzione degli artefatti da movimento, con lo scopo di valutarne la prestazione, usando dati acquisiti durante un esperimento di attivazione funzionale, in cui il compito dei soggetti era di pronunciare il nome del colore di una serie di parole scritte su di un monitor. In particolare, gli artefatti da movimento presenti nei dati erano dovuti al movimento della mandibola dei soggetti durante l'esperimento [27]. La risposta emodinamica relativa a stimolazioni di questo tipo è ben riconosciuta e documentata. Questo ha permesso di costruire delle metriche di confronto che potessero misurare quanto fossero fisiologicamente corrette le risposte emodinamiche ricavate utilizzando i diversi approcci di correzione degli artefatti [27]. In un altro studio di Cooper e colleghi [33], volto anch'esso alla valutazione della prestazione delle principali tecniche di riduzione degli artefatti da movimento nei segnali NIRS, sono stati utilizzati dei dati provenienti da precedenti studi NIRS in resting state (corrotti da artefatti da movimento) a cui sono state aggiunte in maniera casuale delle risposte emodinamiche artificiali, in modo tale da simulare una risposta emodinamica reale. Anche in questo caso è stato possibile creare delle metriche di confronto per valutare le differenze tra le varie tecniche di correzione degli artefatti da movimento, in quanto si conoscevano in anticipo gli istanti temporali in cui si sarebbero dovute trovare le variazioni emodinamiche e le caratteristiche morfologiche delle stesse [33].

In base ai risultati ottenuti negli studi sopra citati, le prestazioni migliori si sono raggiunte con i seguenti metodi:

- Interpolazione spline
- PCA
- Analisi Wavelet

L'interpolazione spline si è rivelata una tecnica di rimozione molto efficace in svariati studi, sebbene dipenda molto dall'algoritmo di identificazione degli artefatti da movimento. Nel caso in cui la componente dovuta agli artefatti da movimento sia difficile da rilevare, in quanto ampiezza e frequenza sono paragonabili alla risposta emodinamica da recuperare, l'interpolazione spline non si dimostra così efficace se paragonata ad altre tecniche di rimozione [27].

Anche la PCA si è dimostrata una tecnica molto valida per la rimozione degli artefatti da movimento e per il corretto recupero delle risposte emodinamiche, sebbene sia altamente dipendente dal valore di soglia per la rimozione delle componenti principali. Un valore di soglia troppo elevato può portare non solo ad eliminare gli artefatti da movimento, ma anche la componente dovuta alla risposta emodinamica stessa. Il problema principale di questa tecnica tuttavia risiede nell'approccio multicanale, in quanto è richiesto che un artefatto sia presente simultaneamente in più canali. Questa ipotesi purtroppo non è sempre verificata, soprattutto nel caso di artefatti derivanti da movimenti dei muscoli facciali, che sono quindi maggiormente localizzati nei canali fronto-temporali. Un altro problema risiede nel caso in cui gli artefatti da movimento siano temporalmente correlati con la risposta emodinamica, in quanto rappresenta una violazione delle assunzioni che permettono di applicare correttamente la PCA [27].

Nello studio svolto da Brigadoi e colleghi [27], l'applicazione della tecnica Wavelet ha fornito i risultati migliori su tutte le metriche testate, dimostrandosi una tecnica molto promettente per la riduzione degli artefatti da movimento. Questa tecnica non si basa su alcun sistema di identificazione degli artefatti da movimento ed ha un'efficacia maggiore rispetto alle altre tecniche di rimozione testate. Si tratta di un risultato molto importante, in quanto questo approccio si è dimostrato valido per svariate tipologie di artefatti da movimento. Gli aspetti negativi riguardano soprattutto l'elevato costo computazionale e la tendenza a sottostimare la risposta emodinamica, soprattutto nel caso in cui alcuni coefficienti associati al rumore (e quindi posti a zero) siano vicini a quelli corrispondenti alla risposta emodinamica da stimare [27].

1.7 Scopo della tesi

Il seguente lavoro di tesi si inserisce all'interno di una ormai consolidata collaborazione tra il Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione (DEI), il Laboratorio fNIRS del Dipartimento di Psicologia dello Sviluppo e della Socializzazione (DPSS) e il Reparto di Patologia Neonatale del Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino. Come sarà meglio spiegato di seguito, si hanno a disposizione misurazioni DOT e glicemiche (ottenute attraverso un sistema CGM) in continua dei primi 7 giorni di vita di un neonato molto pretermine. Si tratta di dati unici nel loro genere, in quanto non sono presenti in letteratura altri dati acquisiti in continua in una finestra temporale così ampia e su pazienti oggettivamente di difficile analisi come sono i neonati pretermine. Mentre per i dati glicemici sono presenti già da tempo protocolli di elaborazione dati ben consolidati ed implementati nelle stesse apparecchiature CGM, che permettono di utilizzare in tempo reale i dati acquisiti, per i dati DOT non si può dire la stessa cosa. Lo scopo principale di questo lavoro di tesi prevede lo sviluppo di una processing pipeline (o flusso di elaborazione) con la quale sia possibile ridurre in maniera efficace ed efficiente la componente di rumore, costituita principalmente dagli artefatti da movimento, che affligge pesantemente i dati a nostra disposizione. A differenza della maggior parte degli studi NIRS, in cui i soggetti sono nella maggior parte dei casi adulti in grado di poter controllare movimenti indesiderati ed in cui la durata delle misurazioni è piuttosto ridotta (massimo una/due ore), nel nostro caso si ha a che fare con dati misurati in un arco temporale molto più vasto, su un paziente neonato prematuro sito in una culla della terapia intensiva neonatale. Il semplice movimento del neonato, così come le normali procedure ospedaliere e cliniche o ancora la semplice carezza da parte di genitori in visita possono indurre alterazioni evidenti dei segnali registrati, a causa di spostamenti relativi tra la testa del paziente e la cuffia che contiene i sensori di misura. Le informazioni sull'ossigenazione cerebrale e più in generale sull'emodinamica che si vorrebbero ricavare non sono legate ad alcun task specifico, ma sono in resting state: i segnali spettroscopici varieranno nel tempo molto lentamente, con variazioni apprezzabili che si sviluppano in un intervallo temporale di almeno 1 ora. La componente utile dei segnali sarà quindi compresa in un intervallo di frequenze estremamente basso, compromettendo non poco la possibilità di utilizzare le classiche tecniche di filtraggio dei segnali nel dominio della frequenza.

Scopo secondario di questo lavoro di tesi è quello di valutare eventuali correlazioni tra le variazioni di ossigenazione cerebrale ricavate dopo aver applicato la pipeline sviluppata come scopo primario della tesi, ed il segnale glicemico, con particolare enfasi nei casi più critici, come ad esempio durante eventi ipoglicemici ed iperglicemici, in quanto si tratta di situazioni particolarmente pericolose per i neonati pretermine.

Capitolo 2. Dataset

2.1 Descrizione del protocollo

I dati a nostra disposizione sono stati raccolti nell'agosto 2016 su un neonato prematuro ricoverato nella terapia intensiva neonatale del Policlinico Universitario di Padova diretta dal Prof. Eugenio Baraldi. Il neonato era nato ad un'età gestazionale di 28 settimane con taglio cesareo per rottura della placenta. Il peso era di 1145 g (nel 50esimo percentile) e la circonferenza della testa era di 26.5 cm (nel 50esimo percentile) [14]. Sia la glicemia, attraverso un sistema CGM, sia i livelli di ossigenazione cerebrale, con la tecnica NIRS, sono stati monitorati in continua in questo neonato durante i primi 7 giorni di vita.

I dati di spettroscopia sono stati acquisiti con continuità per un periodo di tempo di 7 giorni utilizzando un sistema ad onda continua multicanale "NIRSScout", prodotto dalla NIRx Medical Technologies LLC (Glen Head, New York) ed equipaggiato con 32 sorgenti luminose LED (di cui 16 emettenti luce a 760 nm e le altre 16 luce a 850 nm) e 24 rilevatori. In totale però sono stati utilizzati solo 8 rilevatori, a causa della dimensione ridotta della testa del neonato. In totale quindi le misurazioni NIRS fanno riferimento a 105 canali per ogni lunghezza d'onda, posizionati secondo lo schema raffigurato in *Figura 2.1*. Tutte le misurazioni sono state acquisite con una frequenza di campionamento pari a 6.25 Hz [14]. Le misurazioni sono state interrotte quattro volte al giorno per un intervallo della durata massima di 30 minuti ciascuno, per permettere al personale ospedaliero di svolgere le normali pratiche cliniche sui neonati. Una particolare cuffietta, a cui le sorgenti e i detettori potevano essere ancorati, è stata messa a punto per poter effettuare misurazioni continuative per un periodo di tempo così lungo su una popolazione così fragile. La realizzazione della cuffietta doveva tenere conto del malessere del bambino che poteva nascere dalla pressione degli optodi a livello cutaneo ed i conseguenti danni che potevano emergere e le possibili interferenze che la cuffietta montata con tutte le fibre poteva comportare alle normali procedure cliniche ed infermieristiche.

La cuffia, costruita a mano, è stata sviluppata unendo assieme due strati di materiali diversi: un primo strato esterno di tessuto soffice con dei riferimenti al sistema standard di elettroencefalografia (sistema 10 – 10) per posizionare gli optodi ed un secondo strato interno morbido e flessibile costituito da una schiuma in poliuretano. I supporti di ancoraggio per gli optodi sono stati poi fabbricati anch'essi a mano usando dei tronchi di cono in plastica. In

Figura 2.2 si può osservare un esempio della cuffia utilizzata per l'acquisizione dei dati. Con questa soluzione né i supporti in plastica né gli optodi sono a diretto contatto con la superficie interna della cuffia, allo scopo di evitare frizione tra gli apparati di rilevazione e la cute del bambino. La pelle del neonato è stata analizzata almeno quattro volte al giorno per tutta la durata dell'acquisizione dati e non è stata rilevata alcuna lesione dovuta alla cuffia di acquisizione (Figura 2.2) [14].

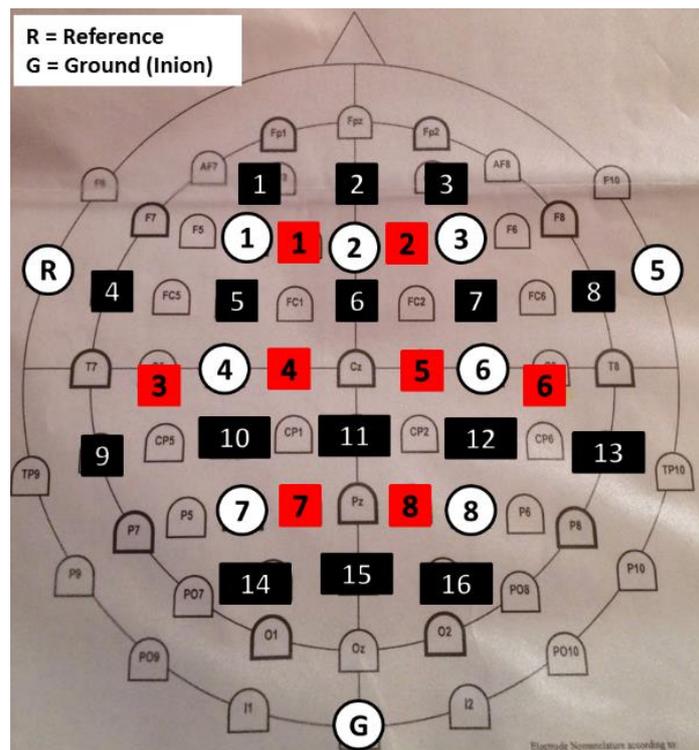


Figura 2.1: Posizione delle 16 sorgenti (rettangoli neri) e degli 8 rilevatori (quadrati rossi), rispetto al sistema internazionale 10 – 5. I cerchi bianchi definiscono il posizionamento degli elettrodi usati per acquisire il segnale elettroencefalografico per un paio di ore durante i 7 giorni di acquisizione DOT. Questi dati non saranno trattati in questa tesi.

L'utilizzo di questo tipo di cuffie rende quindi possibile l'acquisizione di segnali DOT per lunghi periodi di tempo in maniera sicura, semplificando anche l'operato degli infermieri che possono tranquillamente rimuovere ed infilare la cuffia sulla testa dei neonati, riposizionandola ogni volta in maniera analoga grazie ad alcuni particolari esterni della cuffia che ne guidano il

posizionamento (per esempio il livello della cuffia sulla fronte). In questo modo gli infermieri sono in grado di compiere tutte le procedure cliniche di routine senza doversi preoccupare della strumentazione DOT [14].



Figura 2.2: (a): Strato esterno originale della cuffia con segnate le posizioni relative al sistema 10 – 10, senza e con i supporti inseriti; (b): Strato interno della cuffia creato appositamente per adattarsi alla dimensione della testa del neonato; (c): Strato interno ed esterno uniti assieme per creare la cuffia finale, poi posizionata sulla testa del neonato; nell'immagine di destra si notano anche le fibre ottiche ancorate ai porta optodi; (d): Immagini della cute del neonato dopo la rimozione della cuffia al termine dei 7 giorni, in cui si può apprezzare la mancanza di lesioni cutanee e tracce da pressione. Prese da [14].

I dati di glicemia sono stati anch'essi acquisiti con continuità per un periodo di tempo di 7 giorni utilizzando il sistema CGM "G4 Platinum" prodotto dalla Dexcom Inc. (San Diego, CA). Il sensore glicemico è stato posizionato sulla parte laterale della coscia, dopo aver adeguatamente

disinfettato il sito (*Figura 2.3*). Il processo di calibrazione del sensore è stato effettuato due volte al giorno, come da istruzioni fornite dal costruttore, sfruttando sangue prelevato dai capillari e misurato attraverso il sistema “Accu-Check Inform II glucometer”, prodotto dalla Roche Diabetes Care (Indianapolis, IN). I dati glicemici sono stati acquisiti con una frequenza di campionamento di 1 campione ogni 5 minuti e trasferiti al computer di acquisizione tramite Bluetooth [6].



Figura 2.3: A sinistra, posizione del sensore *CGM* sulla coscia del neonato. A destra, ispezione della cute dopo aver rimosso il sensore a seguito dei 7 giorni di misurazioni, in cui non si notano lesioni visibili. Presa da [6].

Durante tutto l'intero periodo di acquisizione, i sistemi *CGM* e *DOT* utilizzati per le misurazioni sono stati appositamente sincronizzati, in modo tale da ricavare dati di glicemia e di spettroscopia che facessero riferimento alle medesime finestre temporali.

2.2 Criteri di analisi

Sulla base dei dati glicemici forniti dal sistema CGM, si sono identificati nel neonato in esame un totale 12 eventi che possono essere categorizzati come ipoglicemia o iperglicemia, e la cui severità è stata attribuita con il seguente criterio, come suggerito nel lavoro di Galderisi e colleghi [6]:

- Ipoglicemia SEVERA, definita nel caso di una concentrazione glicemica inferiore a *47 mg/dl*
- Ipoglicemia MODERATA, definita nel caso di una concentrazione glicemica compresa tra *47 mg/dl* e *71 mg/dl*
- Iperglicemia MODERATA, definita nel caso di una concentrazione glicemica compresa tra *145 mg/dl* e *180 mg/dl*
- Iperglicemia SEVERA, definita nel caso di una concentrazione glicemica superiore a *180 mg/dl*

Con il criterio di classificazione appena esposto, si è ottenuta la suddivisione dei 12 eventi nelle 4 possibili categorie, come riportato in *Tabella 2.1*.

EVENTO	VALORI DI GLICEMIA		IPOGLICEMIA		IPERGLICEMIA	
	Min [mg/dl]	Max [mg/dl]	Moderata	Severa	Moderata	Severa
1	65.1177	102.392	X			
2	49.9903	100.1871	X			
3	47.734	115.1749	X			
4	38.5357	112.4685		X		
5	58.9024	113.2841	X			
6	51.8806	114.2332	X			
7	63.308	118.507	X			
8	47.9962	141.0309	X			
9	57.3434	119.6753	X			
10	136.9128	148.0081			X	
11	82.8845	150.0026			X	
12	58.6458	159.6029	X		X	

Tabella 2.1: Suddivisione degli eventi glicemici in base alla severità e tipologia degli eventi. In particolare, si nota come nell'evento 12 siano presenti sia un evento ipoglicemico che un evento iperglicemico.

Da notare come sia presente un evento in particolare, il numero 12, in cui un picco ipoglicemico viene seguito subito dopo da un picco iperglicemico. I dati glicemici relativi a questi 12 eventi sono stati estratti dalla traccia glicemica, includendo, quando possibile, una finestra di segnale di almeno 20 minuti precedente l'inizio dell'evento glicemico e una finestra di segnale successiva all'evento glicemico in modo che il segnale fosse tornato al livello di euglicemia. Sulla base degli istanti iniziali e finali di questa segmentazione, sono stati estratti anche i segnali di spettroscopia, in modo tale da poter considerare solo misurazioni NIRS relative a eventi glicemici critici. Ogni evento ha una durata variabile, da un minimo di circa 30 minuti ad un massimo di circa 7 ore. In *Figura 2.4* sono rappresentati gli andamenti di tutti e 12 gli eventi glicemici.

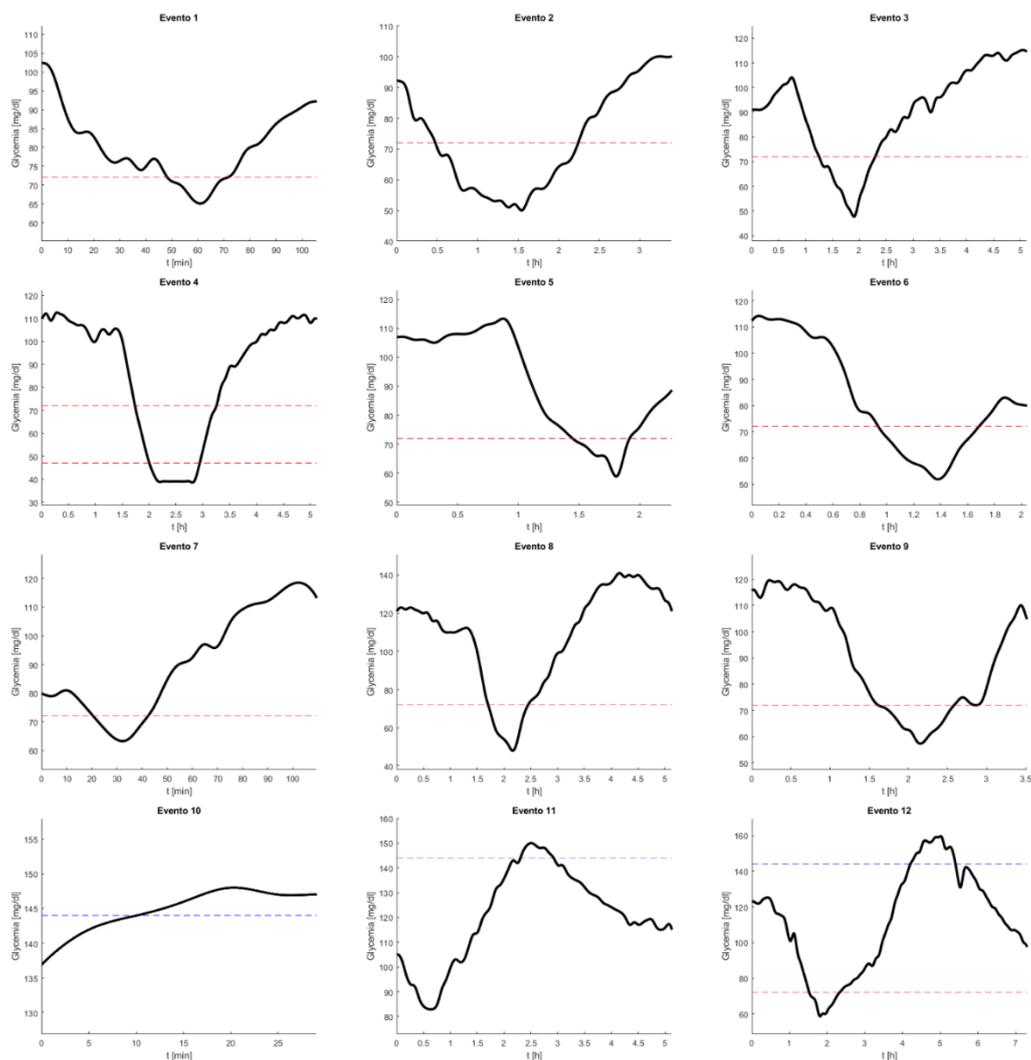


Figura 2.4: Segnali glicemici relativi ai 12 eventi ipoglicemici e iperglicemici rilevati nel neonato in esame. In rosso sono rappresentate le soglie ipoglicemiche, mentre in blu le soglie iperglicemiche.

L'andamento registrato nell'evento 10 purtroppo non è completo, in quanto non è stato possibile estrarre completamente le variazioni successive al raggiungimento del picco iperglicemico. Questo evento si è verificato durante una procedura clinica che ha comportato la presenza di numerosi artefatti da movimento registrati nel segnale emodinamico, rendendo tale segnale inutilizzabile.

Il dataset utilizzato nelle successive analisi è quindi composto da 210 canali (105 per quanto riguarda le misurazioni a 760 *nm* e altri 105 per quanto riguarda le misurazioni a 850 *nm*) per ognuno dei 12 eventi ipo e/o iperglicemici rilevati, per un totale di 2520 segnali di spettroscopia di durata variabile, in base allo specifico evento selezionato.

Capitolo 3. Metodi di analisi dei dati NIRS

In questo capitolo verranno descritti i dati a disposizione ed i metodi di elaborazione utilizzati. In particolare, verrà presentata nel dettaglio la processing pipeline implementata per ridurre gli artefatti da movimento e le precise motivazioni che hanno portato allo sviluppo di ciascuno dei passi di cui si compone il flusso di elaborazione. Grande enfasi sarà data alla descrizione di ciascun passo di cui si compone la pipeline di processing, attraverso sia una descrizione dal punto di vista matematico, sia dal punto di vista algoritmico delle varie funzioni di cui si farà uso attraverso tutto il flusso di elaborazione.

Per l'analisi dei dati è stato utilizzato il software Matlab, con cui sono stati implementati tutti gli algoritmi che verranno proposti di seguito. Si è anche fatto largo uso del pacchetto di analisi open source HOMER2 [26] il quale contiene già molte delle funzioni maggiormente utilizzate per l'importazione e l'analisi dei dati NIRS. Al suo interno è possibile trovare implementate alcune delle tecniche di riduzione degli artefatti da movimento citate nel Capitolo 1, così come funzioni che eseguono il filtraggio dei dati.

3.1 Processing pipeline per i dati NIRS

I dati a disposizione per lo sviluppo della pipeline di elaborazione sono unici nel loro genere, in quanto sono dati relativi ad un esperimento in resting state su neonati pretermine acquisiti per un periodo di tempo molto lungo con lo scopo di valutare variazioni di ossigenazione molto lente, ipoteticamente correlate con la variazione di glicemia, che si sviluppano in un intervallo temporale di almeno 1 ora. A causa della delicata natura dell'acquisizione, i segnali sono pesantemente corrotti da artefatti da movimento, che si presentano con svariate forme in molteplici canali, compromettendo non solo i criteri di selezione relativi ai canali rumorosi, ma anche le metodologie di analisi normalmente impiegate per i dati NIRS. Il flusso di elaborazione presentato nel Capitolo 1, che prevede la selezione iniziale di eventuali segnali da scartare sulla base di semplici caratteristiche (come valore medio o coefficiente di variazione dell'intensità), un passo di riduzione degli artefatti da movimento seguito da un filtraggio di tipo passa banda, procedura standard per dataset acquisiti in un intervallo di tempo ridotto (decine di minuti) su

popolazioni adulte, non è sufficiente per il nostro scopo. È necessario quindi sviluppare una pipeline di processo specifica per questa particolare tipologia di segnali.

Nel Capitolo 1 sono state presentate le principali tecniche pubblicate in letteratura per trattare gli artefatti da movimento nelle misurazioni NIRS. Purtroppo, nessuna delle tecniche presentate riesce ad eliminare efficacemente tutti i possibili artefatti da movimento, ma ogni tecnica è più specifica per alcune tipologie rispetto ad altre. L'idea di base, perseguita in questo elaborato, è di cercare di combinare assieme due o più tecniche di riduzione degli artefatti in modo tale da poter sfruttare al meglio i punti di forza di ciascun metodo e di eliminare quindi quanti più possibili artefatti da movimento senza però corrompere il segnale emodinamico introducendo andamenti non fisiologici. Sulla base delle considerazioni presenti nel Capitolo 1, si è giunti allo sviluppo di una processing pipeline composta da un passaggio preliminare di classificazione automatica dei segnali seguito da tre passaggi principali per la riduzione degli artefatti da movimento posti in cascata e rappresentata schematicamente in *Figura 3.1*.

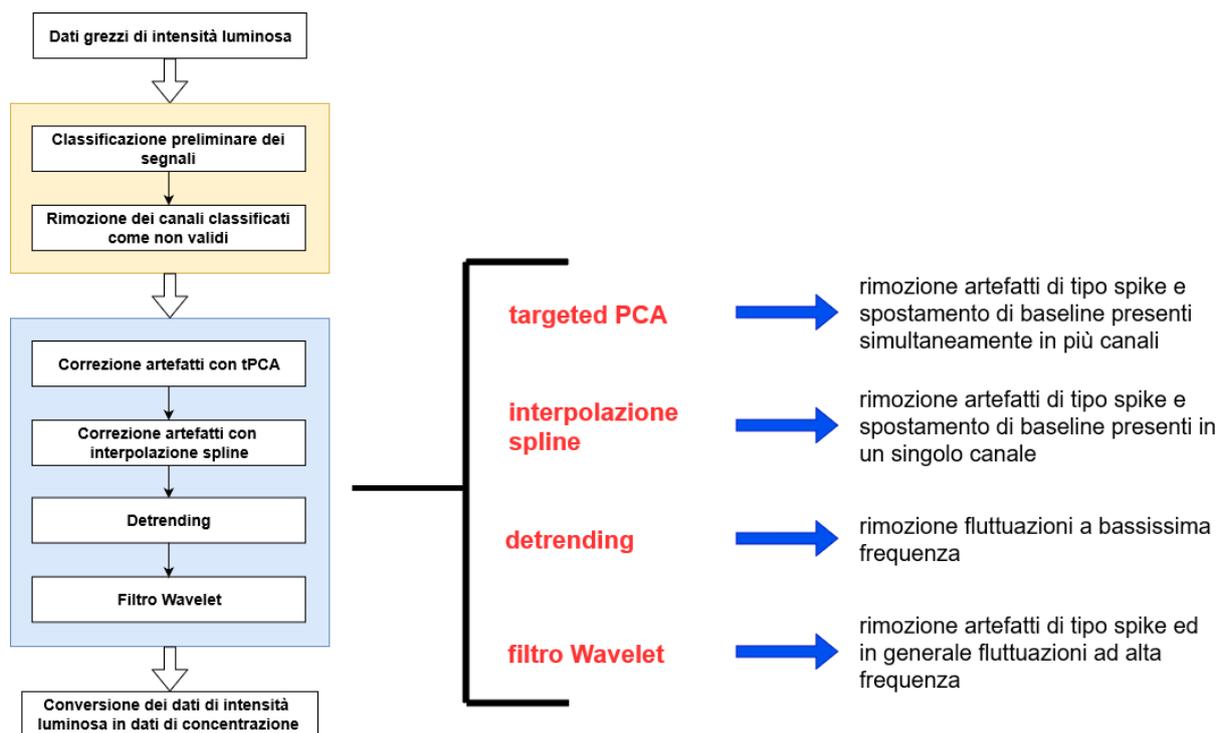


Figura 3.1: Schema della processing pipeline proposta per l'elaborazione dei dati NIRS relativi al neonato pretermine monitorato in continua durante i primi 7 giorni di vita.

Nei paragrafi successivi di questo capitolo verrà fornita una descrizione completa ed esaustiva dei vari passaggi presenti nella processing pipeline qui proposta.

L'analisi Wavelet, essendosi dimostrata l'approccio più promettente per la rimozione degli artefatti da movimento di tipo spike ed in generale del rumore ad alta frequenza, si presenta come la base da cui partire. Per poter applicare correttamente questo metodo però è necessario prima rimuovere quanto più possibile gli artefatti che causano un cambiamento di baseline. Infatti, il filtro Wavelet, nel caso della presenza di un cambiamento di baseline esegue una semplice interpolazione delle zone di discontinuità anziché la rimozione dell'artefatto.

Il problema rappresentato dalle discontinuità dei segnali ha portato quindi all'idea di adottare dei passaggi intermedi e precedenti al filtraggio Wavelet, volti ad eliminare proprio questo tipo di artefatti. La scelta è ricaduta nell'adottare in cascata due metodi, ovvero sia targeted PCA che interpolazione spline, in modo tale da combinare gli effetti di rimozione delle due tecniche. La risposta emodinamica che si desidera ricavare dai segnali analizzati varia molto lentamente e con oscillazioni di ampiezza molto ridotta rispetto agli artefatti da movimento presenti nei dati. Non si corre il rischio né che la risposta emodinamica possa essere in qualche modo correlata con la componente di artefatto, né che le variazioni presenti nella risposta emodinamica possano essere paragonate a quelle degli artefatti. Queste particolari caratteristiche hanno permesso di applicare senza problemi sia la targeted PCA che l'interpolazione spline come metodi per rimuovere gli artefatti da movimento.

Nei paragrafi che seguiranno saranno illustrate più in dettaglio le motivazioni che hanno portato ad adottare ben due passaggi di rimozione degli artefatti prima dell'analisi Wavelet.

Un ulteriore passaggio intermedio è stato inserito per eliminare la presenza di drift a bassissima frequenza, attraverso un processo di detrending.

Sfortunatamente, nel caso dei dati a nostra disposizione, non è possibile ricavare una metrica di confronto che ci permetta di capire quantitativamente se una pipeline di elaborazione sia più efficace di un'altra in quanto:

- 1) Siamo nel caso di un paradigma sperimentale di tipo resting state, quindi non sono state applicate stimolazioni esterne che potessero provocare una risposta funzionale specifica.
- 2) Non sono presenti in letteratura informazioni dettagliate per quanto riguarda durata e morfologia delle variazioni emodinamiche cerebrali durante episodi di ipoglicemia ed iperglicemia.

Per questi motivi, sia per la valutazione di quali passi introdurre nella pipeline di elaborazione e sia per la scelta dei parametri da impostare nelle funzioni utilizzate ad ogni passo, è stato

necessario basarsi sul confronto visivo dei dati prima e dopo l'elaborazione, quindi su una valutazione puramente qualitativa. Per la valutazione finale della risposta emodinamica stimata è possibile fare affidamento su alcune considerazioni sulla fisiologia del sistema in esame. Non essendo presenti stimoli esterni, è lecito aspettarsi che la variazione emodinamica durante gli episodi di ipo ed iperglicemia sia molto lenta.

Questo ci permette di determinare, almeno qualitativamente, se siano presenti o meno andamenti poco sensati nei dati di ossigenazione ottenuti alla fine del processo di elaborazione. Non ha senso ad esempio aspettarsi un segnale di ossigenazione che presenti un pattern con grandi oscillazioni a frequenza elevata, in quanto questo sarebbe dovuto non a variazioni fisiologiche ma bensì ad un'errata elaborazione dei segnali.

Analizzando separatamente gli output prodotti da ciascun passo di elaborazione, è possibile valutare se siano stati introdotti o meno degli andamenti errati che poi si possono riflettere sulla stima finale. La presenza di artefatti da movimento non adeguatamente corretti oppure di rilevanti oscillazioni transitorie che si sviluppano per un intervallo temporale ridotto, i cui effetti si propagano fino alle stime finali di ossigenazione, sono sintomi di un flusso di elaborazione errato oppure di una scelta errata dei parametri impostati per le funzioni di correzione degli artefatti.

3.2 Eliminazione dei canali rumorosi: ipotesi di partenza e classificazione automatica

Il primo passo nell'analisi dei dati NIRS consiste nell'eliminare i canali rumorosi, ovvero i canali non contenenti sufficiente informazione utile. Il dataset a nostra disposizione è composto da 2520 segnali in totale, per quanto riguarda gli eventi ipoglicemici ed iperglicemici del neonato preso in esame. Di questi segnali però alcuni non saranno utilizzabili ai fini dell'analisi, in quanto troppo corrotti dagli artefatti da movimento o perché presentano un rapporto segnale-rumore troppo basso. È necessario prima di tutto riuscire a classificare quali di questi segnali siano effettivamente validi e quali dovranno invece essere scartati, come quelli ad esempio in *Figura 3.2*.

La normale procedura per l'individuazione dei canali rumorosi (soglia su intensità media e SNR) non è idonea a questo tipo di dati, a causa dell'elevata presenza di artefatti da movimento.

Una soluzione potrebbe essere la classificazione manuale dei canali, basata su considerazioni di carattere prettamente qualitativo sull'andamento e sul valore della mediana dei segnali.

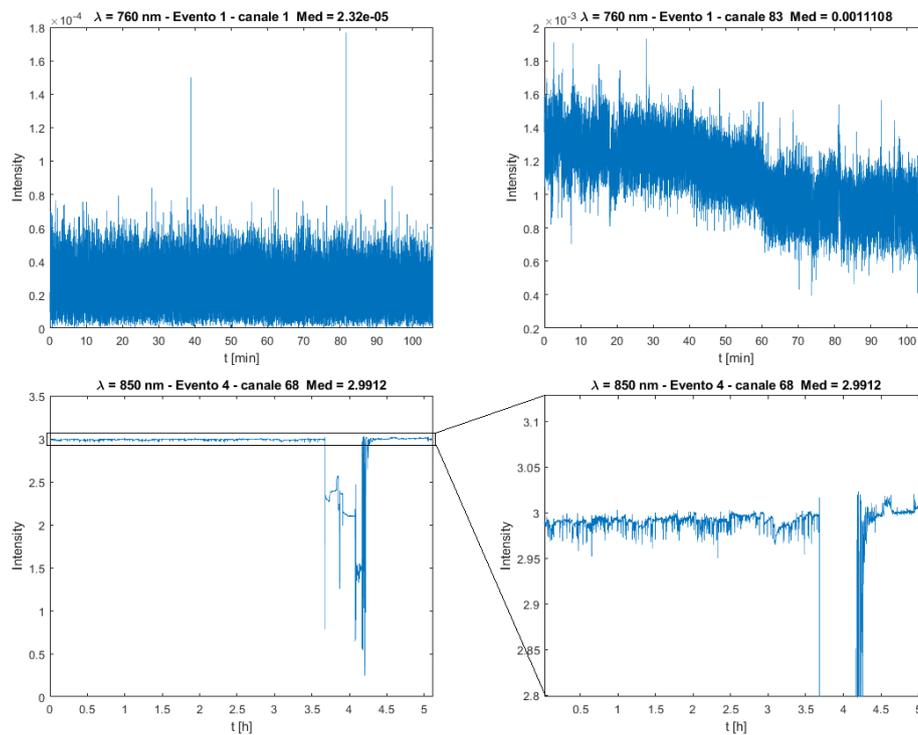


Figura 3.2: Esempi di segnali considerati da scartare. In alto a sinistra, esempio di segnale in cui è stato misurato solamente rumore di misura. Si nota il tipico andamento del rumore bianco. In alto a destra, segnale con rapporto segnale-rumore troppo basso per essere utilizzato per le successive elaborazioni. Anche in questo caso, nonostante un leggero trend alle basse frequenze, la caratteristica predominante del segnale è quella tipica del rumore bianco. In basso, esempio di segnale in cui si ha una elevata probabilità che i sensori di misura siano saturati. Le piccole fluttuazioni che si possono osservare nello specifico in basso a destra sono dovute principalmente ad artefatti da movimento.

Analizzando i segnali NIRS oggetto di questa tesi, è possibile notare come questi siano prevalentemente compresi tra 0 e circa 3. In prima approssimazione, sarebbero da scartare i segnali la cui mediana è prossima a zero (ad esempio inferiore a 0.001) oppure prossima al valore 3 (ad esempio superiore a 2.990). Come si nota facilmente in *Figura 3.2*, i segnali con mediana molto piccola hanno un'elevata probabilità di misurare fluttuazioni derivanti da solo rumore di misura, mentre nel caso di segnali con mediana molto elevata le fluttuazioni misurate sono da attribuirsi alla sola componente di artefatto, in quanto molto probabilmente il sistema di misura è andato in saturazione.

Purtroppo, questa semplice considerazione non è sufficiente a discriminare correttamente i segnali validi da quelli da scartare. La mediana di due segnali con andamenti e caratteristiche molto diverse potrebbe essere infatti molto simile e quindi indurre una classificazione errata, come accade negli esempi di *Figura 3.3*.

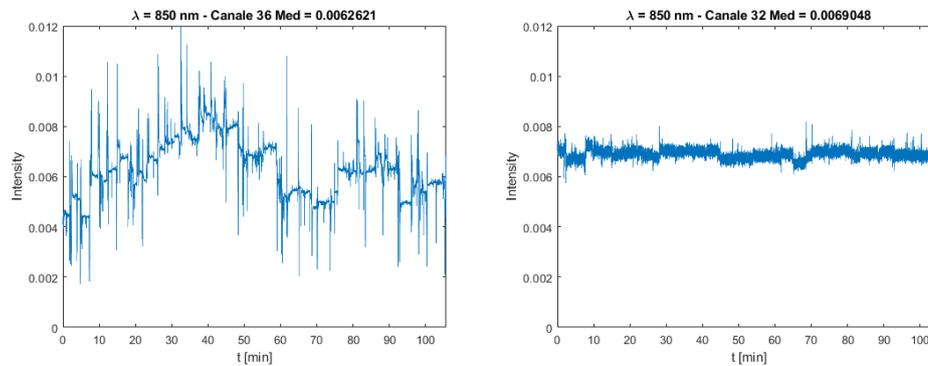


Figura 3.3: Esempi di segnali con mediana molto simile ma con caratteristiche diverse. A sinistra, il segnale si può considerare come valido per le successive elaborazioni. A destra, il rapporto segnale rumore è molto basso e quindi per non rischiare di ricavare informazioni errate sull'ossigenazione cerebrale è opportuno scartare il segnale.

Non è inusuale inoltre imbattersi in segnali che presentino sia porzioni di segnale valido che porzioni di segnale ad alto rischio di saturazione e/o porzioni in cui sia stato misurato solamente rumore elettronico.

Se fortunatamente queste zone sono di dimensione ridotta e si trovano all'inizio oppure alla fine dei segnali è possibile risolvere il problema eliminando queste porzioni di segnale, ma nel caso si trovino in mezzo ai segnali stessi questo non è possibile e non resta altra soluzione che scartarli, come accade con i segnali in *Figura 3.4*. In caso di incertezza è più opportuno scartare un segnale di cui non si è particolarmente sicuri, in quanto è meglio lavorare con un dataset di dimensioni minori che includere dati che potrebbero fornire stime di ossigenazioni errate.

La discriminazione tra un segnale valido ed uno non valido non è sempre facile ed intuitiva, soprattutto ad un occhio inesperto. Se prendiamo in considerazione l'esempio in *Figura 3.5* e lo confrontiamo con l'esempio in *Figura 3.4*, ci si rende conto di quanto sia facile incorrere in errori di classificazione.

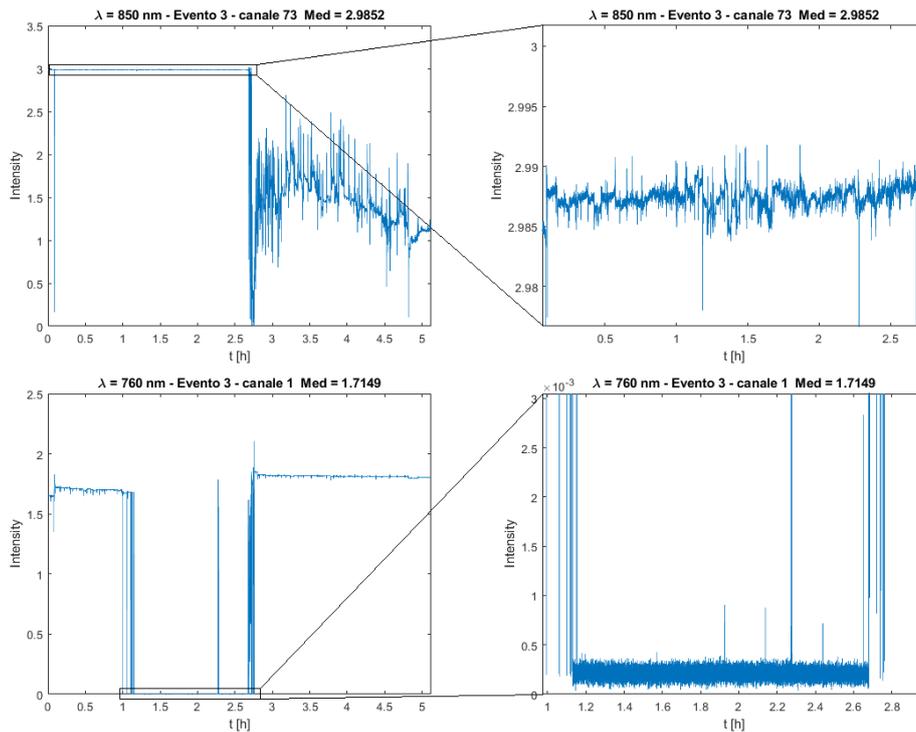


Figura 3.4: Esempi di segnali che è opportuno scartare. In alto, un segnale per cui nella prima metà si ha una elevata probabilità di saturazione dei sensori. Sebbene nella seconda metà non sia presente questo problema, il rischio che buona parte dell'informazione non sia stata correttamente registrata è alto ed è quindi opportuno scartare il segnale, per evitare di ricavare informazioni errate sull'ossigenazione cerebrale. In basso, un esempio di segnale in cui è presente una vasta zona centrale in cui è stato misurato prevalentemente rumore di misura della strumentazione, ed è quindi un segnale che è opportuno scartare.

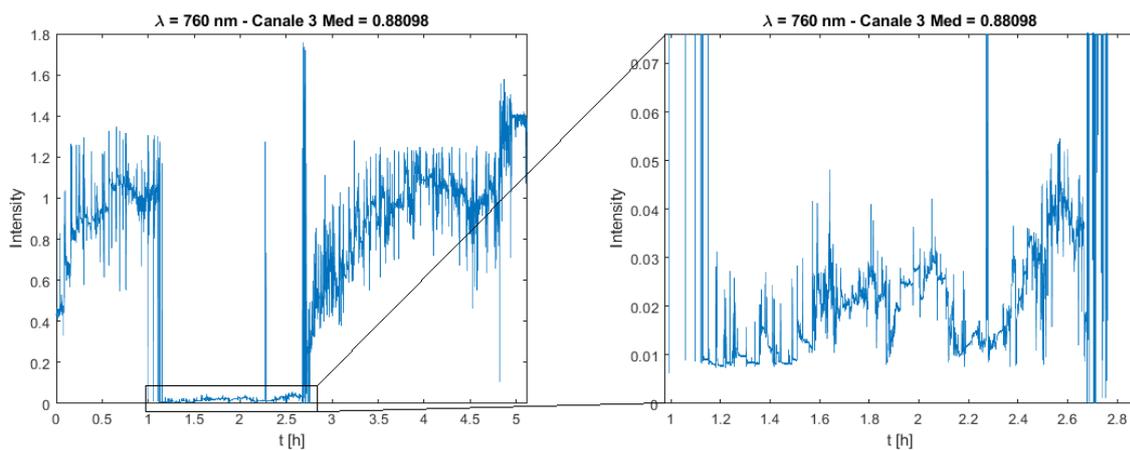


Figura 3.5: Esempio di segnale valido per le successive elaborazioni. Sebbene all'apparenza la caratteristica della zona centrale sia simile a quella del segnale in *Figura 5.7*, se si osserva con più attenzione si nota come qui nella porzione centrale non sia presente solo rumore della strumentazione, ma dell'informazione valida.

Sulla base di queste congetture, attraverso la semplice ispezione visiva, si sono classificati a mano tutti i segnali NIRS a disposizione.

Il processo di selezione manuale richiede molto tempo, a causa dell'elevato numero di dati a disposizione e la complessità delle caratteristiche che possono portare a discriminare un segnale come buono o da scartare. Se si dovesse estendere questo tipo di analisi ad altri pazienti acquisiti si intuisce come questa parte dell'analisi risulti essere particolarmente dispendiosa in termini di tempo e risorse, solo per classificare pochi dati da scartare. Da qui la necessità di creare un sistema di classificazione automatica per i segnali NIRS, che permetta di risparmiare tempo e risorse almeno per la prima parte dell'elaborazione.

3.2.1 Paradigma di classificazione

Per poter realizzare un sistema di classificazione automatico, è necessario definire il paradigma di classificazione e l'insieme di caratteristiche o features che il classificatore dovrà estrarre dai dati in modo tale da eseguire la classificazione.

Si desidera suddividere i dati a nostra disposizione in due classi distinte: segnali validi e segnali da scartare. Il problema di classificazione da risolvere in questo contesto è di *classificazione binaria*. Tra le possibili classi di ipotesi che si possono utilizzare per risolvere questo problema, le più semplici sono senza dubbio i *predittori lineari* e nello specifico gli *halfspace* [41]. Indicando come \mathbf{x} il vettore che definisce le features estratte da un certo segnale, si definisce la classe delle funzioni affini come:

$$L_d = \{\mathbf{x} \mapsto \langle \mathbf{w}, \mathbf{x} \rangle + b : \mathbf{w} \in \mathbb{R}^d, b \in \mathbb{R}\} \quad (3.1)$$

L'operatore $\langle \cdot, \cdot \rangle$ rappresenta l'usuale prodotto scalare. Queste funzioni affini rappresentano quindi degli iperpiani parametrizzati dal vettore \mathbf{w} e dal termine di bias b .

Dalla classe delle funzioni affini, si definisce come *halfspace*:

$$HS_d = \text{sign} \circ L_d = \{\mathbf{x} \mapsto \text{sign}(\langle \mathbf{w}, \mathbf{x} \rangle + b) : \mathbf{w} \in \mathbb{R}^d, b \in \mathbb{R}\} \quad (3.2)$$

Ogni halfspace è parametrizzato dal vettore \mathbf{w} e dal termine b , riceve come ingresso un vettore di features \mathbf{x} e restituisce un'etichetta, descritta dall'equazione $\text{sign}(\langle \mathbf{w}, \mathbf{x} \rangle + b)$ che definisce

l'uscita del classificatore [41]. Il risultato della classificazione sarà quindi pari a +1 oppure -1 a seconda della classe in cui il classificatore automatico ha posizionato il vettore delle features passato come ingresso. Estruendo da ogni segnale a nostra disposizione un vettore di features \mathbf{x} e utilizzando uno specifico halfspace, sulla base del risultato dell'equazione (3.2) sarà possibile eseguire una classificazione dei segnali.

Nell'ambito del Machine Learning è descritto uno strumento molto utile per l'apprendimento di halfspace, chiamato Macchina a Supporto di Vettori o SVM. Si tratta di un paradigma di apprendimento robusto e semplice da implementare, molto utile soprattutto nel caso di vettori di features di grande dimensione.

Supponiamo di essere in possesso di un insieme di dati di dimensione m già classificato con cui allenare l'SVM, a cui si fa riferimento come training set e che indichiamo con la notazione $(\mathbf{x}, y)_i$, dove il termine y rappresenta la classificazione eseguita a priori. Si definisce come *margin* la minima distanza tra l'halfspace ed il training set, cioè la minima distanza tra il semipiano parametrizzato da \mathbf{w} e b e l'insieme dei dati utilizzati per allenare il classificatore. Il paradigma di apprendimento su cui si basano le SVM consiste nel trovare una parametrizzazione dell'halfspace che massimizzi i margini del semipiano in modo tale da suddividere in modo ottimo il training set in due classi distinte e che allo stesso tempo minimizzi l'errore di classificazione commesso dal classificatore (non è detto infatti che il training set sia perfettamente separabile da un iperpiano, quindi è necessario aspettarsi un errore di classificazione) [41].

Il problema di classificazione può essere riscritto come un problema di minimizzazione regolarizzato, nel seguente modo:

$$\mathbf{w}, b = \underset{\mathbf{w}, b, \xi}{\operatorname{argmin}} \left(\lambda \|\mathbf{w}\|^2 + \frac{1}{m} \sum_{i=1}^m \xi_i \right) \quad (3.3)$$

sotto la condizione: $\forall i, y_i(\langle \mathbf{w}, \mathbf{x} \rangle + b) \geq 1 - \xi_i, \xi_i > 0$. Le variabili ξ_i tengono conto dell'errore di classificazione commesso per ogni elemento del training set. Si può dimostrare che la soluzione ottima a questo problema di minimizzazione può essere espressa come combinazione lineare delle features di un sottoinsieme degli elementi del training set, che vengono chiamati *vettori di supporto*, da cui il nome del paradigma di classificazione [41].

Sebbene si tratti di uno strumento molto potente, risulta evidente il limite di poter apprendere solo modelli lineari. Se immaginiamo i vettori del training set come dei punti in un certo spazio,

non è detto che un iperpiano possa separare perfettamente i nostri dati nelle due classi. Per ovviare a questo problema è possibile mappare le features iniziali dei nostri dati in un nuovo spazio, generalmente di dimensione maggiore, in modo tale da rendere i nostri dati linearmente separabili e su questo nuovo spazio allenare il classificatore. Tutto ciò causa però un aumento del costo computazionale per allenare il classificatore, a meno che non si usi un apprendimento che faccia uso dei cosiddetti *Kernel* [41].

Indicata con $\psi : X \rightarrow F$ una certa funzione di trasformazione (anche non lineare) che mappa le features verso uno spazio di dimensione maggiore, si definisce come Kernel una funzione $K_\psi(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = \langle \psi(\mathbf{x}), \psi(\mathbf{x}') \rangle$. Data una funzione qualsiasi $K_\psi(\mathbf{x}, \mathbf{x}')$, se esiste una funzione ψ tale per cui $K_\psi(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = \langle \psi(\mathbf{x}), \psi(\mathbf{x}') \rangle$, allora la funzione $K_\psi(\mathbf{x}, \mathbf{x}')$ è un Kernel. Il vantaggio di utilizzare un Kernel è la possibilità di allenare una VSM senza aver bisogno di conoscere il valore della trasformazione ψ su ogni vettore \mathbf{x} (dispendioso a livello di risorse, soprattutto se la dimensione dei dati aumenta di molto); è sufficiente conoscere il valore dei prodotti scalari definiti dal Kernel per tutte le coppie dei vettori \mathbf{x} e \mathbf{x}' (in generale più semplice da calcolare). Esempi di Kernel molto utilizzati sono ad esempio i Kernel polinomiali ($K(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = (1 + \langle \mathbf{x}, \mathbf{x}' \rangle)^k$) ed i Kernel Gaussiani ($K(\mathbf{x}, \mathbf{x}') = e^{-\frac{\|\mathbf{x} - \mathbf{x}'\|^2}{2\sigma}}$) [41].

Nel caso dei nostri segnali NIRS, si è optato per valutare una SVM sulla base di tre tipi di Kernel polinomiali:

- Kernel lineare
- Kernel polinomiale di ordine 2
- Kernel polinomiale di ordine 3

Aumentare l'ordine del Kernel, sebbene possa in via teorica portare ad un miglioramento delle prestazioni del classificatore per quanto concerne l'errore di classificazione, aumenta anche il rischio di overfitting sui dati del training set, rendendo a tutti gli effetti il classificatore inutilizzabile nel caso si dovesse applicarlo ad un nuovo insieme di dati.

3.2.2 Features estratte dai dati

Dopo aver scelto il paradigma di classificazione, è necessario estrarre delle features dai dati, cioè dei valori caratteristici che ci permettano di classificare al meglio i segnali e di suddividerli in validi e da scartare.

Come è stato già esposto nei paragrafi precedenti, un indice discriminante, sebbene non sufficiente, è la mediana dei segnali (si preferisce usare la mediana anziché la media in quanto è meno sensibile ai valori estremi dovuti agli artefatti da movimento, quindi è maggiormente rappresentativa dell'andamento medio del segnale rispetto alla media aritmetica). Ma questo dato da solo non basta. È utile considerare anche altri parametri statistici, come ad esempio la deviazione standard. Ai fini della classificazione potrebbero essere utili i momenti di ordine superiore, come l'indice di asimmetria e l'indice di curtosi.

Per testare la variabilità di un segnale si possono anche valutare le caratteristiche della differenza prima e seconda. Ulteriore parametro utile per il confronto è rappresentato dalla potenza del segnale, intesa come valore medio dell'energia ($Power[s(t)] = \frac{1}{N} \sum_i s(t_i)^2$). I segnali non hanno tutti la stessa lunghezza, quindi per poterli confrontare tra di loro non è opportuno usare l'energia, ma è corretto utilizzare la potenza.

Per accentuare alcune caratteristiche dei segnali è inoltre possibile applicare delle trasformazioni non lineari ai dati, come ad esempio una normalizzazione di tipo logaritmico rispetto alla mediana, in modo tale da attenuare l'effetto degli spike dovuti agli artefatti da movimento e allo stesso tempo intensificare gli spike a minor intensità. Tutte queste semplici considerazioni hanno portato alla definizione di 15 possibili caratteristiche che possono essere estratte dai segnali NIRS.

Per semplicità di notazione, indichiamo con $s(t)$ un generico segnale NIRS e con $s_{log}(t)$ ed $s_{shift}(t)$ le seguenti trasformazioni:

$$s_{log}(t) = \log\left(\frac{s(t)}{median[s(t)]}\right) \quad (3.4)$$

$$s_{shift}(t) = (s(t) - median[s(t)]) - (1.5 - median[s(t)])^3 \quad (3.5)$$

Sempre per semplicità di notazione, indichiamo con \dot{s} e \ddot{s} gli operatori di differenza prima e seconda di un segnale. Con queste definizioni, le features estratte dai dati sono le seguenti:

- | | | |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1) $median[s_{shift}(t)]$ | 6) $Power[s(t)]$ | 11) $Power[\dot{s}_{log}(t)]$ |
| 2) $(median[s_{shift}(t)])^2$ | 7) $Power[\dot{s}(t)]$ | 12) $Skewness[s(t)]$ |
| 3) $STD[s_{log}(t)]$ | 8) $Power[\ddot{s}(t)]$ | 13) $Kurtosys[s(t)]$ |
| 4) $range[\dot{s}_{log}(t)]$ | 9) $Power[s_{log}(t)]$ | 14) $Skewness[s_{log}(t)]$ |
| 5) $range[\ddot{s}_{log}(t)]$ | 10) $Power[\dot{s}_{log}(t)]$ | 15) $Kurtosys[s_{log}(t)]$ |

Le features 1) e 2), che incorporano al loro interno la trasformazione (3.5), hanno lo scopo di applicare una trasformazione non lineare sui dati e di aumentare la dimensione dello spazio delle features, in modo tale da rendere maggiormente separabili i dati. Questo tipo di pratica è molto comune nell'ambito del Machine Learning, con lo scopo di migliorare le prestazioni di un classificatore [41]. In *Figura 3.6* è stato esemplificato l'effetto della trasformazione (3.5) e l'effetto delle features 1) e 2) accoppiate.

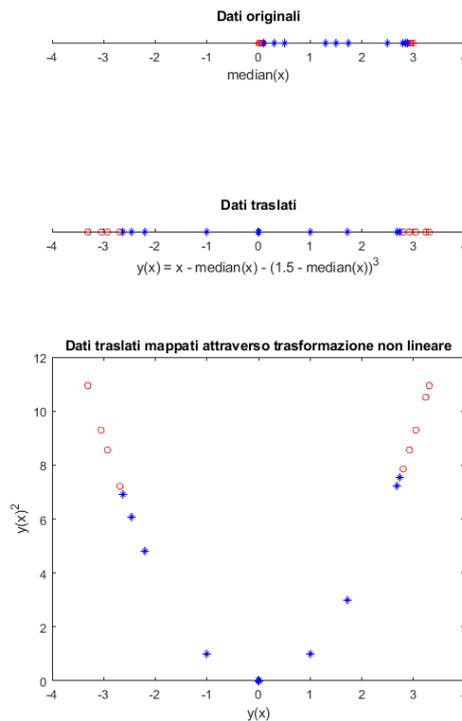


Figura 3.6: Esempio di applicazione della trasformazione non lineare descritta in (3.5) e delle features 1) e 2). Nella prima figura, un esempio di dati appartenenti a due classi distinte (rossa e blu). Nella seconda figura, il risultato della trasformazione non lineare (3.5). Nella terza figura, i dati trasformati vengono mappati in uno spazio di dimensione maggiore ($x \rightarrow (x, x^2)$), in cui sono facilmente separabili da una retta.

Il numero di features proposte è piuttosto elevato ed a priori non è possibile dire se tutte siano o meno necessarie alla classificazione. Un numero troppo elevato di features potrebbe portare anche al fallimento totale del classificatore. Per questi motivi, prima di operare l'allenamento vero e proprio della SVM, è opportuno scegliere un adeguato sottoinsieme di caratteristiche tra quelle proposte, con lo scopo non solo di migliorare le performance del classificatore, ma anche di renderlo il meno complesso possibile.

Per questo scopo si è fatto uso del tool *sequentialfs* presente in Matlab, appositamente creato per operare una selezione di tipo sequenziale. A partire da un insieme di features vuoto, ad ogni passaggio vengono creati dei sottoinsiemi di features aggiungendo una feature per volta tra quelle non ancora selezionate, fino a quando è possibile migliorare la predizione. Ad ogni passaggio, la scelta del sottoinsieme migliore viene effettuata sulla base del criterio K-folds Cross Validation, considerando il sottogruppo che mediamente minimizza un certo criterio di predizione, passato come parametro. Nel nostro caso, il parametro da minimizzare scelto è proprio l'errore di predizione del classificatore.

Avendo scelto tre tipi diversi di Kernel e non sapendo a priori quale sia il migliore per il nostro caso, l'operazione di selezione delle features è stata applicata considerando di volta in volta un Kernel diverso. È necessario svolgere l'operazione di selezione delle features separatamente per ciascuno dei Kernel, in quanto non si può essere sicuri che un sottoinsieme di features ottimo per un certo modello lo sia anche per tutti gli altri.

3.2.3 Valutazione dei risultati della classificazione

Sulla base delle features selezionate per ogni tipologia di modello, si sono stimati i valori dei parametri delle SVM. Per capire quale sia il modello più adatto, non è sufficiente basarsi semplicemente sull'errore totale commesso dal classificatore su tutto il training set, in quanto nel caso di un modello troppo complesso c'è la possibilità di incorrere in overfitting dei dati. Questo comporta che, sebbene l'errore commesso dal classificatore considerando tutto il training set possa essere molto piccolo, l'errore vero commesso dal classificatore nel caso si considerasse un qualunque altro insieme di dati appartenenti alla stessa tipologia potrebbe rivelarsi invece molto elevato. Nel caso siano disponibili due insieme di dati, è possibile utilizzare un insieme come training set per la stima dei parametri del classificatore e l'altro insieme come test per ricavare una stima dell'errore vero. Sebbene il numero dei dati a nostra

disposizione sia elevato, il numero dei segnali classificati come da scartare è esiguo e risulta perciò difficile estrarre un insieme di test omogeneo all'insieme utilizzato per la stima dei parametri. Per risolvere il problema si può fare ricorso al criterio K-Folds Cross Validation, attraverso cui è possibile ricavare una stima dell'errore vero senza dover fare ricorso a due insiemi di dati distinti.

È stato scritto per questo scopo uno specifico codice in Matlab, facendo ricorso alle funzioni *fitcsvm* e *crossval*, rispettivamente per allenare la SVM ed eseguire i test di cross-validazione per ricavare la stima dell'errore vero commesso dal classificatore.

3.2.4 Miglioramento del classificatore: paradigma GSVM-RU

Lo scopo principale del classificatore automatico consiste nell'identificare nel modo più efficiente possibile i segnali da scartare, che potrebbero portare ad una stima errata dell'ossigenazione cerebrale. Per questo motivo quindi è preferibile avere più falsi negativi che falsi positivi.

Il dataset utilizzato per la stima dei parametri del classificatore è fortemente sbilanciato, in quanto solo un numero ridotto di segnali rispetto al totale è classificato come da scartare.

Sebbene nel caso di dati moderatamente sbilanciati la SVM sia più accurata rispetto ad altri classici classificatori, può comunque essere molto sensibile nel caso di classi altamente sbilanciate, risultando in una drastica caduta delle performance verso la classe di minoranza e quindi generando un classificatore con un bias molto elevato verso la classe di maggioranza [42], che si traduce nel nostro caso in un numero molto elevato di falsi positivi.

In uno studio di Yuchun e colleghi [42], è stato proposto un nuovo paradigma di apprendimento per cercare di arginare il problema di dataset altamente sbilanciati, chiamato Granular Support Vector Machine – Repetitive Undersampling o GSVM-RU. Lo scopo di questo approccio è di creare, a partire da un insieme di dati inizialmente molto sbilanciato, un training set di dimensione minore e maggiormente bilanciato. L'idea di base di questo approccio deriva proprio da una caratteristica peculiare delle SVM, per cui solo un ristretto sottoinsieme di dati, i vettori di supporto, sono informativi e concorrono alla stima dei parametri del classificatore. L'algoritmo, implementato utilizzando il software Matlab, inizia considerando tutti i dati della classe di minoranza come potenzialmente informativi. Inizialmente si stimano i parametri della SVM utilizzando tutto il dataset e si considerano i vettori di supporto appartenenti alla classe

di maggioranza: questi dati della classe di maggioranza sono sicuramente informativi e possono essere inseriti nel nuovo training set. Questi specifici vettori di supporto sono quindi estratti dal dataset iniziale, riducendo così la dimensione dello stesso. Il processo viene poi ripetuto iterativamente, creando di volta in volta sottogruppi di vettori di supporto della classe di maggioranza. Per creare il nuovo training set ottimo è necessario aggregare questi sottogruppi di vettori di supporto della classe di maggioranza con i dati della classe di minoranza. Per fare questo è necessario fissare una certa metrica, che permetta di confrontare la variazione di performance del classificatore sui vari nuovi dataset creati. L'algoritmo termina nel caso in cui, secondo la metrica scelta, non si abbia un aumento delle performance del classificatore oppure nel caso in cui non si abbiano più vettori di supporto della classe di maggioranza da inserire nell'insieme finale. Il training set ottimo finale sarà quindi formato da tutti gli elementi appartenenti alla classe di minoranza e dall'unione di tutti gli elementi classificati come vettori di supporto appartenenti alla classe di maggioranza estratti ad ogni passaggio dell'algoritmo fino alla sua terminazione [42].

Tra le varie metriche di confronto proposte nel lavoro di Yuchun e colleghi, è stata scelta la *specificità*, definita come:

$$Specificità = \frac{TN}{TN + FP} \quad (3.6)$$

nella quale TN rappresenta il numero totale di veri negativi, mentre FP il numero totale di falsi positivi.

3.3 Prima tecnica di correzione degli artefatti da movimento: Targeted PCA

Il primo passo di correzione degli artefatti da movimento, successivo alla classificazione preliminare, prevede l'utilizzo della targeted PCA o tPCA, presentata per la prima volta da Yücel e colleghi [37]. Gli artefatti da movimento che derivano dallo spostamento fisico del sistema ottico rispetto alla testa del soggetto statisticamente presentano una varianza elevata e sono rilevabili contemporaneamente in molteplici canali ad entrambe le lunghezze d'onda [33]. Questa caratteristica può essere sfruttata per la loro rimozione utilizzando un approccio che si basa sull'Analisi delle Componenti Principali o PCA (spiegata in dettaglio nel Paragrafo 3.3.1) [33]. Rispetto alla PCA tradizionale, la tPCA ha il vantaggio di agire solamente sulle epoche

del segnale in cui sono presenti artefatti da movimento anziché sull'intera lunghezza dei segnali. In questo modo si può evitare l'inconveniente di eliminare anche parte del segnale di interesse che invece con la PCA tradizionale potrebbe essere soppresso. Questa tecnica lavora molto bene nel caso in cui le risposte emodinamiche che si desidera ricavare non siano correlate con gli artefatti da movimento [37]. Uno svantaggio di questa tecnica è la necessità di dover identificare a priori le parti di segnale che contengono un artefatto da movimento. Se in un qualsiasi canale una data epoca è classificata come artefatto, allora le epoche corrispondenti di tutti i canali sono incluse nel calcolo della tPCA. Le epoche estratte dai dati sono quindi combinate assieme in una singola matrice. Viene quindi applicata la PCA su questa nuova matrice e ne vengono estratte un certo numero N di componenti principali ordinate in modo decrescente secondo la percentuale di varianza spiegata. Il numero di componenti principali da scartare viene scelto in base alla percentuale di varianza che si desidera eliminare e le epoche corrette vengono ricostruite attraverso la trasformazione inversa della PCA. Le epoche corrette vengono successivamente sostituite nei dati di partenza e traslate in modo da eliminare eventuali scalini causati dal ri-assemblaggio dei segnali. Questo algoritmo può essere applicato iterativamente più volte, in modo tale da eliminare in passi successivi artefatti che non sono stati debitamente corretti nelle iterazioni precedenti. Per quanto concerne l'identificazione delle epoche contenenti artefatti da movimento, la funzione utilizzata è la stessa proposta da Scholkman e colleghi e applicata per l'algoritmo di correzione spline (vedi Paragrafo 3.4) [37]. La tPCA riesce ad eliminare molto bene gli artefatti della categoria di cambiamenti di baseline, i quali non riescono ad essere eliminati attraverso il filtraggio Wavelet. Sebbene anche l'interpolazione spline riesca ad eliminare bene questo tipo di artefatti, i risultati ottenuti sono meno ottimali di quelli ottenuti con tPCA. La probabile motivazione potrebbe risiedere nell'elevato numero di canali disponibili in questo dataset, che contengono artefatti da movimento presenti nella maggior parte di questi canali, rendendo quindi un metodo multi-canale il primo passo essenziale nell'elaborazione di questi dati [37].

La funzione che nello specifico esegue la tPCA è presente nel pacchetto HOMER2, con il nome *hmrMotionCorrectPCARecurse* e fa uso dell'algoritmo di identificazione degli artefatti *hmrMotionArtifact* implementato nello stesso pacchetto ed utilizzato anche per identificare gli artefatti prima della correzione con interpolazione spline. Nello specifico, la funzione di identificazione degli artefatti in HOMER2 si basa sulla valutazione sia della deviazione standard che dell'ampiezza della differenza prima dei segnali in piccole finestre temporali mobili lungo l'intero segnale. I parametri relativi alle finestre temporali, *tMotion* e *tMask*, rappresentano rispettivamente la dimensione della finestra mobile utilizzata per la ricerca degli

artefatti e la dimensione delle epoche dei segnali etichettate come artefatti. I parametri relativi alle soglie, `std_thresh` e `amp_thresh`, sono rispettivamente le soglie su variazioni in deviazione standard e in ampiezza utilizzate per l'identificazione vera e propria degli artefatti. Se un campione del segnale supera i valori di soglia in ampiezza oppure in deviazione standard all'interno della finestra `tMotion`, allora la porzione di segnale centrata sul campione e di dimensione `tMask` viene etichettata come artefatto. La funzione `hmrMotionCorrectPCARecurse`, oltre ai parametri relativi alla ricerca ed identificazione degli artefatti, richiede che siano specificati anche la percentuale di varianza da eliminare (`nSV`) ed il numero massimo di iterazioni `max_iter`. La lista completa dei valori dei parametri scelti è riassunta in *Tabella 3.1*.

Parametro	Valore
<code>tMotion</code>	10 s
<code>tMask</code>	10 s
<code>std_thresh</code>	0.5
<code>amp_thresh</code>	4.5
<code>nSV</code>	0.97
<code>maxIter</code>	20

Tabella 3.1: Tabella riassuntiva dei parametri assegnati alla funzione `hmrMotionCorrectPCARecurse`

Per quanto riguarda la percentuale di varianza da eliminare in letteratura è consigliato di utilizzare un valore di soglia pari al 97 % [37]. Sebbene sia possibile applicare questa tecnica anche con valori di soglia superiori, come ad esempio 99 %, si è preferito evitare di aumentare troppo la soglia, in quanto aumenta il rischio di eliminare anche parte del segnale utile se gli artefatti vengono individuati in zone sequenziali del segnale. Il numero massimo di iterazioni `maxIter` fa riferimento al numero massimo di volte che questa funzione viene applicata alla serie di dati, con lo scopo di eliminare eventuali artefatti residui non eliminati con le precedenti applicazioni dell'algoritmo.

Analizzando alcuni dei casi in cui la sola interpolazione spline si è dimostrata inadeguata, si è potuto constatare come invece la tPCA sia riuscita ad eliminare buona parte degli artefatti dovuti a spostamento della baseline senza introdurre peraltro distorsioni pesanti nei segnali, come si può osservare in alcuni esempi riportati in *Figura 3.7A*.

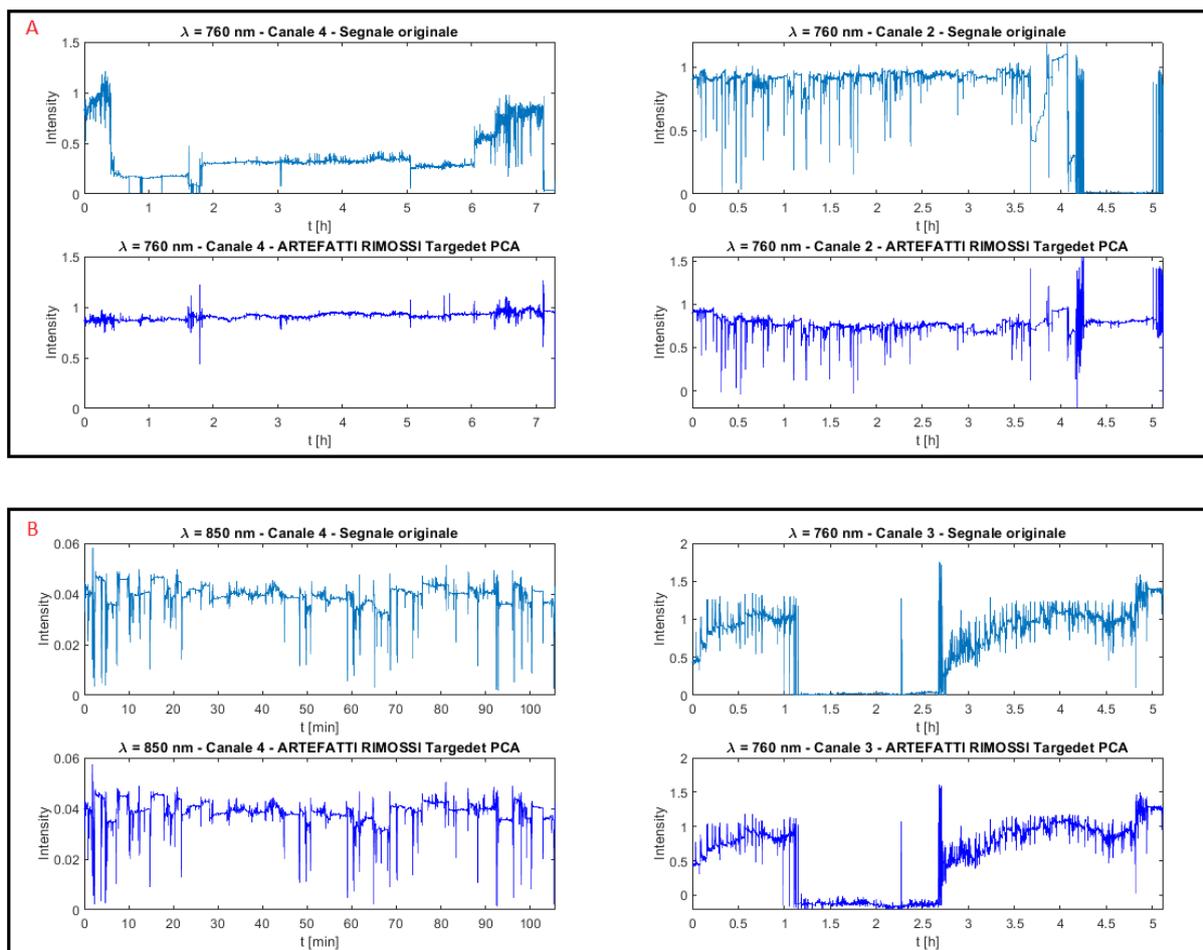


Figura 3.7: A: esempi di segnali affetti da artefatti da movimento corretti attraverso tPCA. Si nota come in questi segnali gli artefatti di tipo baseline shift siano stati del tutto corretti o comunque notevolmente ridotti;

B: esempi di segnali affetti da artefatti da movimento in cui la correzione attraverso tPCA non è risultata efficace. Nell'esempio del segnale di sinistra il segnale è rimasto praticamente invariato, mentre nell'esempio del segnale di destra si notano delle attenuazioni degli artefatti, seppur di entità ridotta.

Non è possibile tuttavia utilizzare solo la tPCA come unico passaggio di rimozione per gli artefatti antecedenti al filtro Wavelet. Sebbene in molti segnali, come quelli riportati in *Figura 3.7A*, la tPCA si sia dimostrata sufficientemente efficace nel correggere o almeno nel ridurre la componente di artefatto, in molti altri casi la riduzione degli artefatti è stata scarsa oppure addirittura nulla. Come si può facilmente osservare in *Figura 3.7B* a sinistra, la differenza tra il segnale originale e quello corretto attraverso tPCA è inesistente, mentre a destra la componente di artefatto è stata ridotta, pur tuttavia rimanendo degli spike e i cambiamenti di baseline che non sono stati adeguatamente corretti e che non permetterebbero quindi di stimare correttamente la variazione di ossigenazione cerebrale.

Una possibile soluzione potrebbe essere utilizzare una soglia in percentuale per la varianza più elevata, come ad esempio 99 %. Dalle prove effettuate, sebbene questa soglia sembra effettivamente portare ad una ulteriore riduzione degli artefatti in questi segnali, si corre il rischio di eliminare anche parte della risposta emodinamica, compromettendo quindi la successiva elaborazione. Per questo motivo è stato deciso di non aumentare la soglia in varianza, ma di utilizzare un'ulteriore tecnica di rimozione degli artefatti che potesse funzionare bene nel caso di cambiamenti di baseline, come l'interpolazione spline e che potesse correggere gli artefatti non corretti dalla targeted PCA.

3.3.1 Principi di funzionamento della PCA

La correzione degli artefatti attraverso PCA sfrutta la proprietà degli artefatti da movimento di produrre effetti altamente correlati spazialmente. Questa è una caratteristica generale degli artefatti da movimento, ma non di tutti i possibili tipi. L'algoritmo funziona bene per ridurre gli artefatti da movimento nel caso in cui l'area su cui si espande il loro effetto sia molto grande e non abbia una dimensione paragonabile rispetto alle aree cerebrali funzionalmente attive. Nel caso di sistemi con un numero limitato di canali oppure di sistemi con sensori di dimensione pari alle aree funzionali stesse, la PCA non solo non produce l'effetto desiderato, ma potrebbe portare a stimare in maniera errata le risposte emodinamiche. Se utilizzata troppo pesantemente inoltre potrebbe rimuovere anche i segnali utili per la stima dell'attivazione cerebrale [26].

Nello specifico, PCA applica una trasformazione ortogonale su un insieme di N misurazioni per produrre N componenti tra di loro linearmente non correlate. L'ordine in cui queste componenti vengono costruite è relativo alla varianza dei dati originali che ciascuna di queste componenti riesce a spiegare. Questo comporta che le prime componenti sono in grado di spiegare la maggior parte della varianza dei dati stessi. Gli artefatti da movimento presenti nella maggior parte dei dati NIRS hanno un'ampiezza decisamente maggiore rispetto al resto dei campioni, concorrendo quindi a formare la maggior parte della varianza totale dei segnali [27], [33]. Il filtraggio attraverso PCA si basa sulla sottrazione delle componenti principali relative agli autovalori più grandi. Le componenti principali dei dati sono calcolate sfruttando la Decomposizione ai Valori Singolari (SVD). Per la corretta rimozione di tutti gli artefatti, la covarianza dei dati dovrebbe essere calcolata utilizzando tutti i canali e tutte le lunghezze d'onda [27].

Per un certo insieme di dati NIRS \mathbf{Y} , di dimensione *tempo* \times *canali*, la correzione attraverso PCA inizia con il calcolo della SVD sulla matrice di correlazione spaziale $\mathbf{Y}^T\mathbf{Y}$, che permette di scrivere la seguente decomposizione:

$$\mathbf{Y}^T\mathbf{Y} = \mathbf{U}\mathbf{\Omega}\mathbf{U}^T \quad (3.7)$$

dove \mathbf{U} è una matrice ortogonale contenente gli autovettori della matrice $\mathbf{Y}^T\mathbf{Y}$, mentre $\mathbf{\Omega}$ è una matrice diagonale che contiene gli autovalori associati. Entrambe queste matrici hanno dimensione $N \times N$. I primi r autovettori, le cosiddette componenti principali, possono essere rimosse dai dati originali in questo modo:

$$\mathbf{Y}_{corrected} = \mathbf{Y}(\mathbf{I} - \mathbf{U}\mathbf{A}_r\mathbf{U}^T) \quad (3.8)$$

dove \mathbf{A}_r è una matrice $N \times N$ con i primi r elementi della diagonale uguali ad 1 e tutti gli altri uguali a 0 [33].

La prestazione della PCA nella rimozione degli artefatti dipende fortemente da due fattori: il numero delle misurazioni totali NIRS disponibili (N) ed il numero delle componenti che si desidera rimuovere (r). Il valore ottimo del parametro r però non può essere fissato arbitrariamente, ma deve essere correlato al numero totale di misurazioni N . Un approccio semplice per scegliere il numero di componenti da rimuovere è quello di normalizzare gli elementi della matrice $\mathbf{\Omega}$ rispetto alla somma totale degli elementi, in modo tale da ottenere una nuova matrice $\tilde{\mathbf{\Omega}}$. L' n -esimo elemento diagonale della matrice $\tilde{\mathbf{\Omega}}$ rappresenta la percentuale di varianza totale spiegata dalla componente principale n -esima rispetto ai dati originali [27], [33]. Fissata quindi una certa soglia percentuale di varianza, si sceglie il valore ottimo del numero di componenti totali da eliminare come il valore minimo r tale per cui:

$$\sum_{n=1}^r \tilde{\omega}_{n,n} \geq \sigma_{PCA} \quad (3.9)$$

È importante tenere in considerazione che questo approccio è funzionale nel caso si abbia un gran numero di artefatti da movimento. Nel caso in cui gli artefatti da movimento fossero rari e soprattutto non fossero presenti nella maggior parte dei canali, non solo cadrebbero le assunzioni per poter applicare questo metodo e non si otterrebbero i risultati sperati, ma si

rischierebbe di degradare parte dei segnali fisiologici di interesse che si vorrebbe recuperare [33].

3.4 Seconda tecnica di correzione degli artefatti da movimento: interpolazione spline

Nel paragrafo precedente è stato osservato come la sola applicazione della tPCA non fosse sempre in grado di ridurre l'effetto degli artefatti da movimento, in quanto in alcuni casi questi artefatti venivano solo parzialmente o per nulla rimossi.

Come secondo passaggio di elaborazione, per cercare di ridurre gli artefatti rimasti, è stato quindi utilizzato il metodo di interpolazione spline. Proposto per la prima volta da Scholkmann e colleghi [32], si tratta di una tecnica di rimozione degli artefatti da movimento efficiente e rapida dal punto di vista computazionale, basata sulla semplice analisi temporale dei segnali NIRS [32].

L'algoritmo, inizialmente proposto con l'acronimo Movement Artifact Reduction Algorithm o MARA, esegue i seguenti passaggi:

- 1) Rilevazione dei punti di inizio e fine degli artefatti da movimento presenti nel segnale, sulla base di un certo criterio. Nel lavoro originale di Scholkmann e colleghi [32], questo algoritmo di rilevazione calcola la deviazione standard mobile (MSD) lungo il segnale e vengono considerati come artefatti da movimento tutti quei punti per cui l'ampiezza della MSD supera un certo valore di soglia.
- 2) Sulla base degli istanti di inizio e fine degli artefatti, i segnali vengono segmentati in parti di segnale con artefatti da movimento ed in parti di segnale libere da artefatti da movimento.
- 3) Per ogni segmento in cui sia presente un artefatto, viene calcolata l'interpolazione spline cubica regolarizzata dell'artefatto, per mezzo della funzione *csaps* presente in Matlab. Attraverso un parametro di regolarizzazione p , è possibile controllare l'accuratezza dell'interpolazione.
- 4) L'interpolazione spline calcolata viene sottratta al relativo segnale di ogni segmento.

- 5) L'intera serie temporale viene infine ricostruita. Il processo di sottrazione modifica il valore medio dei segmenti affetti da artefatti da movimento, che dovrà quindi essere opportunamente traslato per mantenere la continuità del segnale completo.

Questa tecnica ha il vantaggio di essere adattabile, efficiente, automatizzata e di agire solamente sulle epoche classificate come artefatti, lasciando inalterato il resto del segnale. La qualità dell'eliminazione degli artefatti dipende molto dai vari parametri dell'algoritmo (come i parametri per l'individuazione degli artefatti da movimento presenti nel segnale ed il parametro di precisione dell'interpolazione spline), in quanto queste variabili non sono identificate automaticamente. La correzione spline è particolarmente utile nel caso di misurazioni NIRS molto lunghe (> 1h) e nel caso in cui la deviazione standard degli artefatti sia molto più grande rispetto alla deviazione standard della componente utile del segnale. Inoltre, risulta molto utile per eliminare gli artefatti dovuti a cambiamenti di baseline dei segnali [27], [32].

Nel pacchetto di analisi HOMER2 è presente anche questa funzione di riduzione degli artefatti da movimento, sebbene l'implementazione della parte di rilevazione degli artefatti sia diversa rispetto a quella proposta da Scholkman e colleghi, in quanto fa uso della funzione *hmrMotionArtifactByChannel* già citata nel Paragrafo 3.3 ed utilizzata anche dalla tPCA. Rispetto a quanto fatto con la tPCA, in questo caso la ricerca degli artefatti viene eseguita separatamente per ogni canale, perciò un'epoca di un canale identificata come artefatto non verrà necessariamente marcata come tale anche in tutti gli altri canali.

Questa versione dell'algoritmo di rilevazione è più versatile (in quanto si possono utilizzare due diverse soglie) rispetto alla versione originale proposta da Scholkman e colleghi. La maggior flessibilità si paga con la maggiore difficoltà nell'impostare un insieme di parametri che possa essere adatto per la maggior parte dei segnali. Il dataset a nostra disposizione, oltre ad essere composto da un elevato numero di segnali, è pesantemente corrotto da artefatti da movimento che si presentano sotto diverse forme. È impensabile quindi modificare i parametri di rilevazione singolarmente per ogni segnale, in modo tale da identificare miratamente tutti i possibili artefatti. Bisogna operare un compromesso tra l'utilizzare delle soglie sufficientemente ridotte da permettere di rilevare gli artefatti da movimento non corretti dalla tPCA (soprattutto per quanto riguarda gli artefatti di cambiamento di baseline) e l'utilizzare delle soglie sufficientemente elevate che permettano di non identificare come artefatto da movimento parti di segnale prive di artefatti, in modo tale da evitare di introdurre distorsioni nei segnali.

È lecito aspettarsi quindi che ci possa essere una piccola percentuale dei segnali che, a causa di artefatti non del tutto ridotti (soprattutto di tipo di cambiamento di baseline) o di distorsioni create dall'applicazione dell'interpolazione spline su parti di segnale in successione, non siano utilizzabili per una stima affidabile dei livelli di ossigenazione cerebrale.

Facendo riferimento alle funzioni presenti nel pacchetto di elaborazione HOMER2, per realizzare l'interpolazione spline è necessario utilizzare due funzioni: *hmrMotionArtifactByChannel* per la rilevazione, canale per canale, degli istanti in cui sono presenti artefatti da movimento e *hmrMotionCorrectSpline* per eseguire la correzione vera e propria. La funzione di correzione applica la correzione spline solo agli istanti temporali individuati dalla precedente applicazione della funzione di identificazione degli artefatti da movimento. La funzione di correzione richiede inoltre che sia specificato un parametro di regolarizzazione p . Nel lavoro originariamente proposto da Scholkmann e colleghi [32], si consiglia un valore pari a $p = 0.99$. La lista completa dei parametri impostati per eseguire l'interpolazione spline è presente in *Tabella 3.2*.

Parametro	Valore
tMotion	5 s
tMask	5 s
std_thresh	1.0
amp_thresh	5.0
p	0.99

Tabella 3.2: Tabella riassuntiva dei parametri assegnati alle funzioni *hmrMotionArtifactByChannel* e *hmrMotionCorrectSpline* necessarie per eseguire l'interpolazione spline.

È importante notare come non sia corretto invertire i primi due passaggi di elaborazione. Nello specifico, non si dovrebbe applicare l'interpolazione spline prima della tPCA, a causa delle assunzioni su cui si basa il funzionamento stesso della tPCA. Con l'interpolazione spline infatti si va ad eliminare già buona parte delle componenti relative alla maggior parte della varianza del segnale, rendendo di fatto il successivo passaggio con tPCA inutile o nel peggiore dei casi deleterio.

La soluzione migliore quindi è stata applicare, come primo passaggio di elaborazione, la tPCA, in quanto si è dimostrata una valida opzione per eliminare spike e cambiamenti di baseline, che

l'applicazione della sola correzione spline non riusciva a ridurre o eliminare. Il secondo passaggio fa uso dell'interpolazione spline, che non solo è in grado di correggere artefatti che non sono stati corretti con la tPCA, ma è anche in grado di compensare spike e cambiamenti di baseline che possono essere stati introdotti per errore con la tPCA stessa. In *Figura 3.8* si possono osservare alcuni esempi di rimozione di artefatti da movimento con interpolazione spline su dati precedentemente corretti con tPCA.

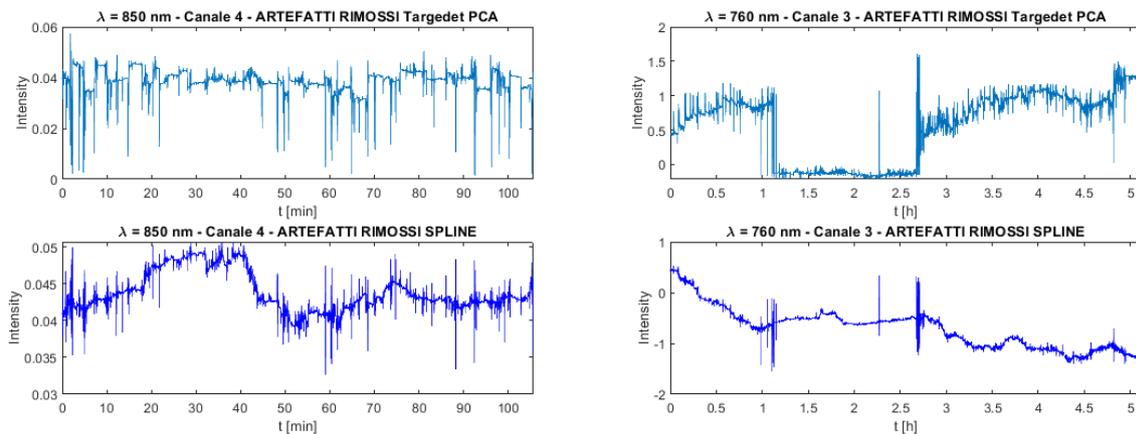


Figura 3.8: Esempi di segnali affetti da artefatti da movimento corretti attraverso interpolazione spline. Il primo passaggio con la tPCA è stato inefficace nella riduzione di questi artefatti, mentre attraverso il secondo passaggio di riduzione applicando l'interpolazione spline è stato possibile ridurre gran parte degli artefatti dovuti a cambiamenti di baseline.

3.5 Detrending

Prima di applicare il filtraggio Wavelet, è stato applicato un passaggio intermedio per eliminare i trend dei segnali a bassissima frequenza, come drift lineari dovuti, ad esempio, al surriscaldamento dei LED delle sorgenti. È importante ricordare che l'acquisizione è stata condotta in continua per 7 giorni, perciò è plausibile ipotizzare che sia presente una componente di drift almeno lineare dovuto al surriscaldamento del LED che forniscono gli impulsi luminosi. Nella procedura di elaborazione standard dei dati NIRS, i drift a bassa frequenza ed il rumore ad alta frequenza vengono solitamente eliminati attraverso un'operazione di filtraggio in frequenza di tipo passa alto oppure passabanda, implementato con filtri di Butterworth o di Chebyshev. Questa opzione purtroppo non è possibile nel caso dei nostri segnali, in quanto le

frequenze a cui stiamo interessati sono molto basse. Supponendo che la variazione emodinamica che vogliamo stimare si sviluppi in un intervallo temporale di almeno 1 ora, questo richiederebbe di progettare un filtro passa alto con una frequenza di taglio inferiore a 0.0001 Hz . Sfortunatamente utilizzando il software Matlab non è possibile creare filtri stabili con frequenze di taglio così estreme, in quanto a causa di instabilità numeriche l'uscita dei filtri non è limitata e quindi diverge.

Sono state sviluppate varie tecniche per effettuare il detrending dei segnali, con lo scopo di rimuovere fluttuazioni molto lente, senza far uso di filtri in frequenza. Il detrending attraverso regressione lineare con modelli polinomiali di ordine elevato (fino al quarto ordine) si è dimostrato efficace nell'eliminare fenomeni di drift del livello basale dei segnali sia nel caso di segnali elettrocardiografici (ECG) che nel caso di segnali NIRS [43], [44]. Sono stati applicati con successo anche metodi non parametrici, basati principalmente sullo stimatore regolarizzato di Philip-Tikhonov, sia per la rimozione di trend a bassissima frequenza in segnali ECG che in segnali di spettroscopia in generale [45], [46].

Il rischio che si corre nell'utilizzare un fit polinomiale di grado superiore al primo è di eliminare non solo i drift della linea di base, ma anche la variazione emodinamica di nostro interesse e di introdurre delle distorsioni (come fluttuazioni non realmente presenti) nel caso in cui l'ordine del modello polinomiale non sia adeguato. L'approccio non parametrico invece è molto più versatile, in quanto non è legato ad alcuna assunzione a priori sulla forma del trend da eliminare, ma solo sulla regolarità del segnale. Proprio per questo motivo è da ritenersi l'approccio migliore per il processo di detrending. Tuttavia, il problema principale di questa tecnica risiede nella scelta del parametro di regolarizzazione. Non è possibile utilizzare nessun criterio statistico per la scelta di questo parametro, in quanto non si hanno sufficienti informazioni a priori sulla morfologia della risposta emodinamica e neppure sulla componente di rumore. Inoltre, per evitare anche in questo caso di eliminare non solo i trend indesiderati ma anche le variazioni emodinamiche di interesse, la scelta di un valore corretto per il parametro di regolarizzazione è estremamente difficile. Con l'obiettivo di eliminare solo variazioni molto lente, si è costretti ad utilizzare un valore molto elevato del parametro di regolarizzazione, scelto arbitrariamente, in modo tale da indurre una stima il più regolare possibile. Un'altra difficoltà riscontrata nell'uso di questo approccio sui dati disponibili è relativa al fatto che ogni evento è di durata diversa e quindi non è detto che un certo valore di regolarizzazione scelto sia adeguato a tutti i segnali presi in esame. Data la difficoltà nel ricercare un criterio adeguato alla scelta del parametro di regolarizzazione ottimo per ogni tipo di segnale, è stato adottato un approccio di detrending meno sofisticato.

Avendo in mente come scopo principale l'eliminazione dei drift molto lenti del livello basale dei segnali, si prende in considerazione il più semplice modello polinomiale, quello lineare, della forma:

$$y(t) = a \cdot t + b \quad (3.10)$$

Per la stima dei parametri del modello si fa uso della tecnica ai minimi quadrati non pesata, applicata però non su tutti i dati del segnale, ma solo su un sottoinsieme ridotto. Se indichiamo con $\mathbf{Y} = [y_{t_1}, \dots, y_{t_n}]^T$ il vettore che rappresenta un generico segnale di dimensione n , con $\mathbf{G} = [\mathbf{t}^T, \mathbf{1}^T]$, dove \mathbf{t} rappresenta il vettore dei tempi di dimensione n e $\mathbf{1} = [1, \dots, 1]$ di lunghezza n , con \mathbf{W} la matrice diagonale dei pesi di dimensione $n \times n$ tale per cui:

$$(\mathbf{W})_{k,k} = \begin{cases} 1 & \text{se } k \leq 0.05 \cdot n \vee k \geq (1 - 0.05) \cdot n \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (3.11)$$

il problema di stima ai minimi quadrati può essere risolto in forma chiusa, ricavando la seguente soluzione:

$$[a, b]^T = (\mathbf{G}^T \mathbf{W} \mathbf{G})^{-1} \mathbf{G}^T \mathbf{W} \mathbf{Y} \quad (3.12)$$

Con la definizione della matrice dei pesi in (3.11), il modello di regressione viene calcolato sfruttando solo il 5% dei dati iniziali e solo il 5% dei dati finali, in modo tale che la stima (3.12) valuti solo il drift lineare dei dati che porti ad avere una differenza tra il livello di base tra l'inizio e la fine del segnale.

Dopo aver stimato i parametri del modello lineare, il detrending si ottiene semplicemente sottraendo ai dati il modello appena stimato:

$$y_{det}(t) = y(t) - a \cdot t - b \quad (3.13)$$

Sebbene il limite di questo approccio sia proprio nella capacità di eliminare solo variazioni lineari nei segnali che causino una differenza tra il livello iniziale e finale dei dati, non si corre il rischio di introdurre alterazioni nei segnali o di eliminare proprio le variazioni emodinamiche di interesse, come si osserva negli esempi riportati in *Figura 3.9*, in cui il detrending è stato applicato ai dati corretti con interpolazione spline.

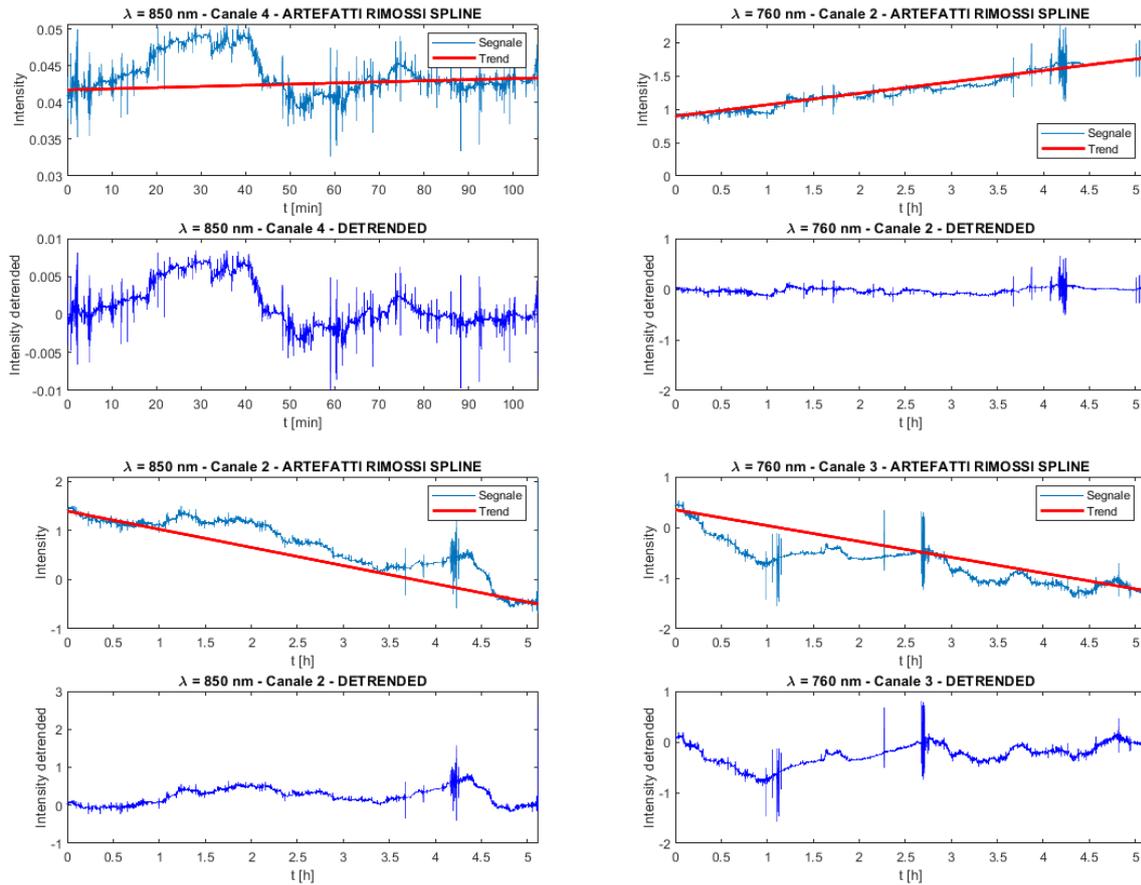


Figura 3.9: Esempi di segnali prima e dopo l'applicazione del passo di detrending. Come si può facilmente notare, con la tecnica di detrending implementata non si eliminano le oscillazioni più lente dei segnali, ma si elimina, se presente, solo la differenza tra il livello medio iniziale e finale dei segnali.

3.6 Filtro Wavelet

L'ultimo passaggio di elaborazione dei segnali NIRS prevede l'applicazione del filtro Wavelet. Questa particolare tecnica permette di eliminare la maggior parte del rumore ad alta frequenza, così come gli artefatti da movimento di tipo spike, anch'essi ad alta frequenza.

Attraverso la Trasformata Wavelet Discreta (DWT) è possibile ottenere una buona rappresentazione tempo-frequenza delle componenti del segnale, che si traduce, per quanto

riguarda gli artefatti da movimento, in coefficienti isolati di valore molto elevato a precisi istanti temporali, che possono quindi essere facilmente rilevati ed azzerati [28].

Un segnale $y(t)$ può essere scritto nel dominio della trasformata DWT come:

$$y(t) = \sum_k v_{j_0,k} \phi_{j_0,k}(t) + \sum_{j=j_0}^{\infty} \sum_k w_{j,k} \psi_{j,k}(t) \quad (3.14)$$

nella quale $\phi_{j,k}(t) = 2^{\frac{j}{2}} \cdot \phi(2^j t - k)$ sono le funzioni di scala e $\psi_{j,k}(t) = 2^{\frac{j}{2}} \cdot \psi(2^j t - k)$ sono le funzioni Wavelet. La funzione $\psi(t)$ è chiamata invece Wavelet madre. j e k sono rispettivamente i parametri di dilatazione e traslazione, mentre j_0 rappresenta la scala di decomposizione più bassa, cioè quella più grossolana. I coefficienti $v_{j_0,k}$ e $w_{j,k}$ sono rispettivamente i coefficienti di approssimazione e di dettaglio. Per applicare l'analisi Wavelet, si assume che il segnale $y(t)$ possa essere decomposto in una parte di interesse $f(t)$ a cui è sommato un termine di interferenza $\varepsilon(t)$:

$$y(t) = f(t) + \varepsilon(t) \quad (3.15)$$

Per il calcolo della DWT del segnale $y(t)$ si fa uso dell'algoritmo per la trasformata Wavelet veloce. In questo modo i coefficienti $v_{j,k}$ e $w_{j,k}$ della trasformata possono essere scritti come:

$$w_{j,k} = \sum_l g(l - 2k) v_{j+1}(l) \quad v_{j,k} = \sum_l h(l - 2k) v_{j+1}(l) \quad (3.16)$$

con $j = j_0, \dots, J - 1$ e $k = 0, \dots, 2^j - 1$. Le funzioni $g(n)$ e $h(n)$ rappresentano rispettivamente i banchi di filtri Wavelet passa alto e passa basso, mentre $v_j(t)$ rappresenta l'uscita decimata del filtro passa basso al livello j -esimo. Supponendo che $y(n)$ sia la versione campionata del segnale $y(t)$, con $n = 0, \dots, N$, allora J è tale per cui $N = 2^J$ e $v_j(n) = y(n)$. In forma matriciale, le formule (3.16) possono essere riscritte come:

$$\mathbf{W} = \mathcal{W}\mathbf{Y} \quad (3.17)$$

dove \mathcal{W} è la matrice DWT di dimensione $N \times N$, $\mathbf{Y} = [y(0), \dots, y(N-1)]^T$ è il vettore che contiene i campioni $y(n)$ e $\mathbf{W} = [\mathbf{W}_{j-1}, \dots, \mathbf{W}_0, \mathbf{V}_0]^T$ è la matrice dei coefficienti Wavelet. In particolare, il vettore \mathbf{W}_j contiene i coefficienti Wavelet relativi al livello di decomposizione j -esimo, cioè $(\mathbf{W}_j)_k = w_{j,k}$, mentre \mathbf{V}_0 contiene i coefficienti della funzione di scala, cioè $(\mathbf{V}_0)_k = v_k$.

Scrivendo la funzione (3.15) anch'essa in forma vettoriale e applicando la DWT per un certo livello di decomposizione j -esimo, si ottiene la seguente scrittura:

$$\mathcal{W}_j \mathbf{Y} = \mathcal{W}_j \mathbf{f} + \mathcal{W}_j \boldsymbol{\varepsilon} \quad (3.18)$$

la quale ci fornisce la relazione lineare tra i coefficienti del segnale osservato relativi alla componente di interesse e alla componente di interferenza [28].

Si assume che la distribuzione dei coefficienti $w_{j,k}$ si possa schematizzare come una mistura di distribuzioni Gaussiane: una distribuzione Gaussiana a media nulla per descrivere i coefficienti relativi alla componente emodinamica di interesse ed una seconda distribuzione Gaussiana per modellizzare i coefficienti che maggiormente si discostano dal valore nullo, a rappresentare la parte del segnale relativa a rumore ed altri artefatti. Nel lavoro proposto da Molavi e Dumont [28], viene semplificata questa assunzione, assumendo quindi che i coefficienti DWT si distribuiscano in ogni livello come un'unica distribuzione Gaussiana, in quanto la risposta emodinamica è in genere molto più lenta e regolare rispetto alla componente di interferenza degli artefatti da movimento. La maggior parte dei coefficienti del segnale si distribuiranno attorno a zero e con varianza minore rispetto ai coefficienti appartenenti alla componente di artefatto. È possibile quindi eliminare, in ogni livello di decomposizione, i coefficienti $w_{j,k}$ per i quali la probabilità di osservare un valore maggiore od uguale a $w_{j,k}$ è minore di una soglia arbitraria α . I coefficienti che appartengono a questa categoria vengono quindi classificati come componenti di artefatto e quindi posti a 0 [28].

Nel pacchetto di analisi HOMER2 è presente la funzione *hmrMotionCorrectWavelet* che implementa questo metodo di correzione degli artefatti da movimento. Rispetto al lavoro originariamente presentato da Molavi e Dumont [28], questa funzione rilassa le ipotesi sulla Gaussianità a media nulla della distribuzione dei coefficienti Wavelet. Inoltre, non si fa uso di una soglia di probabilità, ma bensì dell'intervallo interquartile, cioè l'intervallo che contiene metà dei valori osservati. Nel caso della soglia di probabilità, se non ci dovessero essere dei coefficienti outlier appartenenti alla componente di artefatto, alcuni coefficienti verrebbero

comunque azzerati. Nel caso invece dell'intervallo interquartile questo non accade e si può evitare di eliminare per errore dei coefficienti corretti. Sulla base dei coefficienti ricavati come descritto sopra, viene calcolato per ogni livello l'intervallo interquartile (o IQR). Per semplicità di notazione, indichiamo con Q_1 ed Q_3 rispettivamente il primo e terzo quartile. IQR è definito come la differenza tra Q_3 e Q_1 . I coefficienti Wavelet vengono discriminati in base ad un fattore moltiplicativo α passato come parametro alla funzione, in modo che:

$$\widehat{w}_{j,k} = \begin{cases} w_{j,k} & \text{se } w_{j,k} \in [Q_1 - \alpha \cdot IQR, Q_3 + \alpha \cdot IQR] \\ 0 & \text{altrimenti} \end{cases} \quad (3.19)$$

Utilizzando i coefficienti $\widehat{w}_{j,k}$ il segnale può essere ricostruito eseguendo l'operazione di trasformazione Wavelet inversa:

$$\widehat{Y} = \mathcal{W}^T \widehat{W} \quad (3.20)$$

nella quale la matrice $\widehat{W} = [\widehat{W}_{j-1}, \dots, \widehat{W}_0, \widehat{V}_0]$ ora contiene i coefficienti Wavelet selezionati secondo il criterio precedente, per cui per il generico livello di decomposizione j -esimo, si ha $(\widehat{W}_j)_k = \widehat{w}_{j,k}$ [28].

Questa tecnica si è dimostrata molto valida nell'eliminare artefatti da movimento di tipo spike ed in generale per artefatti con ampiezza maggiore e durata minore rispetto alle variazioni emodinamiche di interesse contenute nei dati NIRS [28]. L'efficacia dell'approccio basato sul filtro Wavelet nell'eliminare solo la componente indesiderata del segnale dipende fortemente dal valore della soglia sulla probabilità, decisa arbitrariamente, e dal SNR del segnale. Tuttavia, il valore ideale della soglia dovrebbe essere funzione della frequenza degli artefatti da movimento. Siccome il calcolo della frequenza degli artefatti dipende però dalla soglia impostata (in quanto in base alla soglia si ricavano i coefficienti relativi alla parte indesiderata del segnale), non è possibile ricavare analiticamente questo parametro [47].

Per superare questo problema, Chiarelli e colleghi [47] hanno proposto una variante del filtro Wavelet, chiamata Kurtosis Wavelet, indipendente dal SNR dei segnali. Partendo sempre dall'assunzione di Gaussianità a media nulla per la distribuzione dei coefficienti Wavelet, i coefficienti appartenenti agli artefatti da movimento vengono identificati sulla base dell'indice di curtosi, indice già ampiamente utilizzato per la valutazione della Gaussianità o meno di una distribuzione. Iterativamente vengono posti a zero uno alla volta i coefficienti Wavelet più

estremi e ricalcolato l'indice di curtosi, fino a quando questo indice non assume un valore uguale oppure inferiore ad un certo valore di soglia (in genere si consiglia un valore di soglia pari a 3.3). Come per il filtro Wavelet originale, la Kurtosis Wavelet si basa sulla scelta di un solo parametro. In questo caso però è stato dimostrato che il valore di soglia è indipendente dal SNR dei singoli segnali [47]. Anche questa variante è presente nel pacchetto HOMER2, precisamente nella funzione *hmrMotionCorrectKurtosisWavelet*. Sebbene dai test effettuati nel lavoro di Chiarelli e colleghi emerga come questa variante possa essere maggiormente efficace nell'eliminare gli artefatti da movimento, nei test eseguiti sui nostri dati l'analisi Wavelet ordinaria si è dimostrata di maggior efficacia. Il costo computazionale più elevato dell'algoritmo Kurtosis Wavelet, la presenza residua di rumore ad alta frequenza ed un trend generale del tutto analogo a quanto ricavato con l'analisi Wavelet proposta da Molavi e colleghi, ha portato alla decisione di utilizzare, per i nostri dati, l'analisi Wavelet originaria presente nella funzione *hmrMotionCorrectWavelet* del pacchetto HOMER2. Il fattore moltiplicativo per l'IQR è stato impostato pari ad $\alpha = 0.1$.

In *Figura 3.10* sono illustrati alcuni esempi di risultati prodotti dal filtro Wavelet applicati ai dati risultanti dopo il passo di detrending. In questi esempi si nota come il filtro Wavelet sia riuscito ad eliminare perfettamente tutti gli artefatti di tipo spike che ancora erano presenti nei segnali, così come tutta la componente dovuta a variazioni ad alta frequenza.

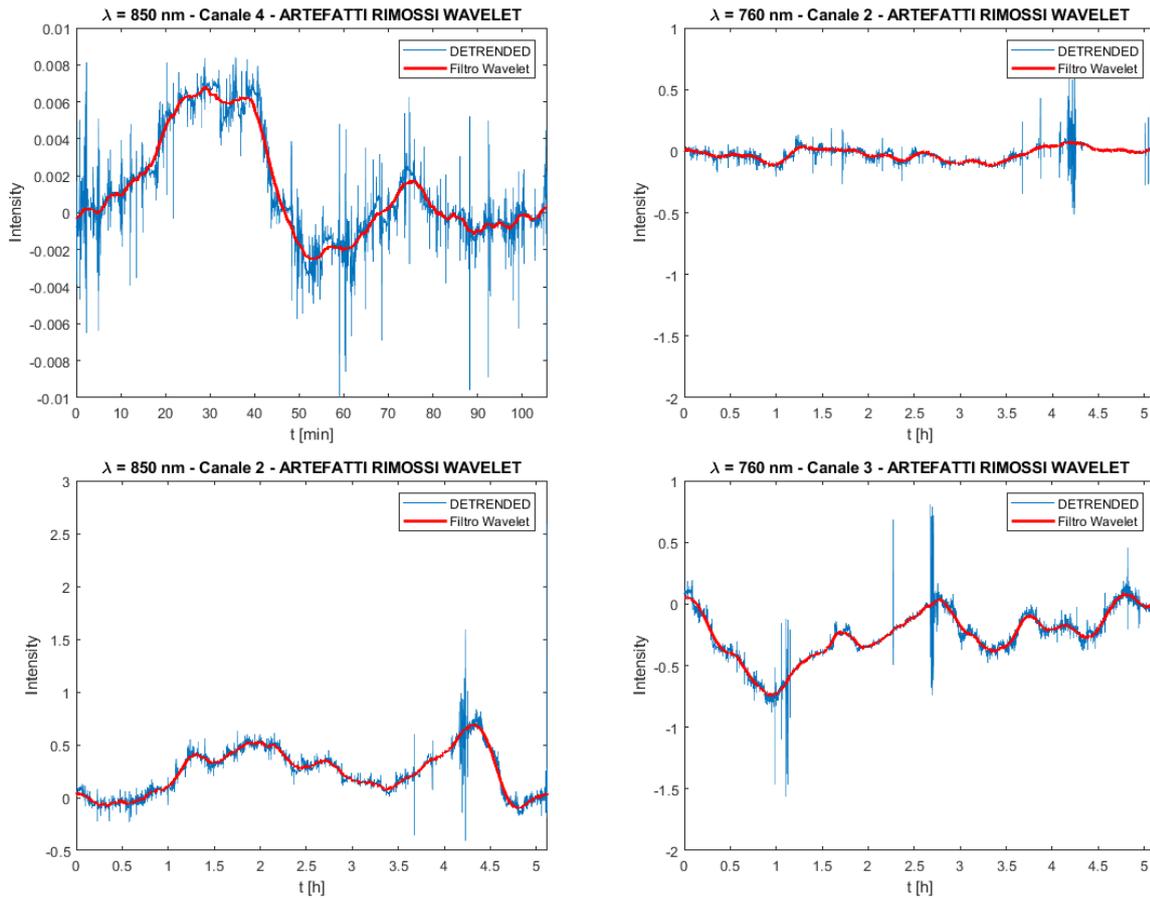


Figura 3.10: Esempi di segnali prima e dopo l'applicazione del filtro Wavelet. Si nota come gli artefatti residui costituiti da spike ed in generale le variazioni ad alta frequenza siano state eliminate.

3.7 Conversione dei dati di intensità luminosa in dati di concentrazione

Dopo i passi della processing pipeline relativi alla riduzione degli artefatti da movimento e dal rumore eseguiti sui dati grezzi dell'intensità luminosa, è possibile ricavare i dati sulla variazione di concentrazione di *ossiemoglobina* e *deossiemoglobina*.

Per questo scopo si fa uso diretto delle equazioni derivanti dalla legge di Lambert-Beer modificata citate nell'Appendice B. Prima di tutto è necessario convertire i dati di intensità luminosa in variazioni di densità ottica (*OD*).

Si definisce come differenza di densità ottica la quantità:

$$\Delta OD = \log\left(\frac{I_2}{I_1}\right) = \log\left(\frac{I_2}{I_0}\right) - \log\left(\frac{I_1}{I_0}\right) \quad (3.21)$$

Come valore di riferimento per I_1 è stato utilizzato il valore medio del segnale calcolato sui primi 30 s.

Combinando l'equazione (3.21) con quella presente in (B.2) si ricava che:

$$\Delta\mu_{a|\lambda} = \frac{\Delta OD}{L \cdot D_\lambda} \quad (3.22)$$

nella quale L e D_λ sono rispettivamente la lunghezza del canale ed il coefficiente DPF, il cui prodotto tiene conto della distanza media percorsa dalla luce nel tragitto da sorgente e rivelatore.

A partire dall'equazione (B.3), possiamo scrivere un sistema di due equazioni algebriche lineari in due incognite:

$$\begin{cases} \Delta\mu_{a|760} = \varepsilon_{HbO|760} \cdot \Delta C_{HbO} + \varepsilon_{HbR|760} \cdot \Delta C_{HbR} \\ \Delta\mu_{a|850} = \varepsilon_{HbO|850} \cdot \Delta C_{HbO} + \varepsilon_{HbR|850} \cdot \Delta C_{HbR} \end{cases} \quad (3.23)$$

Se combiniamo il sistema (3.23) con la relazione (3.22) si ricava:

$$\begin{cases} \Delta OD_{760} = L \cdot D_{760} \cdot (\varepsilon_{HbO|760} \cdot \Delta C_{HbO} + \varepsilon_{HbR|760} \cdot \Delta C_{HbR}) \\ \Delta OD_{850} = L \cdot D_{850} \cdot (\varepsilon_{HbO|850} \cdot \Delta C_{HbO} + \varepsilon_{HbR|850} \cdot \Delta C_{HbR}) \end{cases} \quad (3.24)$$

Rappresentando il problema in forma matriciale, la soluzione del sistema lineare è data da:

$$\begin{bmatrix} \Delta C_{HbO} \\ \Delta C_{HbR} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{HbO|760} & \varepsilon_{HbR|760} \\ \varepsilon_{HbO|850} & \varepsilon_{HbR|850} \end{bmatrix}^{-1} \begin{bmatrix} \frac{\Delta OD_{760}}{L \cdot D_{760}} \\ \frac{\Delta OD_{850}}{L \cdot D_{850}} \end{bmatrix} \quad (3.25)$$

In questo modo è possibile ricavare, sulla base delle assunzioni descritte nel Capitolo 3, le differenze di concentrazione delle molecole di ossiemoglobina e deossiemoglobina nel tempo. Per risolvere i calcoli in (3.25) sono necessari non solo i valori dei coefficienti di estinzione molare al variare della lunghezza d'onda, ma anche della lunghezza di ogni singolo canale e del valore del coefficiente DPF. Nel pacchetto di elaborazione HOMER2 è presente la funzione *hmrOD2Conc* che implementa la formula (3.24) nel caso generale in cui si abbiano N diverse

lunghezze d'onda. I coefficienti di estinzione molare sono ricavati da valori già tabulati presenti in letteratura. Gli unici parametri necessari alla funzione *hmrOD2Conc* sono proprio i valori dei DPF alle diverse lunghezze d'onda.

I sistemi di misura NIRS ad onda continua purtroppo non sono in grado di misurare i valori di DPF. La misurazione dei valori di DPF non è semplice, in quanto necessita di apposita strumentazione in grado di stimare il percorso ottico [48].

Sebbene esistano dei valori tabulati di DPF, per ottenere una stima più precisa si è fatto riferimento all'Equazione Generale per il DPF sviluppata da Scholkmann e Wolf [48]. Il modello sviluppato tiene conto non solo della dipendenza dei valori di DPF dalla lunghezza d'onda (λ), ma anche dall'età (A) dei soggetti, in quanto è stato osservato in uno studio condotto da Duncan e colleghi come il valore dei DPF aumentasse all'aumentare dell'età [48]. L'Equazione Generale del DPF ha la seguente forma:

$$DPF(\lambda, A) = \alpha + \beta A^\gamma + \delta \lambda^3 + \varepsilon \lambda^2 + \zeta \lambda \quad (3.26)$$

I parametri ottenuti da Scholkmann e Wolf valutando il modello sui dati utilizzati da Duncan e colleghi sono rispettivamente: $\alpha = 223.3$, $\beta = 0.05624$, $\gamma = 0.8493$, $\delta = -5.723 \cdot 10^{-7}$, $\varepsilon = 0.001245$ e $\zeta = -0.9025$.

È caldamente raccomandato di utilizzare questa equazione con soggetti di età compresa tra 0 e 70 anni e con lunghezze d'onda comprese tra 690 e 832 nm. Per lunghezze d'onda $< 690 \text{ nm}$ probabilmente questa equazione non è corretta, mentre dovrebbe essere sicuro utilizzarla fino ad un valore massimo di 950 nm , in quanto la dipendenza del DPF dalla lunghezza d'onda dovrebbe essere ancora in accordo con il modello [48].

Applicando l'equazione (3.26) con le lunghezze d'onda utilizzate dal sistema NIRS impiegato durante l'acquisizione ed utilizzando un valore di $A = 0$ (dato che si tratta di neonati pretermine), si ottengono rispettivamente $D_{760} = DPF(760, 0) = 5.2860$ e $D_{850} = DPF(850, 0) = 4.2238$.

Capitolo 4. Risultati

In questo capitolo saranno presentati i risultati del sistema di classificazione automatico, della processing pipeline applicata ai canali classificati validi e della valutazione preliminare delle correlazioni tra emodinamica cerebrale e glicemia.

4.1 Considerazioni iniziali sul dataset

Durante il processo di classificazione manuale, osservando inizialmente tutti i dati spettroscopici assieme in un unico grafico, evento per evento, ci si è resi conto di dover eliminare completamente l'evento numero 5, di cui è riportato l'andamento in *Figura 4.1*.

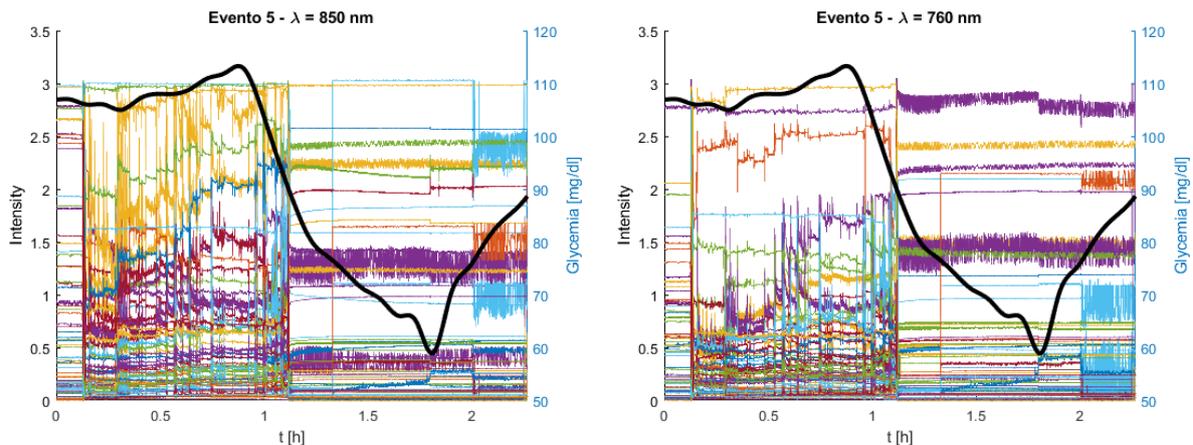


Figura 4.1: Segnali NIRS misurati da tutti i canali e segnale glicemico (in nero) relativi all'evento numero 5. A sinistra sono rappresentati i segnali misurati alla lunghezza d'onda 760 nm e a destra gli analoghi misurati alla lunghezza d'onda 850 nm.

Si evince facilmente come gli andamenti di tutti i segnali nella seconda metà della sezione temporale presentino lo stesso comportamento anomalo con fluttuazioni che non sono attribuibili ad artefatti da movimento, ma semplicemente a rumore fisiologico o legato alla strumentazione di misura che non ha nulla a che fare con il segnale emodinamico di nostro interesse, a differenza ad esempio dell'evento 1, riportato in *Figura 4.2*. Una possibile

soluzione potrebbe essere eliminare la porzione di dati anomala di questo evento, tagliando la seconda metà dei campioni di tutti i segnali, ma sfortunatamente si tratta proprio della finestra temporale che fa riferimento alla variazione emodinamica del picco ipoglicemico, ovvero dell'evento di interesse. Sulla base di queste considerazioni è stato deciso di eliminare dalle prossime analisi questo evento, riducendo perciò il numero di eventi totale da 12 ad 11.

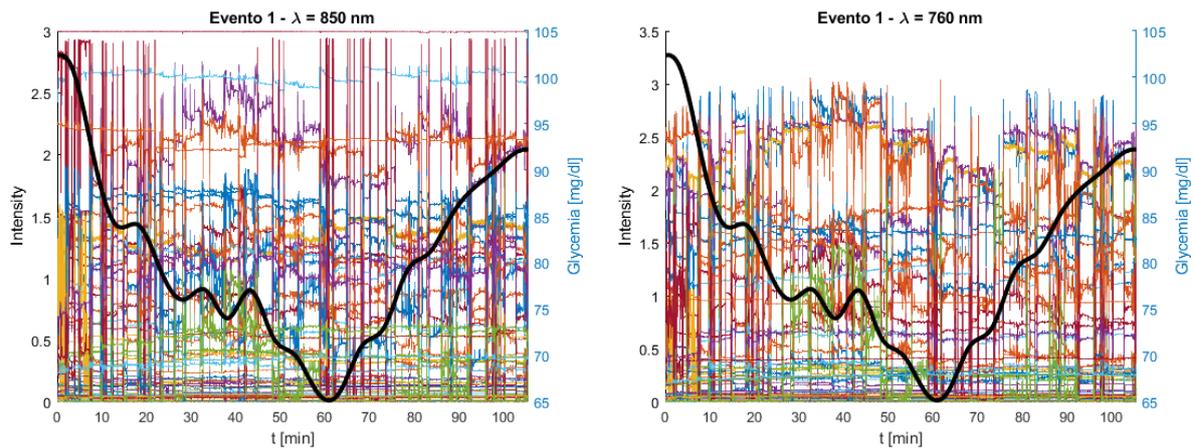


Figura 4.2: Segnali NIRS misurati da tutti i canali e segnale glicemico (in nero) relativi all'evento numero 1. A sinistra sono rappresentati i segnali misurati alla lunghezza d'onda 760 nm e a destra gli analoghi misurati alla lunghezza d'onda 850 nm.

L'insieme totale dei dati si riduce pertanto a 2310 segnali. Proseguendo l'ispezione visiva di tutti i dati (escludendo l'evento 5), si sono scartati in totale 282 segnali. È importante sottolineare che, per un ogni canale di misura NIRS, è necessario che entrambi i segnali alle due lunghezze d'onda di $\lambda = 760 \text{ nm}$ e $\lambda = 850 \text{ nm}$ siano considerati validi. Nel caso uno solo dei due fosse da scartare mentre l'altro fosse classificato valido, è necessario eliminare comunque l'intero canale, in quanto per stimare le variazioni di ossigenazione si necessita dell'informazione ad entrambe le lunghezze d'onda. Con questa considerazione, il numero totale di segnali scartati è di 354, pari a 177 canali in 11 eventi.

4.2 Performance del sistema di classificazione automatico

I parametri e la valutazione della prestazione del sistema di classificazione descritto nel Capitolo 3 sono stati ricavati utilizzando come training set tutti i dati a nostra disposizione. Nello specifico, questo insieme è composto da 2310 segnali, di cui 2029 classificati come validi e 281 classificati come da scartare. Date le precedenti considerazioni, i segnali dell'evento numero 5 non sono stati inclusi nel training set. Sia il processo di selezione delle features che la valutazione della prestazione del classificatore per ognuno dei tre tipi di Kernel testati fanno uso del metodo K-folds cross validation con un numero di folds pari a $k = 11$.

4.2.1 Risultati del processo di selezione delle features

Per ogni tipologia di Kernel preso in esame è stato eseguito un processo di selezione di features distinto, in quanto non è possibile assumere a priori che un certo insieme di features ottimo per un particolare tipo di Kernel lo sia anche per un altro.

Sulla base dell'insieme di 15 features possibili estratte da ciascun segnale presentate nel Paragrafo 3.2.2, i risultati del processo di selezione delle features sono i seguenti:

- **KERNEL LINEARE**

Sono state scelte in totale 7 features:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

- 1) $median[s_{shift}(t)]$
- 2) $(median[s_{shift}(t)])^2$
- 3) $STD[s_{log}(t)]$
- 4) $range[\dot{s}_{log}(t)]$
- 5) $range[\ddot{s}_{log}(t)]$
- 6) $Power[s(t)]$
- 11) $Power[\ddot{s}_{log}(t)]$

- KERNEL POLINOMIALE DI ORDINE 2

Sono state scelte in totale 5 features:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

- 1) $median[s_{shift}(t)]$
- 3) $STD[s_{log}(t)]$
- 10) $Power[\dot{s}_{log}(t)]$
- 11) $Power[\ddot{s}_{log}(t)]$
- 14) $Skewness[s_{log}(t)]$

- KERNEL POLINOMIALE DI ORDINE 3

Sono state scelte in totale 4 features:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	----	----	----	----	----

- 1) $median[s_{shift}(t)]$
- 3) $STD[s_{log}(t)]$
- 10) $Power[\dot{s}_{log}(t)]$
- 11) $Power[\ddot{s}_{log}(t)]$

4.2.2 Risultati della classificazione automatica

Di seguito sono riportati i risultati della classificazione, per ciascun tipo di Kernel, in cui i dati positivi rappresentano i segnali validi, i negativi i segnali da scartare.

Per completezza, sono stati riportati per ogni classificatore anche i parametri di specificità (si veda la formula (3.6) nel Capitolo 3), sensibilità e accuratezza. Indicando con TP il numero totale di veri positivi, TN il numero totale di veri negativi, FP il numero totale di falsi positivi e FN il numero totale di falsi negativi, si hanno perciò le seguenti definizioni:

$$Sensibilità = \frac{TP}{TP + FN} \quad Accuratezza = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN} \quad (4.1)$$

In *Tabella 4.1, 4.2 e 4.3* sono riportati i valori delle prestazioni dei classificatori testati. Come si può osservare in *Tabella 4.3*, l'errore totale commesso dal classificatore (calcolato come $FP + FN$) con Kernel polinomiale di ordine 3, pari a 3.03 %, è inferiore a tutti gli altri. Tuttavia, dal confronto con i risultati del classificatore con Kernel polinomiale di ordine 2 in *Tabella 4.2*, si evince come sia la stima dell'errore vero, sia il numero totale di falsi positivi siano molto simili, come dimostrato anche dai valori dei parametri di specificità. Per questo motivo, la scelta del classificatore ottimo perciò ricade sulla SVM con Kernel polinomiale di ordine 2, meno complesso rispetto al Kernel polinomiale di ordine 3. Inoltre, la scelta di un modello meno complesso aiuta a ridurre il rischio di overfitting nel caso questo classificatore venisse applicato ad una nuova serie di dati.

SVM KERNEL LINEARE – STIMA ERRORE VERO: 3.6364%

	Veri positivi	Veri negativi	Totale
CLASSIFICATI POSITIVI	87.1429 %	3.0736 %	90.2165 %
CLASSIFICATI NEGATIVI	0.64935 %	9.1342 %	9.7835%
TOTALE	87.7922 %	12.2078 %	100 %
SENSIBILITÀ		99.2604 %	
SPECIFICITÀ		74.8227 %	
ACCURATEZZA		96.2771 %	

Tabella 4.1: Risultati della classificazione ottenuti con SVM a Kernel lineare.

SVM KERNEL POLINOMIALE ORDINE 2 – STIMA ERRORE VERO: 3.5065 %

	Veri Positivi	Veri Negativi	Totale
CLASSIFICATI POSITIVI	87.1429 %	2.6407 %	89.7836 %
CLASSIFICATI NEGATIVI	0.64935 %	9.5671 %	10.2164 %
TOTALE	87.7922 %	12.2078 %	100 %
SENSIBILITÀ		99.2604 %	
SPECIFICITÀ		78.3688 %	
ACCURATEZZA		96.71 %	

Tabella 4.2: Risultati della classificazione ottenuti con SVM a Kernel polinomiale di ordine 2

SVM KERNEL POLINOMIALE ORDINE 3 – STIMA ERRORE VERO: 3.3333%

	Veri Positivi	Veri Negativi	Totale
CLASSIFICATI POSITIVI	87.2294 %	2.4675 %	89.6969 %
CLASSIFICATI NEGATIVI	0.56277 %	9.7403 %	10.3031 %
TOTALE	87.7922 %	12.2078 %	100 %
SENSIBILITÀ		99.3590 %	
SPECIFICITÀ		80.4965 %	
ACCURATEZZA		97.0563 %	

Tabella 4.3: Risultati della classificazione ottenuti con SVM a Kernel polinomiale di ordine 3

In *Tabella 4.4* sono riassunti i risultati della classificazione ottenuta attraverso il paradigma GSVM-RU nel caso di Kernel polinomiale di ordine 2.

Se si confrontano i risultati ottenuti in *Tabella 4.2* e *4.4*, si evince come non si sia ottenuto un miglioramento del classificatore, in quanto le prestazioni sono le stesse, sebbene il training set utilizzato per la stima dei parametri della SVM ora abbia una dimensione decisamente ridotta rispetto al training set di partenza, che comprende tutti i 2310 segnali provenienti dagli 11 eventi selezionati. Questo significa che è stato raggiunto il limite massimo di prestazioni ottenibile rispetto al parametro di specificità per il classificatore basato su SVM con Kernel polinomiale di ordine 2.

SVM KERNEL POLINOMIALE ORDINE 2 - GSVM-RU

DIMENSIONE TRAINING SET: 445			
	Veri Positivi	Veri Negativi	Totale
CLASSIFICATI POSITIVI	87.1429 %	2.6407 %	89.7836 %
CLASSIFICATI NEGATIVI	0.64935 %	9.5671 %	10.2164 %
TOTALE	87.7922 %	12.2078 %	100 %
SENSIBILITÀ		99.2604 %	
SPECIFICITÀ		78.3688 %	
ACCURATEZZA		96.71 %	

Tabella 4.4: Risultati della classificazione ottenuta attraverso il paradigma GSVM-RU su SVM con Kernel polinomiale di ordine 2

4.3 Valutazione della risposta emodinamica

Sulla base dei risultati ottenuti dall'applicazione del flusso di elaborazione descritto nel Capitolo 3, è possibile fare alcune considerazioni per quanto concerne le risposte emodinamiche che è stato possibile ricavare.

Per prima cosa è stato necessario analizzare singolarmente tutte le risposte emodinamiche, con lo scopo di verificare se vi fossero o meno canali in cui il processo di elaborazione aveva introdotto distorsioni o comunque andamenti non fisiologici, a causa di artefatti da movimento rilevanti non adeguatamente corretti (*Figura 4.3*). Nel malaugurato caso in cui alcuni artefatti da movimento, soprattutto di spostamento della baseline, non fossero stati adeguatamente corretti o le distorsioni siano marcate, i loro effetti potrebbero propagarsi fino alle stime finali delle concentrazioni di ossiemoglobina e deossiemoglobina, incidendo negativamente sulla qualità delle risposte emodinamiche (*Figura 4.4*). Proprio per questo motivo è stato necessario eliminare ulteriormente altri 29 canali insieme ai 177 già eliminati nella fase preliminare all'analisi.

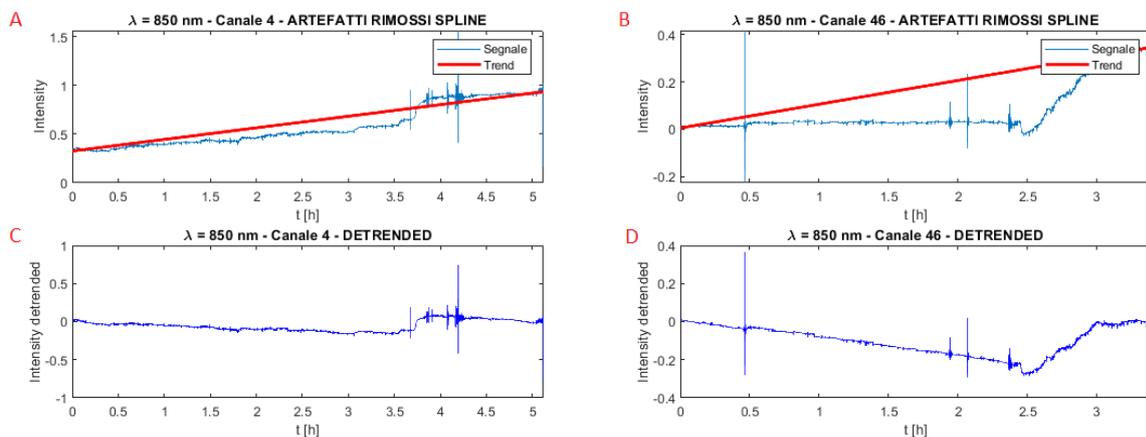


Figura 4.3: Esempi di segnali NIRS in cui la processing pipeline sviluppata in questa tesi ha introdotto distorsioni oppure non ha ridotto sufficientemente gli artefatti da movimento. A e B: segnali ottenuti dopo la correzione con interpolazione spline; C e D: segnali A e B dopo il successivo passaggio di detrending.

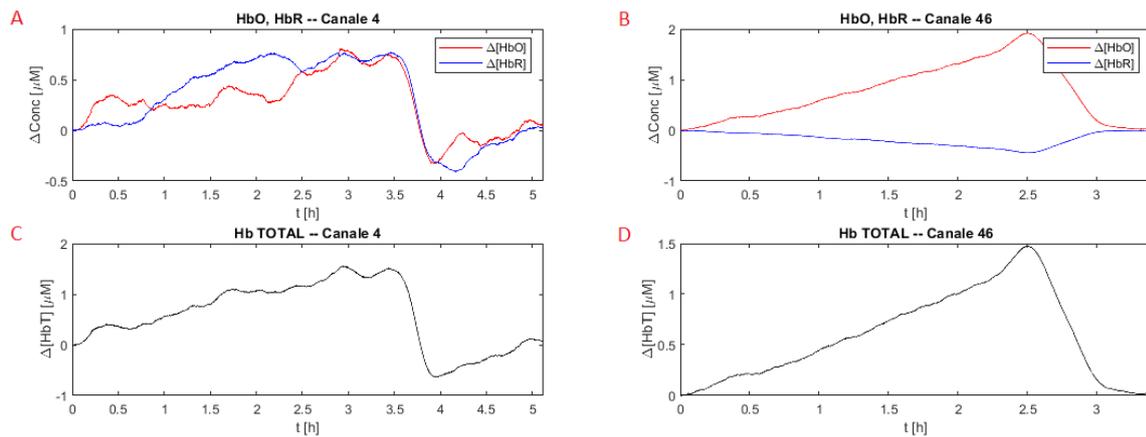


Figura 4.4: Esempi di risposte emodinamiche non fisiologiche a causa delle distorsioni introdotte dalla processing pipeline sviluppata in questa tesi. A e B: stima finale delle concentrazioni di ossiemoglobina (linea rossa) e deossiemoglobina (linea blu) relative ai canali dell'esempio di *Figura 4.3*. C e D: somma totale (HbT) di emoglobina ossigenata e deossigenata per gli stessi canali. Si nota come le artefatti non adeguatamente corretti e distorsioni si possano propagare fino alla stima finale delle concentrazioni delle due specie di emoglobina.

Dall'ispezione visiva segnale per segnale, si è notata la presenza di alcune caratteristiche morfologiche ricorrenti. Per valutare la presenza di variazioni emodinamiche simili localizzate in particolare aree della corteccia e quindi localizzare spazialmente i pattern di emodinamica cerebrale in risposta ad eventi di ipo e/o iperglicemia, le risposte emodinamiche sono state divise in 4 gruppi, in base a tipo di pattern presentato. La classificazione si è basata sulla presenza di uno o più picchi positivi e negativi e sul carattere oscillatorio o meno dei segnali. Si tratta di una classificazione preliminare, che necessiterà di essere validata e verificata con l'utilizzo di ulteriori dati provenienti da soggetti diversi.

Le quattro classi di segnali riconosciute sono le seguenti:

- 1) Segnali con trend complessivamente positivo oppure complessivamente negativo (con la possibilità di avere alcune fluttuazioni) e la presenza di un solo picco massimo oppure minimo nella concentrazione totale di emoglobina. In *Figura 4.5* sono riportati alcuni esempi di questi pattern. In totale il 45,42% dei segnali ricavati si può collocare all'interno di questa categoria.

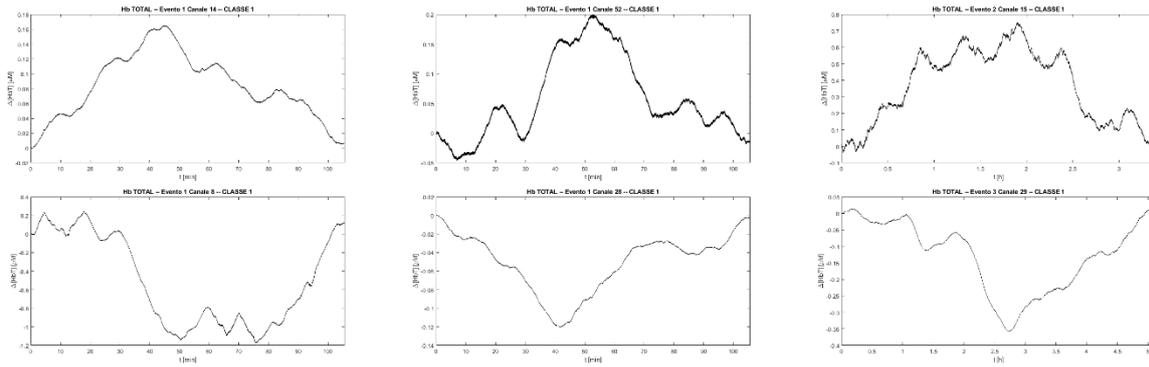


Figura 4.5: Esempi di risposte emodinamiche con un pattern della classe 1, relative alla concentrazione di emoglobina totale (HbT). Sulla prima riga sono rappresentati esempi di risposte emodinamiche con picco positivo. Sulla seconda riga sono rappresentati esempi di risposte emodinamiche con picco negativo.

2) Segnali con trend complessivamente positivo o complessivamente negativo (con la possibilità di avere alcune fluttuazioni) con un picco massimo della concentrazione totale di emoglobina preceduto o seguito tuttavia da un secondo picco massimo di ampiezza inferiore oppure con un picco minimo della concentrazione totale di emoglobina preceduto o seguito tuttavia da un secondo picco minimo di ampiezza inferiore. In *Figura 4.6* sono riportati alcuni esempi di questi pattern. In totale il 15,49 % dei segnali ricavati si può collocare all'interno di questa categoria.

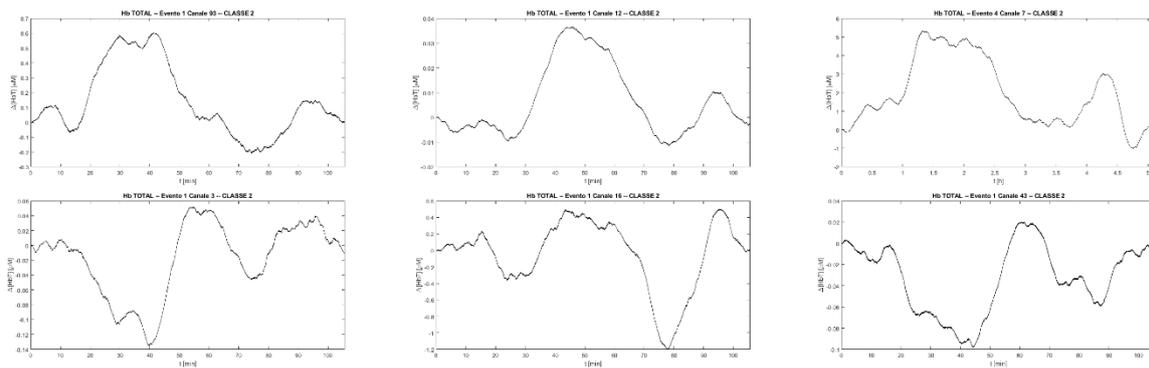


Figura 4.6: Esempi di risposte emodinamiche con un pattern della classe 2, relative alla concentrazione di emoglobina totale (HbT). Sulla prima riga sono rappresentati esempi di risposte emodinamiche con picco positivo. Sulla seconda riga sono rappresentati esempi di risposte emodinamiche con picco negativo.

- 3) Segnali con trend sia crescente che decrescente (o viceversa), con un picco positivo di ampiezza elevata seguito da un picco negativo anch'esso di ampiezza elevata (o viceversa) con la possibilità di registrare anche delle fluttuazioni minori. In *Figura 4.7* sono riportati alcuni esempi di questi pattern. In totale il 16,45 % dei segnali ricavati si può collocare all'interno di questa categoria.

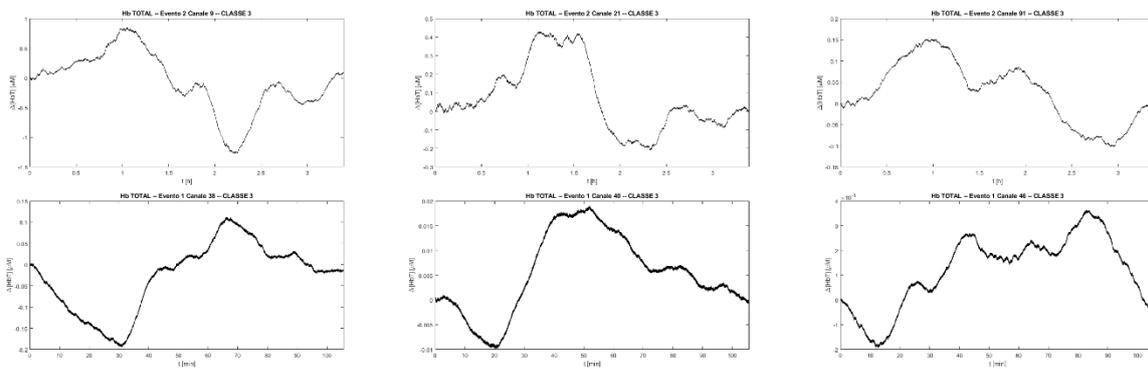


Figura 4.7: Esempi di risposte emodinamiche con un pattern della classe 3, relative alla concentrazione di emoglobina totale (HbT). Sulla prima riga sono rappresentati esempi di risposte emodinamiche con picco positivo seguito da picco negativo. Nella seconda riga sono rappresentati esempi di risposte emodinamiche con picco negativo seguito da picco positivo.

- 4) Segnali con un andamento prettamente oscillatorio, in cui non si registra un trend generale positivo oppure negativo che porti il segnale a raggiungere un unico valore di picco massimo oppure un unico valore di picco minimo. In *Figura 4.8* sono riportati alcuni esempi di questi pattern. In totale il 20,02 % dei segnali ricavati si può collocare all'interno di questa categoria.

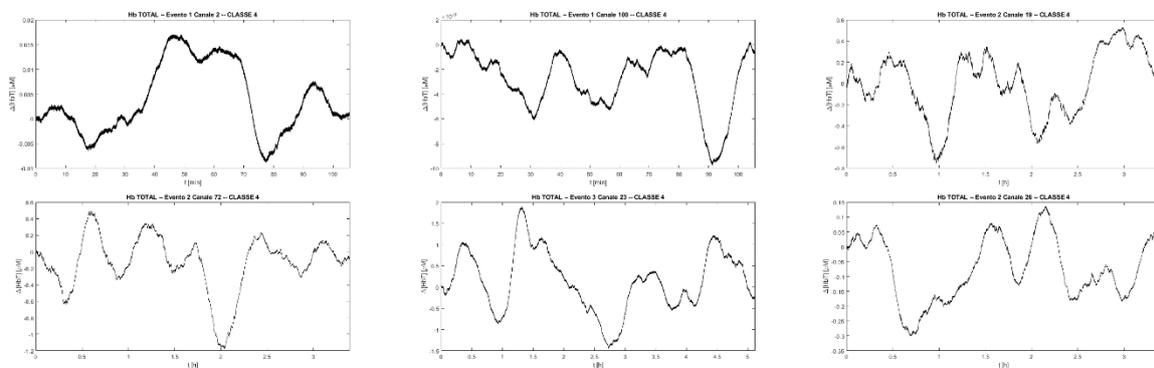


Figura 4.8: Esempi di risposte emodinamiche con un pattern della classe 4, relative alla concentrazione di emoglobina totale (HbT).

Il restante 2,42 % dei dati invece non è stato possibile classificarlo come appartenente a nessuna delle classi sopra citate.

Se si prendono in considerazione, per ogni evento, le risposte emodinamiche appartenenti a ciascuna delle quattro diverse classi, è possibile ottenere una stima della risposta emodinamica media per ogni classe e per ogni evento, almeno dal punto di vista morfologico. Le risposte emodinamiche hanno, all'interno di ogni evento, valori di concentrazione differenti. Al solo obiettivo di ricavare una stima media morfologica delle quattro diverse classi di pattern riscontrate, le singole risposte emodinamiche sono state normalizzate rispetto al valore del picco massimo assoluto di ogni singolo segnale.

Nei grafici di *Figura 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13, 4.14, 4.15* sono riportate le stime delle medie (in rosso) e delle deviazioni standard (in giallo) per ogni evento e per ognuna delle 4 classi. Nel caso dei pattern 1 e 2, le medie sono state calcolate separatamente per i picchi positivi e negativi, mentre nel caso del pattern 3 le medie sono state calcolate separatamente nel caso in cui il primo picco sia positivo oppure nel caso in cui il primo picco sia negativo. Si può notare come, sebbene siano stati individuati dei pattern con caratteristiche comuni attraverso tutti gli eventi esaminati, i pattern stessi presentino differenze morfologiche anche rilevanti tra i vari eventi. È necessario tenere conto però che sia la durata che la variazione glicemica sono essi stessi diversi evento per evento, quindi è plausibile che anche la risposta emodinamica alla variazione differisca sulla base delle specifiche caratteristiche della variazione glicemica.

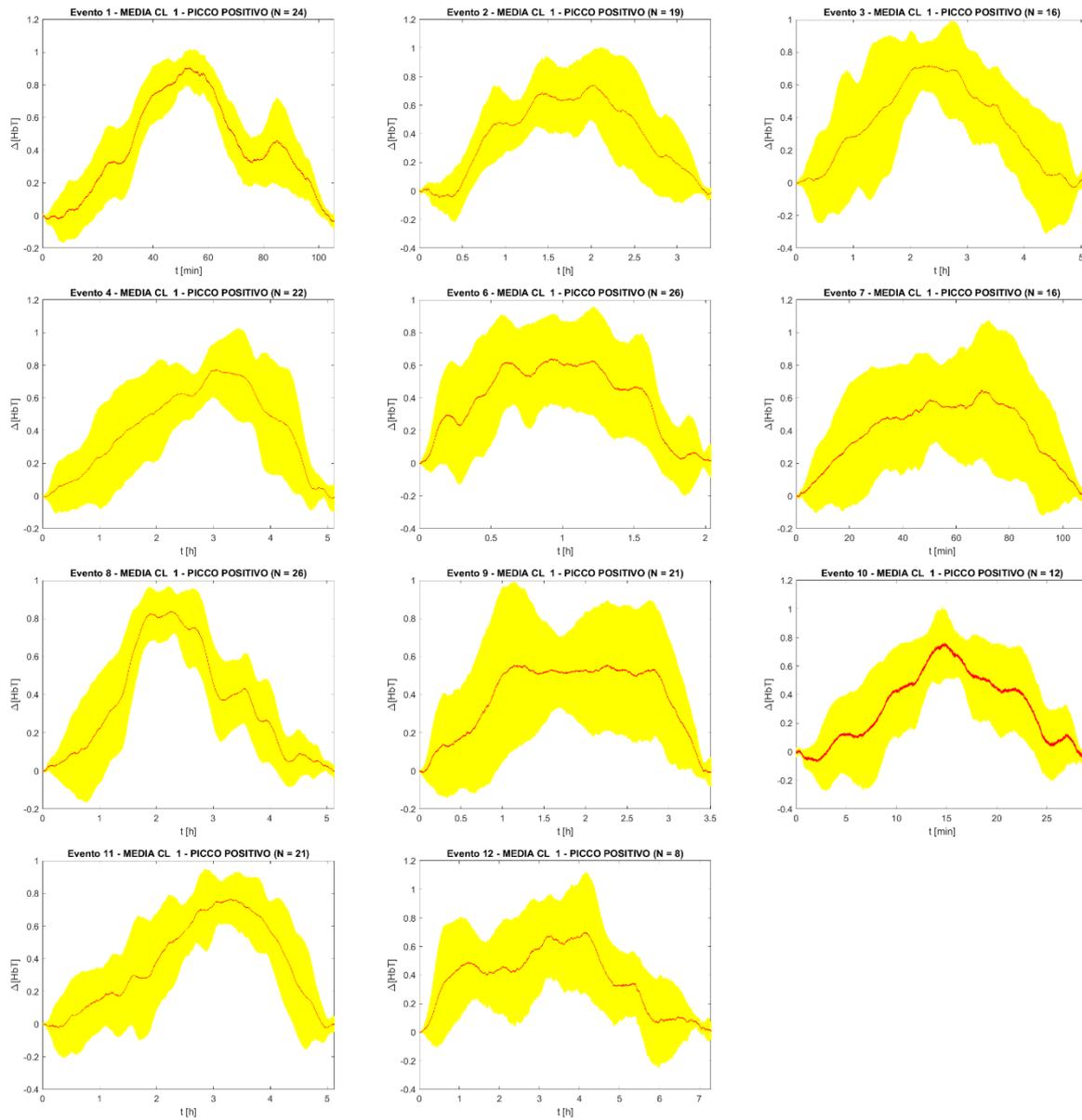


Figura 4.9: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 1, nel caso di picco positivo, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate.

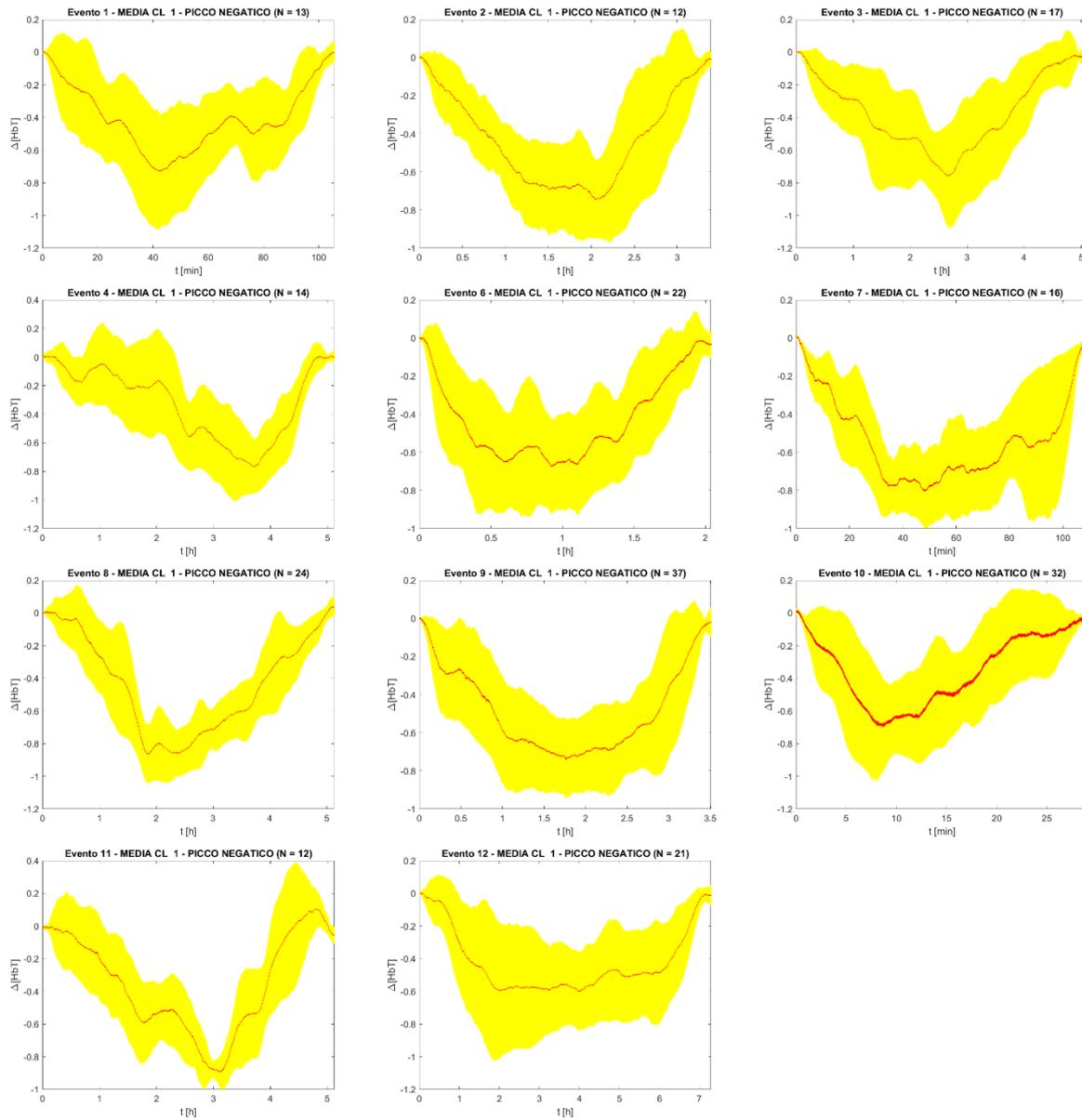


Figura 4.10: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 1, nel caso di picco negativo, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate.

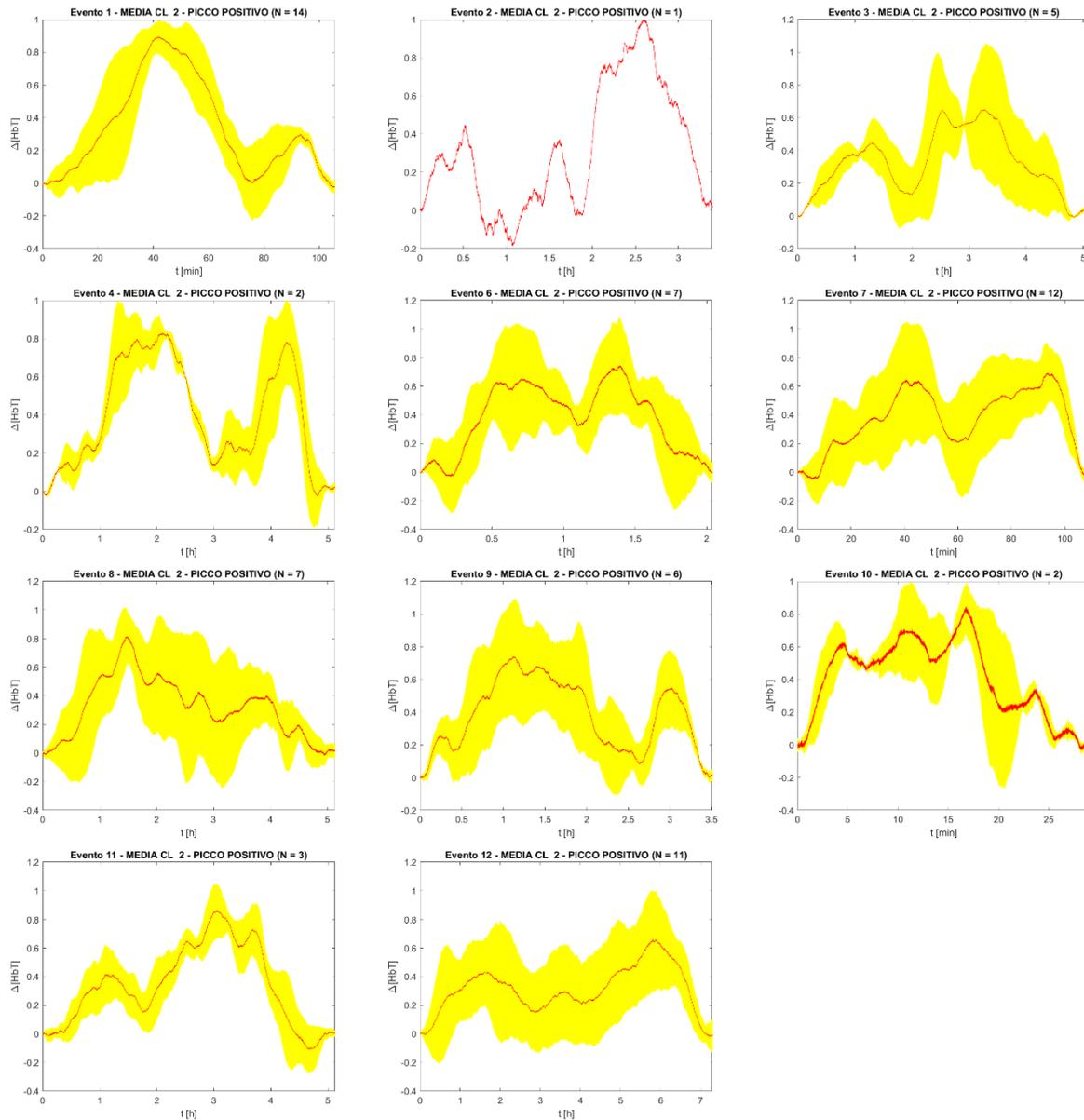


Figura 4.11: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 2, nel caso di picco positivo, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate. Nel caso dell'evento 2 non è stata riportata la stima della deviazione standard, in quanto si ha solo un segnale a disposizione.

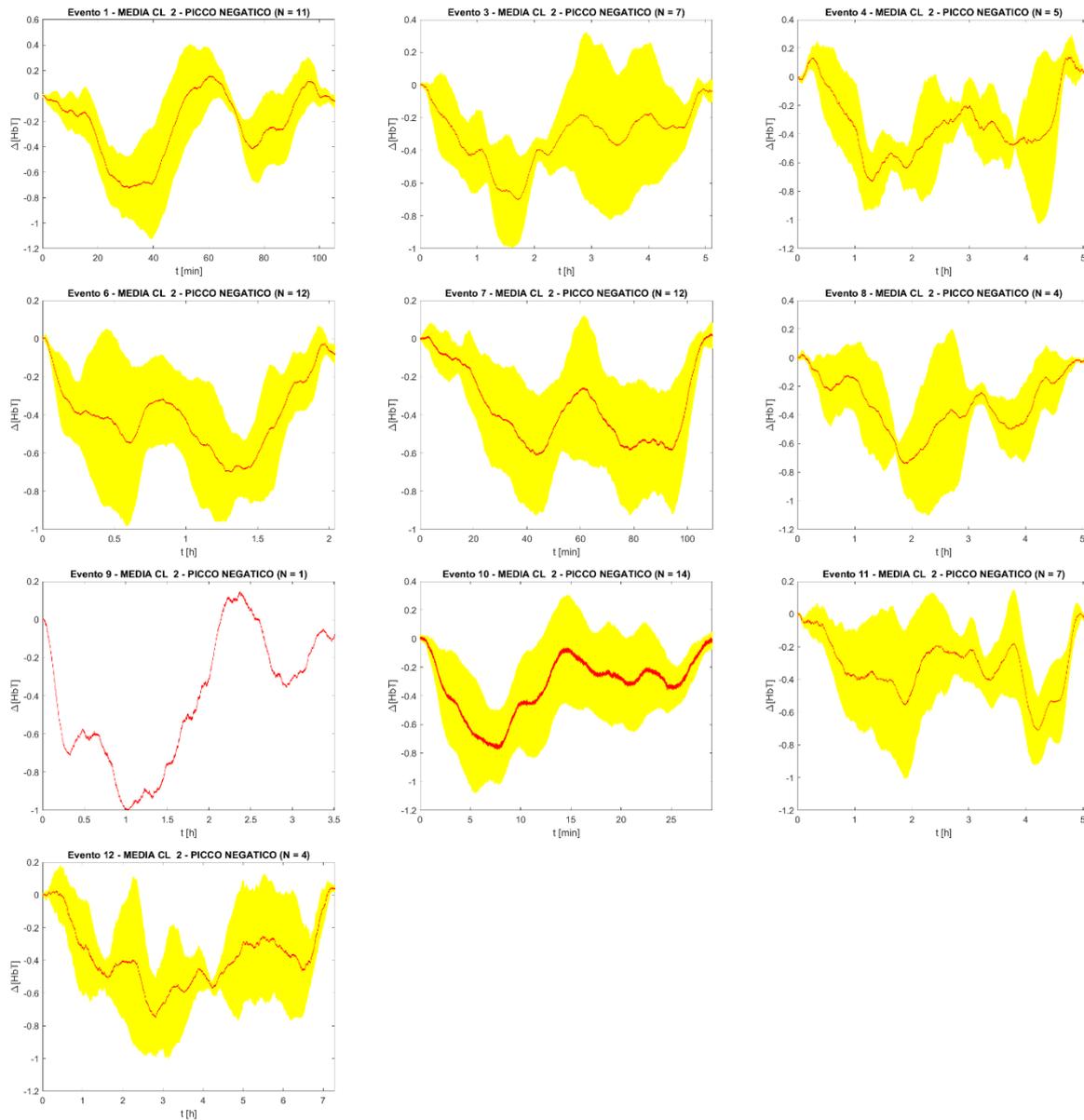


Figura 4.12: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 2, nel caso di picco negativo, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate. Nel caso dell'evento 9 non è stata riportata la stima della deviazione standard, in quanto si ha solo un segnale a disposizione.

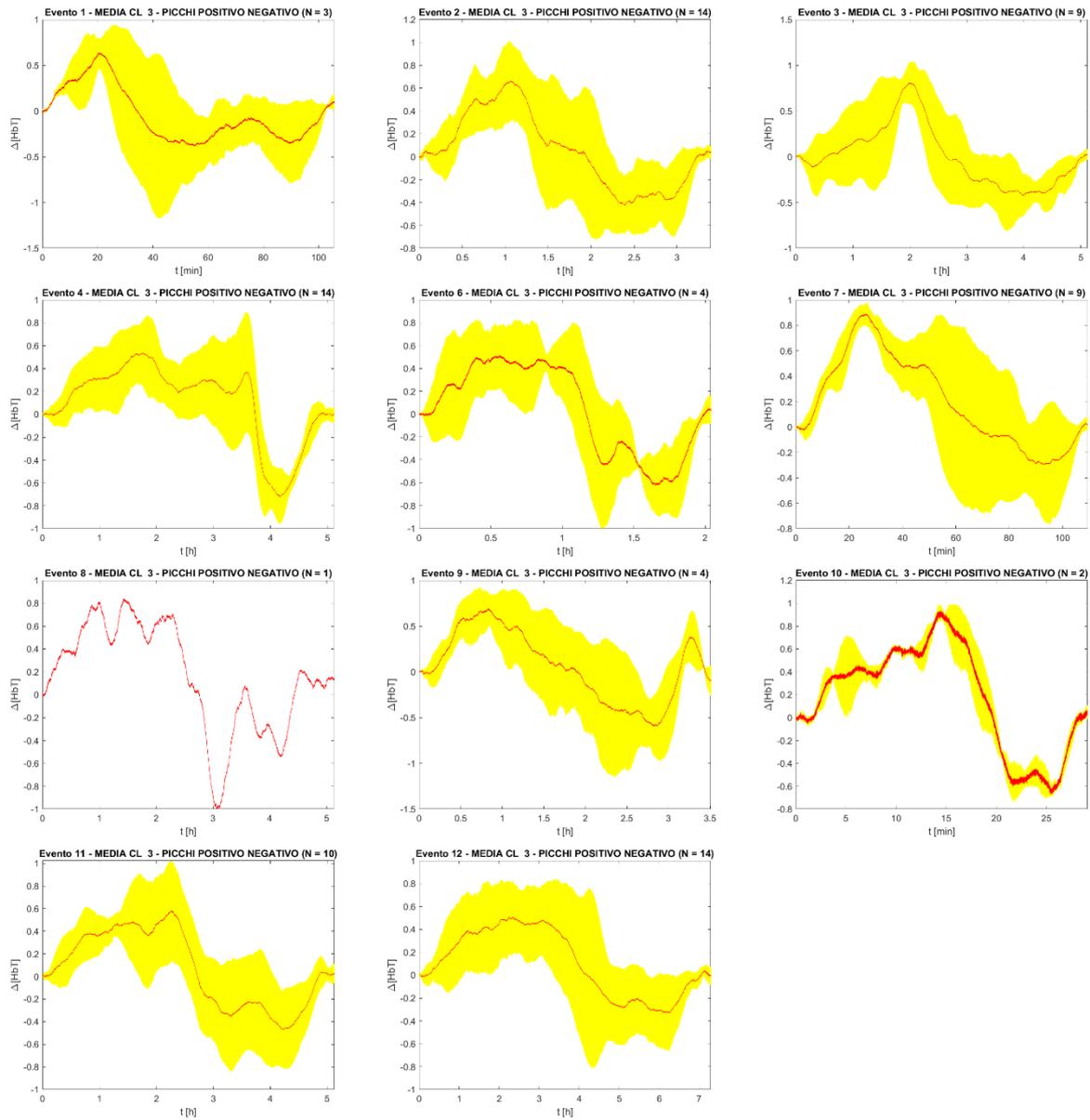


Figura 4.13: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 3, nel caso di picco positivo seguito da picco negativo, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate. Nel caso dell'evento 8 non è stata riportata la stima della deviazione standard, in quanto si ha solo un segnale a disposizione.

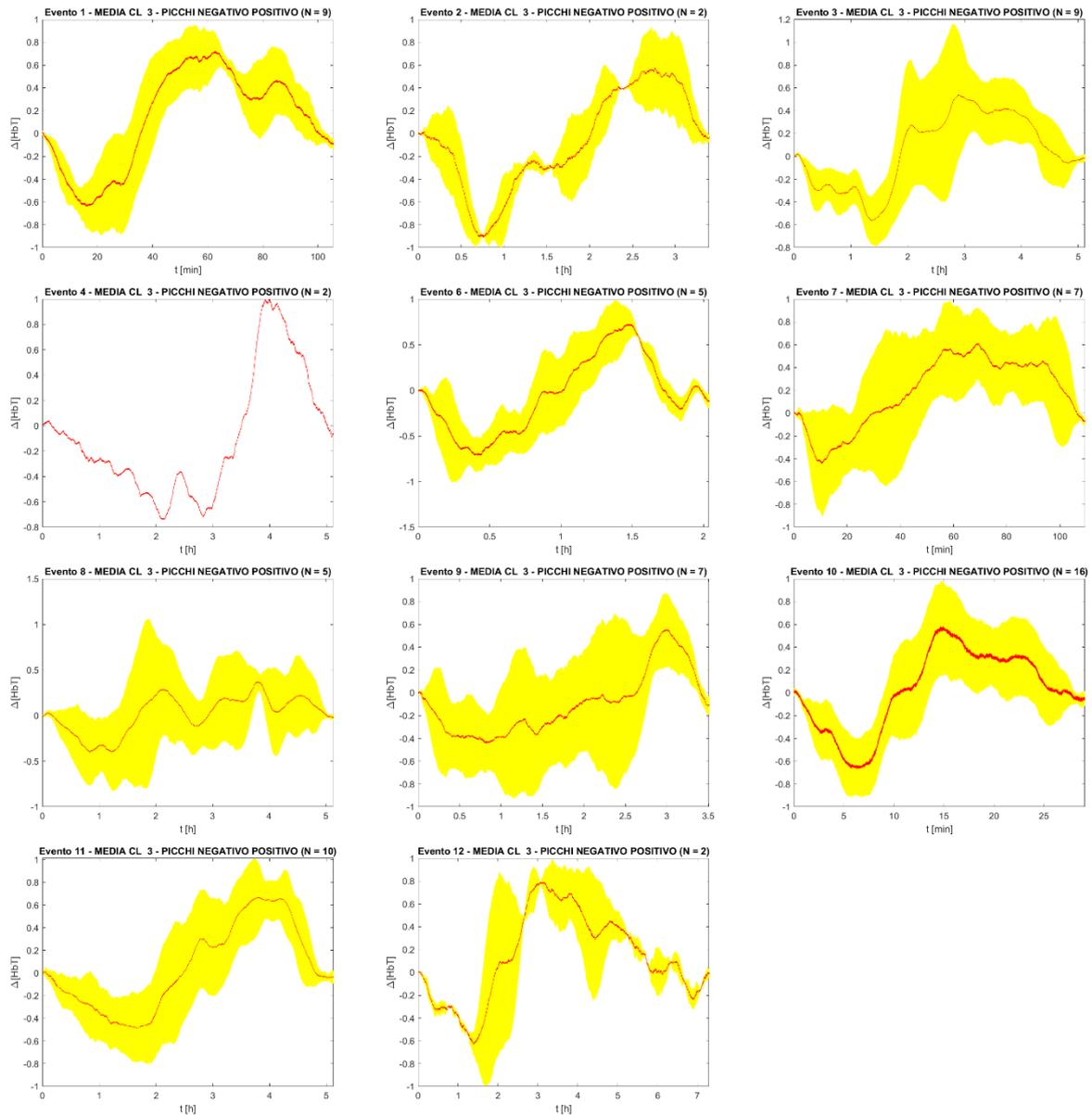


Figura 4.14: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 3, nel caso di picco negativo seguito da picco positivo, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate. Nel caso dell'evento 4 non è stata riportata la stima della deviazione standard, in quanto si ha solo un segnale a disposizione.

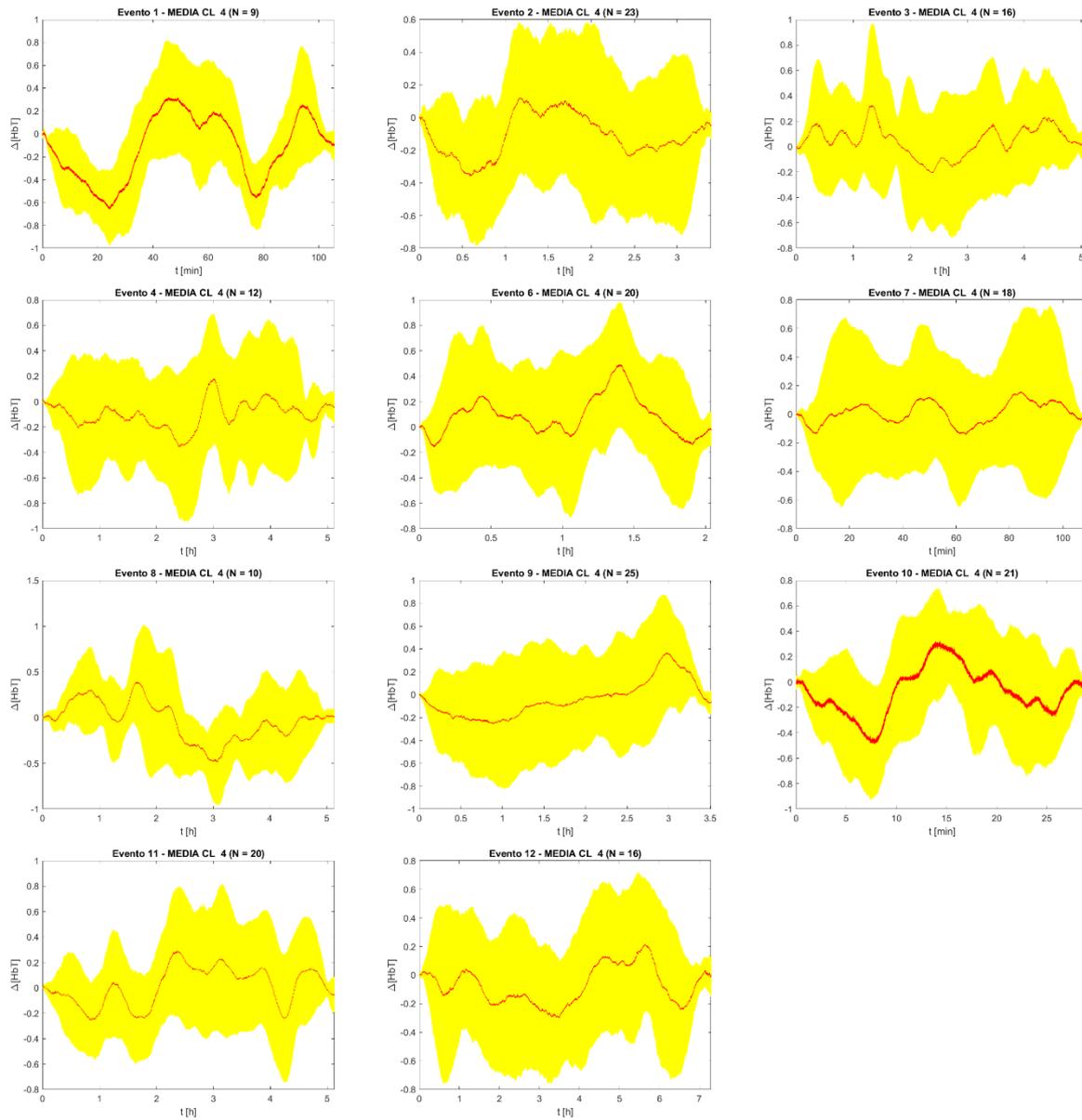


Figura 4.15: Medie (in rosso) e deviazioni standard (in giallo) della risposta emodinamica dell'emoglobina totale (HbT) della classe 4, calcolate evento per evento. Viene riportato anche, evento per evento, il numero totale di risposte emodinamiche mediate.

4.4 Analisi preliminare di correlazione tra risposta emodinamica e glicemia

Con in mano i risultati ottenuti sulla risposta emodinamica è possibile valutare in maniera preliminare la presenza o meno di correlazioni con il segnale glicemico. Per questo scopo, prima di tutto, è necessario individuare per ogni segnale di glicemia l'istante di inizio dell'evento glicemico, sincronizzare con esso i dati di concentrazione ed eliminare da questi ultimi la baseline, nel seguente modo:

- 1) per ognuno degli 11 eventi considerati, si identifica un istante di inizio dell'evento ipoglicemico oppure iperglicemico, cioè un possibile istante temporale oltre il quale si abbia un aumento o diminuzione costanti dei livelli di glucosio, che porterà il segnale glicemico verso il picco massimo (in caso di iperglicemia) o minimo (in caso di ipoglicemia). I dati antecedenti a questo istante vengono eliminati.
- 2) sulla base degli istanti di inizio degli eventi ipo/iperglicemici, si calcola un valore di baseline pari alla media dei valori di concentrazione di emoglobina totale in una finestra subito antecedente l'inizio dell'evento. Il valore della baseline viene quindi sottratto al dato di concentrazione.
- 3) il dato di concentrazione di emoglobina totale viene sincronizzato con il dato glicemico, eliminando quindi anche i campioni del segnale emodinamico antecedenti agli istanti di inizio degli eventi.

Purtroppo, non è stato possibile utilizzare la stessa finestra temporale di baseline per ciascuno degli eventi. Non è stato possibile ritagliare i segmenti temporali di ogni evento identificato includendo la stessa finestra temporale di baseline antecedente all'inizio dell'episodio di ipoglicemia ed iperglicemia, perché in alcuni eventi la bontà del segnale di spettroscopia in questa finestra temporale non era sufficiente. Gli episodi di ipo/iperglicemia avvengono spesso associati a degli interventi clinici, il che rende la presenza di artefatti da movimento, soprattutto antecedenti l'episodio, molto frequente. Per questo motivo quindi si è fatto ricorso ad una finestra temporale variabile per la stima della baseline, della durata di minimo 2 minuti ad un massimo di 20 minuti a seconda del singolo evento.

Per valutare preliminarmente la presenza o meno di correlazioni tra i dati di concentrazione e quelli di glicemia, sono state calcolate le seguenti metriche su entrambi i tipi di segnale. Per semplicità di notazione, indicando con $s(t)$ un generico segnale, definiamo:

- Il valore di picco del segnale: $PEAK_{s(t)}$, raggiunto all'istante t_{peak}
- Latenza, intesa come intervallo temporale che intercorre tra l'inizio di un evento (t_0) ed il raggiungimento del valore di picco: $LAT_{s(t)} = t_{peak} - t_0$
- Velocità, intesa come il rapporto tra la massima escursione in ampiezza del segnale ed il valore della latenza: $SPEED_{s(t)} = \frac{|PEAK_{s(t)} - s(t_0)|}{LAT_{s(t)}}$.
- Lunghezza, intesa come durata complessiva di un evento: $L_{s(t)} = t_{end} - t_0$, dove t_{end} rappresenta l'ultimo istante dell'evento ipoglicemico oppure iperglicemico registrato, oltre il quale dovrebbe essersi ripristinata l'euglicemia.

Queste quattro metriche, calcolate sia sui segnali emodinamici che glicemici, sono state combinate a coppie in modo tale da calcolarne la correlazione.

Per calcolare la correlazione tra le varie combinazioni di metriche si è fatto uso di un modello di regressione lineare i cui parametri sono stati stimati sfruttando la funzione *robustfit* di Matlab. Attraverso questa funzione è possibile eseguire una stima ai minimi quadrati robusta, in modo tale da tenere conto della presenza di eventuali outlier che potrebbero introdurre bias significativi nella stima. Tra i parametri restituiti dalla funzione troviamo anche i pesi w_i che la funzione ha stimato per ogni dato in modo tale da calcolare la stima ai minimi quadrati pesati robusta del modello di regressione.

In generale, dato un insieme di dati (x_i, y_i) in cui ad ogni punto è stato associato il peso w_i , si definiscono i valori delle medie come $\bar{x} = \frac{\sum w_i x_i}{\sum w_i}$ e $\bar{y} = \frac{\sum w_i y_i}{\sum w_i}$ e le quantità $S_{XX} = \sum w_i (x_i - \bar{x})^2$, $S_{YY} = \sum w_i (y_i - \bar{y})^2$ e $S_{XY} = \sum w_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$. Sulla base di queste definizioni il coefficiente di correlazione può essere calcolato come [49]:

$$r = \frac{S_{XY}}{\sqrt{S_{XX}S_{YY}}} \quad (4.2)$$

Per ogni canale NIRS classificato come valido, si può calcolare il coefficiente di correlazione con il segnale glicemico, utilizzando una o più delle metriche calcolate in precedenza. Per ogni canale si conoscono inoltre le precise posizioni spaziali sulla testa della sorgente e del rilevatore ad esso associato. Queste informazioni permettono di costruire delle mappe di correlazione

spaziale da cui si possono estrarre anche informazioni sulle aree cerebrali in cui la correlazione tra le metriche scelte è maggiore o minore.

In questa prima fase di analisi, si considerano solo gli eventi ipoglicemici, dato il ridotto numero di eventi iperglicemici che potrebbero forzare la correlazione. Sebbene siano state considerate anche altre combinazioni dei parametri, per brevità si presentano le mappe di correlazione spaziale tra le seguenti combinazioni di metriche, che hanno portato ad interessanti risultati:

- il picco di concentrazione dell'emoglobina totale ed il picco di glicemia ($PEAK_{HbT}$ vs. $PEAK_{glic}$)
- la latenza del picco di concentrazione dell'emoglobina totale e la latenza del picco di glicemia (LAT_{HbT} vs. LAT_{glic})
- la velocità di discesa/salita del picco di concentrazione dell'emoglobina totale e la durata complessiva dell'evento ipoglicemico ($SPEED_{HbT}$ vs. L_{glic})
- la latenza del picco di concentrazione dell'emoglobina totale ed il valore del picco glicemico (LAT_{HbT} vs. $PEAK_{glic}$)

In *Figura 4.16* sono riportate le mappe di correlazione spaziale relative al valore assoluto della correlazione.

Sulla base dei risultati delle mappe di correlazione, può risultare interessante valutare l'effettiva correlazione tra le metriche nei diversi eventi ipoglicemici selezionando i soli canali NIRS in cui tale correlazione è sufficientemente alta. Per questo motivo viene calcolato, per ogni singolo evento, il valore medio delle metriche utilizzando solo i canali per i quali si abbia raggiunto un indice di correlazione in valore assoluto pari ad almeno 0.5. In questo modo si ottiene, per ogni evento ipoglicemico, un valore medio per ogni metrica che può essere utilizzato per valutare la correlazione tra concentrazione totale di emoglobina ed il segnale glicemico associato, ricavando i risultati in *Figura 4.17*.

Sono state valutate anche altre combinazioni di metriche per la valutazione della correlazione tra glicemia ed emodinamica cerebrale, ma con scarso successo. Si tratta tuttavia di risultati preliminari, per questo motivo saranno necessarie ulteriori indagini a riguardo, utilizzando se possibile un numero maggiore di dati provenienti da pazienti diversi, in quanto è necessario ricordare che le correlazioni sono state valutate sui dati provenienti da un solo paziente.

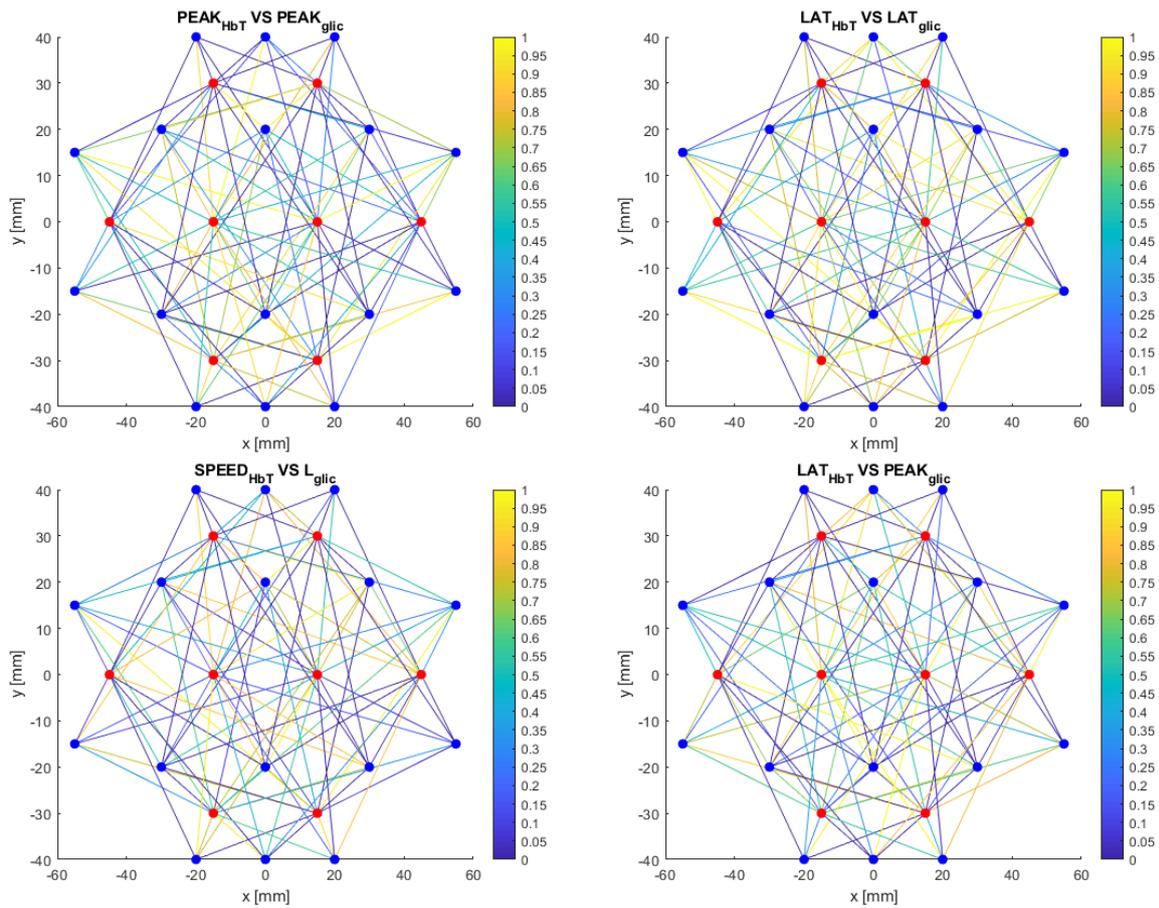


Figura 4.16: Mappe di correlazione spaziali calcolate utilizzando i dati relativi agli eventi ipoglicemici per le quattro combinazioni di metriche. I pallini blu identificano la posizione spaziale dei rilevatori, quelli rossi delle sorgenti. Ogni canale che collega una sorgente con un rilevatore è identificato da una linea colorata, il cui colore indica il livello di correlazione (in valore assoluto) tra le due metriche considerate. I colori tendenti al giallo identificano alta correlazione, quelli tendenti al blu bassa correlazione.

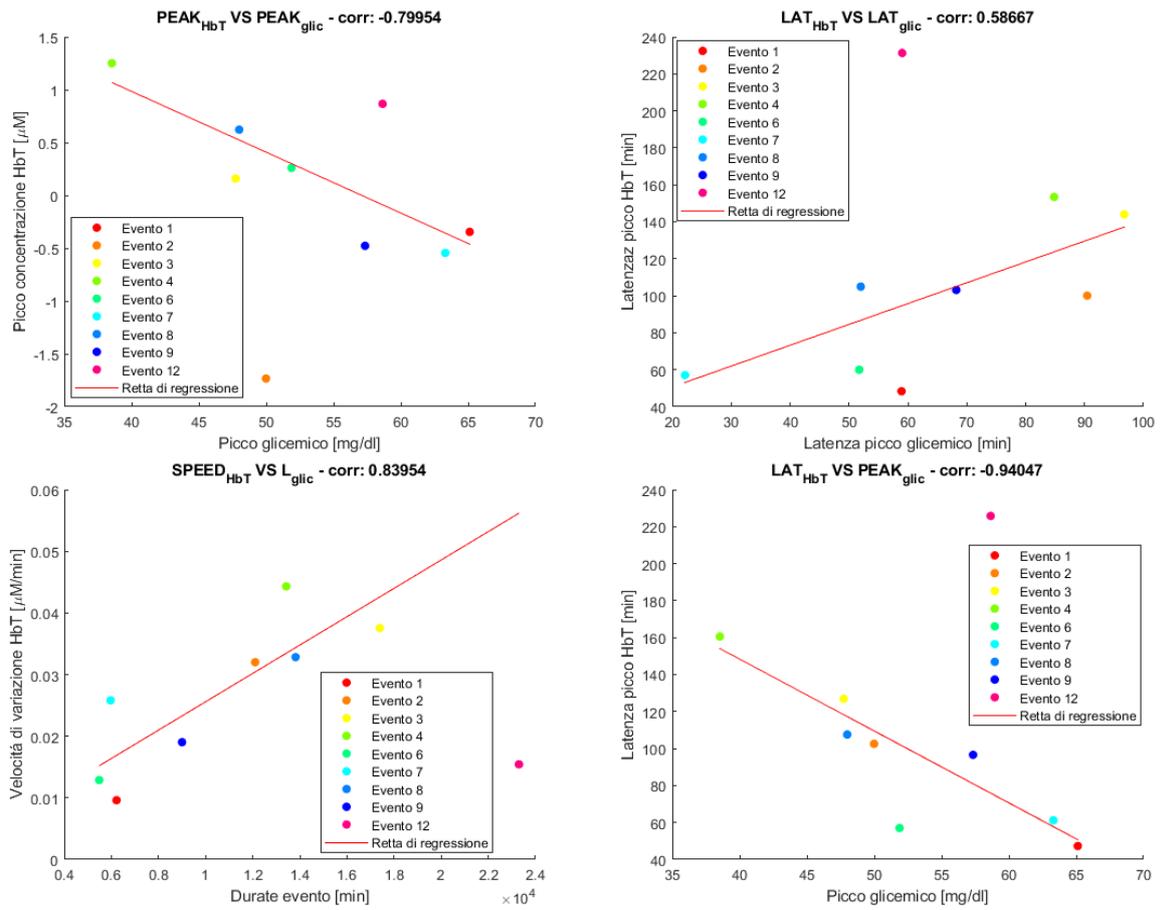


Figura 4.17: Indici di correlazione tra le metriche calcolate sui segnali glicemici ed emodinamici per gli eventi ipoglicemici. Ogni evento è associato con un pallino di un colore diverso. Nel titolo di ogni pannello è riportato il valore di correlazione. La retta rossa è la retta di regressione.

Capitolo 5. Conclusioni

5.1 Riassunto del lavoro svolto

Lo scopo di questa tesi prevedeva lo sviluppo di una processing pipeline in grado di ridurre le componenti indesiderate costituite dagli artefatti da movimento su dati DOT raccolti su un neonato pretermine monitorato in continua durante i primi 7 giorni di vita.

Il passo preliminare all'elaborazione dei segnali emodinamici, nel quale si controlla se ci siano o meno segnali che debbano essere esclusi dall'elaborazione, è stato affidato per la prima volta ad un sistema di classificazione automatico basato su SVM e che tenesse conto della grande variabilità presente nei segnali. Le normali procedure automatiche di classificazione presenti in letteratura per discriminare i segnali NIRS, basate soprattutto sulla valutazione del valore medio o del coefficiente di variazione, non sarebbero state sufficienti a classificare efficacemente i dati a nostra disposizione. Il classificatore qui proposto ha dimostrato invece buone prestazioni nel classificare l'insieme di segnali spettroscopici raccolti, unici nel loro genere in quanto si tratta di segnali acquisiti per un tempo molto prolungato su un neonato in un'incubatrice, e quindi pesantemente corrotti da artefatti da movimento, soprattutto sotto forma di spike e cambiamenti della baseline di elevata intensità.

Per la successiva elaborazione dei segnali considerati validi sono state combinate varie tecniche di riduzione e correzione degli artefatti da movimento la cui efficacia è già stata ampiamente documentata in letteratura. Le tecniche di correzione artefatti presenti in letteratura sono state progettate tuttavia per correggere segnali di breve durata, in cui generalmente gli artefatti da movimento hanno intensità non molto elevata e si presentano in numero ridotto. I dati analizzati in questa tesi presentano una quantità di artefatti da movimento molto più elevata dei dataset usualmente raccolti con la NIRS in adulti o bambini. Inoltre, la risposta emodinamica relativa ad eventi di ipo/iperglicemia di interesse in questa tesi è molto più lenta della risposta emodinamica funzionale relativa ad un compito specifico richiesto al partecipante, ed usualmente di interesse in acquisizioni NIRS/DOT. Per questo motivo, anche il filtraggio in frequenza è problematico su questi dati e l'approccio standard, il filtro bassa-banda, è di difficile applicazione.

Per tutti questi motivi, si è sviluppata una processing pipeline che contenesse una successione di tecniche di correzione, per sfruttare al meglio tutte le loro caratteristiche positive ed

eventualmente ridurre le problematiche insite in ogni tecnica. Il filtro Wavelet, con il criterio di scelta basato sull'intervallo interquartile, si è dimostrato un ottimo approccio per ridurre gli artefatti da movimento di tipo spike anche in dati pesantemente corrotti come quelli a nostra disposizione. Tuttavia, non è in grado di eliminare la presenza di artefatti dovuti a cambiamenti della baseline, in quanto nei punti di discontinuità del segnale il filtro esegue una semplice interpolazione dei campioni, senza correggere l'artefatto. Per questo motivo è stato necessario affiancarvi anche altri approcci di correzione per ridurre la presenza delle discontinuità. Sebbene l'uso della sola interpolazione spline potrebbe essere sufficiente ad eliminare la maggior parte degli artefatti di tipo di cambiamento di baseline, si sono presentati svariati casi in cui questa sola tecnica non è risultata sufficiente alla loro eliminazione, con il rischio quindi di ricavare una stima errata dei livelli di ossigenazione cerebrale. Nemmeno un secondo passaggio di interpolazione spline, con lo scopo di rilevare ed eliminare gli artefatti residui non corretti, si è rivelato sufficiente per risolvere il problema. Per questo motivo è stato necessario includere una ulteriore tecnica per la correzione degli artefatti e la scelta è ricaduta sulla tPCA, la quale si è dimostrata molto efficace nell'eliminare sia spike ad alta frequenza che artefatti dovuti a cambiamenti della baseline. Tuttavia, anche usare solo la tPCA non si è dimostrato sufficiente ad eliminare tutti gli artefatti dovuti a spostamento della baseline. Si è quindi optato per utilizzare queste due tecniche in cascata sebbene vi sia un possibile aumento del rischio di deteriorare la componente di segnale utile relativa alla risposta emodinamica e di introdurre ulteriori distorsioni nei segnali.

Sebbene la pipeline di elaborazione presenti dei punti critici di cui è necessario tenere conto e possa essere migliorata, si è dimostrata comunque efficace nel ridurre la presenza degli artefatti da movimento nella maggior parte dei segnali, sebbene alcuni si siano dovuti comunque scartare a causa della presenza residua di alterazioni non dovute a variazioni fisiologiche. Il numero limitato di pattern comuni nelle risposte emodinamiche, sebbene basati su caratteristiche del tutto generali, può essere interpretato come un indice dell'efficacia del flusso di elaborazione creato.

È stata anche confermata (anche se solo preliminarmente) la correlazione tra le variazioni glicemiche e quelle di ossigenazione cerebrale. Ulteriori studi saranno comunque necessari per approfondire queste correlazioni, soprattutto per verificare la presenza effettiva di aree cerebrali in cui questa correlazione è prevalente rispetto alle altre.

Le metriche calcolate dai segnali e utilizzate per il calcolo della correlazione evidenziano la presenza di correlazioni rilevanti e non casuali, soprattutto per quanto riguarda i picchi, le latenze e le velocità medie di variazione delle concentrazioni dell'emoglobina totale. Sarà di

grande interesse la ricerca di ulteriori metriche per valutare la correlazione tra questi due segnali, anche dal punto di vista spaziale, sulla base di un possibile modello matematico che possa spiegare il legame profondo tra emodinamica cerebrale e glicemia. In base ai risultati ricavati dai grafici in *Figura 4.17*, si nota come ci sia una correlazione negativa tra il picco di variazione della concentrazione di emoglobina totale ed il picco di glicemia. Si evince quindi che, al diminuire del valore della glicemia durante l'evento ipoglicemico si ha un aumento della variazione della concentrazione di emoglobina totale, che è una misura surrogata del volume ematico cerebrale. Questo risultato sembrerebbe in linea con i risultati di Matterberer e colleghi [4], che hanno rilevato un aumento del livello di ossigenazione inversamente proporzionale al valore della glicemia e sarebbe in linea con l'ipotesi del sensore cerebrale di glucosio [8] che prevedrebbe un aumento del reclutamento dei capillari (e quindi un aumento del volume ematico cerebrale) in ipoglicemia. Tuttavia, si nota come già per valori della glicemia superiori a $50 \frac{mg}{dl}$ (quindi in ipoglicemie più moderate) si abbia una variazione negativa della concentrazione di emoglobina totale, che si potrebbe quindi interpretare come una diminuzione di volume ematico cerebrale. Questo significa che, nel caso del neonato in esame, solo valori estremamente bassi della glicemia potrebbero aver indotto un aumento significativo nei livelli di emoglobina totale e quindi del volume ematico cerebrale. Questo comportamento anomalo potrebbe essere dovuto ad uno stato di sofferenza avanzata, protrattosi per un lungo periodo di tempo che dipende dallo stato fisiopatologico del neonato. Come è stato messo in luce nello studio di Nan-Tsing e colleghi [10] su neonati affetti da encefalopatia ipoglicemica, sebbene inizialmente la risposta all'ipoglicemia sia un aumento del flusso ematico cerebrale, è stata registrata anche una ipoperfusione ritardata nel caso di ipoglicemie moderate oltre che severe. Il sistema di autoregolazione del neonato potrebbe quindi non essere stato in grado di reagire adeguatamente agli eventi ipoglicemici, se non nel caso di un livello glicemico estremamente basso. Inoltre, le soglie generalmente utilizzate per definire la gravità degli eventi ipoglicemici ed iperglicemici sono uguali per tutti i pazienti. Tuttavia, queste soglie potrebbero leggermente variare da neonato a neonato, soprattutto in dipendenza dallo stato di sviluppo del suo sistema di regolazione glicemica e dalla presenza o meno di scorte di glicogeno. L'aver registrato una variazione negativa del volume ematico cerebrale solo nel caso di livelli di ipoglicemia severa potrebbe perciò suggerire, come altra ipotesi, che le soglie per la definizione dell'ipoglicemia siano in realtà più basse di quelle standard per questo neonato. Questa ipotesi suggerisce la possibilità di utilizzare i dati dell'emodinamica cerebrale per stimare delle soglie per la severità

delle ipoglicemie specifiche per ogni paziente, fornendo un'ulteriore informazione verso lo sviluppo di trattamenti personalizzati per la regolazione della glicemia.

Si nota inoltre come ci sia una correlazione abbastanza elevata tra le latenze dei picchi di concentrazione dell'emoglobina totale ed i picchi di glicemia. Questa correlazione implica che all'aumentare della latenza del picco di glicemia c'è un aumento della latenza del picco di emoglobina totale, suggerendo quindi la presenza di un meccanismo fisiologico che regola questi due segnali con tempistiche simili. Tuttavia, dagli altri grafici in *Figura 4.17* si deduce come il valore della latenza del picco di concentrazione di emoglobina sia fortemente dipendente dal valore del picco glicemico. Se si considerano, come fatto in precedenza, i valori di glicemia più bassi, si può presupporre che il sistema di autoregolazione, sebbene risponda con un aumento del livello di perfusione cerebrale, sia meno pronto in queste situazioni estreme e quindi impieghi più tempo per raggiungere il picco massimo di volume ematico cerebrale. La velocità di variazione della concentrazione dell'emoglobina totale per raggiungere il valore di picco sembra invece direttamente proporzionale alla lunghezza totale dell'evento.

È necessario ricordare però che si tratta di considerazioni ricavate sui valori medi delle metriche calcolate per ogni evento tra i canali con alta correlazione, canali in cui le risposte emodinamiche stimate possono avere pattern anche molti diversi tra di loro. Inoltre, tutti i dati provengono da un solo paziente, che costituisce un campione di dimensione estremamente ridotto. Saranno quindi necessari ulteriori studi per verificare e validare adeguatamente se ci sono delle particolari aree cerebrali che reagiscano agli eventi ipoglicemici con un aumento del flusso emodinamico e se ce ne sono invece altre che reagiscono in maniera opposta. In queste considerazioni preliminari non si è fatto uso degli eventi iperglicemici in quanto sono in numero troppo esiguo rispetto agli eventi ipoglicemici e avrebbero potuto indurre un bias rilevante nel calcolo delle correlazioni. Tra gli eventi iperglicemici a disposizione troviamo infatti l'evento 10 e l'evento 12 (per maggiori dettagli fare riferimento a *Figura 2.4* e *Tabella 2.1* del Capitolo 2). L'evento iperglicemico 10 è controverso, in quanto è stato possibile estrarre dai dati emodinamici acquisiti segnali affidabili solo per la prima parte dell'evento. Osservando i risultati relativi alle risposte emodinamiche si nota come la variazione di concentrazione dell'emoglobina totale sia praticamente nulla all'inizio dell'evento e alla fine dello stesso. Questo è dovuto al passaggio di detrending, che ha lo scopo di eliminare le variazioni di baseline tra inizio e fine del segnale causate ad esempio dal riscaldamento dei LED. Nel caso dell'evento 10 tuttavia, il segnale glicemico non ritorna ad un livello di euglicemia e quindi è lecito aspettarsi che il passaggio di detrending possa aver compromesso l'effettiva forma della risposta emodinamica, dato che manca a tutti gli effetti una parte importante del segnale

spettroscopico. L'evento 12 invece è un evento anomalo, in quanto ad un evento ipoglicemico segue un evento iperglicemico e per questo la risposta fisiologica delle varie aree cerebrali potrebbe essere diversa rispetto agli altri eventi ipoglicemici oppure iperglicemici. In *Figura 4.17* si osserva come l'evento 12 sia spesso classificabile come outlier rispetto agli altri eventi ipoglicemici. Il suo contributo alla stima delle correlazioni è stato comunque adeguatamente pesato sfruttando la stima ai minimi quadrati robusta.

5.2 Problemi aperti

Il filtro Wavelet si è dimostrato molto efficace nel correggere gli artefatti da movimento di tipologia spike, ma è inefficace nel caso di discontinuità del segnale che causano cambiamenti della baseline, che sono stati quindi corretti ricorrendo a tPCA ed interpolazione spline. Tuttavia, non si tratta di tecniche appositamente create per essere utilizzate con dati così corrotti da artefatti da movimento come quelli a nostra disposizione e con lo scopo di rilevare una risposta emodinamica molto lenta, come quella correlata alla variazione glicemica. Sebbene si tratti di tecniche molto versatili, la loro efficienza dipende molto dai valori dei parametri che vengono impostati ad ogni utilizzo, come la dimensione delle finestre in cui valutare la presenza di variazioni in ampiezza e deviazione standard che indicano la presenza di artefatti e le soglie stesse per valutare queste variazioni. Questi parametri non possono essere impostati in maniera automatica sulla base di criteri statistici oppure di informazioni a priori. La grande differenza che intercorre tra i segnali, sia in termini di durata totale che di intensità degli artefatti, rende molto complicata la ricerca di un insieme di parametri ottimo e generalizzabile. Il passo di detrending inoltre è critico, in quanto anch'esso potrebbe introdurre delle fluttuazioni non fisiologiche nei segnali. La semplice correzione di tipo lineare sul drift dei segnali non è in grado di correggere eventuali distorsioni introdotte durante i passaggi di elaborazione precedenti oppure di correggere fluttuazioni non lineari presenti naturalmente nei segnali. Purtroppo, non è stato possibile utilizzare tecniche più sofisticate. Il filtraggio in frequenza non è sfruttabile a causa di instabilità numeriche in presenza di frequenze di taglio estremamente basse, così come non sono sfruttabili tecniche di detrending non parametriche in quanto non si hanno a disposizione sufficienti informazioni a priori per creare stime di trend che non compromettano la risposta emodinamica molto lenta presente nei dati.

5.3 Sviluppi futuri

La processing pipeline messa a punto in questo lavoro di tesi rappresenta un buon punto di partenza verso lo sviluppo di un processo di elaborazione standardizzato per i dati NIRS nel caso di paradigmi di tipo resting state e nel caso di misurazioni di durata molto lunga. È possibile migliorare questo flusso di elaborazione modificando l'algoritmo di ricerca degli artefatti da movimento utilizzato da tPCA ed interpolazione spline in modo tale da renderlo specifico per le discontinuità dei segnali, che non possono essere adeguatamente corrette con il filtro Wavelet. Nel caso si riuscissero a rilevare solamente questi tipi di artefatti, potrebbe essere sufficiente anche la sola interpolazione spline oppure la sola tPCA come primo passo di correzione, diminuendo non solo il rischio di distorcere i segnali, ma anche il costo computazionale delle analisi. I risultati incoraggianti ottenuti dalla riduzione degli artefatti da movimento in dati di spettroscopia di durata molto lunga e pesantemente corrotti, suggeriscono la fattibilità di analizzare questo tipo di dati e quindi pongono le basi per ulteriori acquisizioni su neonati pretermine in terapia intensiva neonatale. Questo tipo di studi potrebbe aprire nuove strade verso una miglior comprensione delle dinamiche cerebrali durante eventi ipoglicemici ed iperglicemici.

Il riconoscimento di pattern comuni nelle risposte emodinamiche durante eventi ipoglicemici ed iperglicemici è di fondamentale importanza ai fini dello sviluppo di modelli matematici in grado di spiegare con maggior precisione la relazione che intercorre tra emodinamica cerebrale e glicemia. Al fine di sviluppare questi modelli, è necessario generalizzare e validare i risultati ottenuti in questa tesi, applicando questa processing pipeline anche su dati misurati in altri neonati pretermine. Bisogna validare sia la presenza di pattern comuni tra risposte emodinamiche, sia la presenza di particolari correlazioni con il segnale glicemico. Con un grande quantitativo di dati a disposizione sarà inoltre possibile verificare il comportamento dell'emodinamica cerebrale anche nel caso di eventi iperglicemici. Grazie all'acquisizione DOT, che fornisce informazioni emodinamiche provenienti da varie aree cerebrali, sarà possibile valutare se vi è una correlazione tra la posizione dei canali DOT che presentano dei pattern di variazioni emodinamiche anomali durante l'evento e le aree della corteccia solitamente riscontrate con danni patologici in seguito alla presenza di variazioni glicemiche, come ad esempio l'encefalopatia ipoglicemica [10]. Attraverso la capacità della NIRS di discriminare tra emoglobina ossigenata ed emoglobina deossigenata, sarà inoltre possibile

verificare nelle specifiche aree cerebrali se entrambe le tipologie di emoglobina subiscono delle evidenti variazioni oppure se solo una delle due è più legata alle variazioni glicemiche, fornendo quindi ulteriori informazioni sul meccanismo alla base della regolazione emodinamica cerebrale in risposta a forti variazioni glicemiche.

Appendice A

I sistemi CGM più utilizzati, soprattutto in ambito neonatale, consistono in un trasmettitore non impiantabile posto a contatto con la parte esterna della pelle e da un ago molto sottile inserito nei tessuti sottocutanei, in cui è presente il sensore vero e proprio. Il trasmettitore fornisce l'energia necessaria al sensore sottocutaneo ed invia i dati delle misurazioni ad un monitor oppure ad altre strumentazioni ad esso collegate, solitamente via Bluetooth. La conversione dei segnali grezzi in concentrazioni di glucosio necessita di dati di ingresso che calibrino la misurazione, come ad esempio dati derivanti da campionamenti nel sangue o nel plasma [13]. L'ago del sensore viene inserito sottopelle a livello dei tessuti interstiziali, quindi quello che viene a tutti gli effetti misurato è il livello di glucosio interstiziale e non il glucosio presente nei capillari. Il sangue e l'interstizio si possono considerare due compartimenti fisiologici separati e per questo è presente un certo ritardo fisiologico tra i livelli di glicemia interstiziale e quelli del sangue, in particolare nel caso in cui i livelli di glucosio varino molto rapidamente. Le variazioni temporali osservate nei tessuti interstiziali sono comunque ben correlate con le variazioni temporali della glicemia cerebrale e del sangue [50].

Gli attuali sistemi CGM sfruttano misure amperometriche per la stima dei livelli di glucosio. La configurazione più utilizzata prevede un sensore a tre elettrodi (elettrodo di riferimento in $Ag/AgCl$, elettrodo di lavoro e contro elettrodo), enzimi come *glucosio ossidasi* e la rilevazione elettrochimica del *perossido di idrogeno*. Il *perossido di idrogeno* viene ossidato a livello dell'elettrodo di lavoro per generare una corrente proporzionale alla concentrazione di glucosio presente nel campione. L'elettrodo di lavoro viene ricoperto da *glucosio ossidasi* allo scopo di catalizzare il processo di ossidazione attraverso l'applicazione di una certa differenza di potenziale. Sono comunque necessarie anche delle membrane che limitino l'accesso del glucosio al sensore a causa di un deficit di ossigeno dei tessuti sottocutanei rispetto al glucosio presente [13], [51].

Il ritardo e la discrepanza tra i dati misurati nel tessuto interstiziale e le reali variazioni della glicemia che si potrebbero osservare nel sangue, si possono spiegare in parte sulla base di fattori fisiologici (quindi indipendenti dallo specifico sensore) e in parte sulla base dei principi di funzionamento dei sensori:

- 1) Le misurazioni sono effettuate nel compartimento del tessuto interstiziale, quindi un primo ritardo delle variazioni misurate è dovuto al trasporto per diffusione del glucosio dai capillari verso l'interstizio. Inoltre, altri fenomeni di diffusione avvengono a livello del sensore stesso, come la diffusione del *perossido di idrogeno* dal *glucosio ossidasi* verso la superficie del sensore [51].
- 2) Gli algoritmi di filtraggio dei dati presenti nel sistema di misura possono indurre anch'essi un ritardo delle stime glicemiche rispetto alle variazioni reali fisiologiche [51].
- 3) È presente anche una componente di errore dovuta a drift, correlato sia con lo shifting interno operato dagli algoritmi della strumentazione per ottenere i dati di concentrazione glicemica sia con la modifica superficiale del sensore, a causa della formazione di un biofilm che avvolge il sensore stesso e da sostanze biologiche che possono interferire con le correnti generate durante il processo di misura [13]. Il sistema di misura è infatti inserito in un ambiente altamente attivo dal punto di vista biologico, con la presenza quindi di molte sostanze che possono interferire con l'ossidazione del *perossido di idrogeno* dei sensori. I tessuti adiposi presentano inoltre variazioni del flusso ematico a causa dell'infiammazione dovuta alla presenza del sensore [51].

Il trauma localizzato dovuto all'inserimento del sensore, con conseguente reazione di infiammazione e attivazione dei meccanismi di riparazione tissutale, interferisce inevitabilmente con la qualità delle misurazioni. Lo stato infiammatorio purtroppo non è una condizione transitoria, in quanto anche i semplici movimenti della strumentazione, seppur lievi, aiutano a mantenere un livello di infiammazione costante che non permette di raggiungere la stazionarietà nel microambiente in cui è inserito il sensore [51].

Per arginare questo problema sono necessarie quindi molteplici operazioni di calibrazione attraverso dati esterni forniti al sensore (come ad esempio misurazioni glicemiche derivanti da campionamenti nei capillari o nel plasma). Anche per il processo di calibrazione si deve tenere conto del ritardo dovuto alla diffusione del glucosio verso i tessuti interstiziali [13].

Proprio a causa del ritardo tra i livelli di glicemia del sangue e dell'interstizio, che avviene in tutti i tipi di sensori ad oggi presenti sul mercato, è necessario tenere in considerazione alcune importanti implicazioni cliniche, come ad esempio il ritardo negli avvisi di una possibile ipoglicemia, così come l'impossibilità di calibrare il sensore durante i momenti di rapida variazione glicemica. È bene notare, tuttavia, che solitamente le variazioni glicemiche che portano ad ipo o iperglicemia sono molto lente. Sebbene i sistemi CGM forniscano molte più

informazioni rispetto ai normali campionamenti del sangue, sono in genere meno precisi. Inoltre, non si sa ancora molto dell'esatta dinamica del glucosio tra sangue e tessuti interstiziali nei neonati [13], [50].

Appendice B

Le tecniche di imaging ottico sono utilizzabili sia in vitro che in vivo e sfruttano il modo in cui i raggi luminosi, a differenti lunghezze d'onda, interagiscono con la materia vivente. Molti tessuti biologici, compresi scalpo, pelle ma anche l'acqua sono relativamente trasparenti alla luce nella finestra di frequenze del rosso e del vicino infrarosso, mentre si comportano come sostanze fortemente assorbenti con luce ad altre lunghezze d'onda. Le molecole di *ossiemoglobina* e *deossiemoglobina* presentano invece un preciso spettro di assorbimento nell'intervallo di frequenze del rosso e del vicino infrarosso (*Figura B.1b*). Essendo l'emoglobina il principale trasportatore di ossigeno, la NIRS sfrutta l'assorbimento della luce da parte di queste due molecole per valutare i cambiamenti nei livelli di ossigenazione e più in generale dell'emodinamica cerebrale [2].

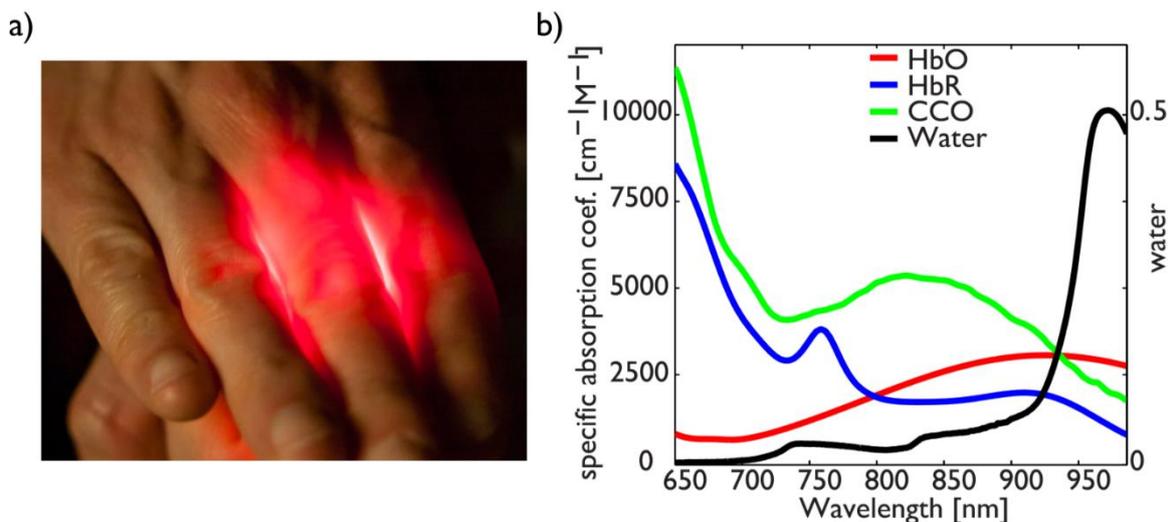


Figura B.1: Principi di assorbimento su cui si basa la tecnologia NIRS. a) Dimostrazione della trasparenza dei tessuti biologici alla luce rossa, che è infatti l'unico colore della luce visibile che riesce ad attraversare i tessuti della mano. b) Spettro di assorbimento delle molecole di ossiemoglobina (rosso) e deossiemoglobina (blu) al variare della lunghezza d'onda nella finestra della luce rossa e nel vicino infrarosso. In figura è rappresentato anche lo spettro dell'acqua, che diventa il principale assorbitore a lunghezze d'onda superiori ai 900 nm e del citocromo c ossidasi, un prodotto del metabolismo mitocondriale, che è presente in bassissime concentrazioni nei tessuti. Presa da [2].

L'interazione tra la luce e tessuti biologici avviene secondo due meccanismi principali:

- 1) Assorbimento: parte dell'energia dei fotoni incidenti viene trasferita al mezzo con cui la luce interagisce.
- 2) Dispersione (scattering): i fotoni non viaggiano in linea retta, ma variano in continuazione la loro direzione a causa dell'interazione con il mezzo dispersivo che attraversano, senza perdere energia.

Entrambi questi fenomeni dipendono dalla lunghezza d'onda della luce incidente e dalle proprietà ottiche del tessuto attraversato. Se consideriamo il caso della luce nella finestra ottica del vicino infrarosso che incide su di un tessuto umano come lo scalpo, la pelle oppure il tessuto osseo, il fenomeno di dispersione è preponderante rispetto all'assorbimento e questo comporta che la luce viene altamente diffusa nel tessuto (*Figura B.1a*), in quanto non viaggia in linea retta come farebbero i raggi *X*, ma la direzione dei fotoni varia in continuazione man mano che la radiazione penetra in profondità nel tessuto. Solamente una piccola frazione della luce raggiunge la superficie della testa in prossimità di dove è posizionato il rilevatore (in quanto l'intensità luminosa decade esponenzialmente rispetto alla distanza percorsa), in generale a 3 *cm* di distanza dalla sorgente luminosa negli adulti, 2 *cm* negli infanti [2]

La variazione nel tempo dell'intensità di luce rilevata dal rilevatore riflette i cambiamenti nell'assorbimento ottico dei tessuti che si trovano lungo il percorso tra sorgente e rilevatore. Questi cambiamenti sono correlati con le variazioni di concentrazione di ossiemoglobina e deossiemoglobina nel cervello, essendo queste molecole i principali assorbitori della luce a queste lunghezze d'onda. Le variazioni di concentrazione di ossiemoglobina e deossiemoglobina si possono stimare attraverso misure ottiche di assorbimento impiegando diverse lunghezze d'onda, in virtù dello specifico spettro di assorbimento di ciascuna molecola (*Figura B.1b*) [2].

La tecnica *NIRS*, nella sua forma più semplice, utilizza onde luminose all'interno di un intervallo di frequenze comprese tra i 650 *nm* e 900 *nm*. Le misurazioni di assorbimento vengono realizzate in maniera non invasiva con l'utilizzo di fibre ottiche poste in diverse posizioni sullo scalpo del soggetto, con funzione di sorgente o rilevatore di luce. Ogni coppia sorgente – rilevatore entro una certa distanza data dal range dinamico del sistema in uso, forma quello che viene chiamato *canale* (*Figura B.2*) [2].

La luce viaggia diffusamente attraverso la pelle e il tessuto osseo, fino a raggiungere la corteccia cerebrale, per poi tornare indietro ed essere captata da un rilevatore. È necessario tenere conto

anche della distanza relativa tra sorgente e rivelatore, in quanto essa influisce sulla probabilità che un certo fotone emesso dalla sorgente raggiunga il rivelatore e quindi sulla frazione effettiva di fotoni rilevati: maggiore è la distanza relativa tra sorgente e rivelatore, maggiore è la profondità che può raggiungere il fascio luminoso, ma allo stesso tempo minore è l'intensità dei fotoni misurati dal rivelatore, che decresce esponenzialmente in base alla distanza percorsa dalla luce [2].

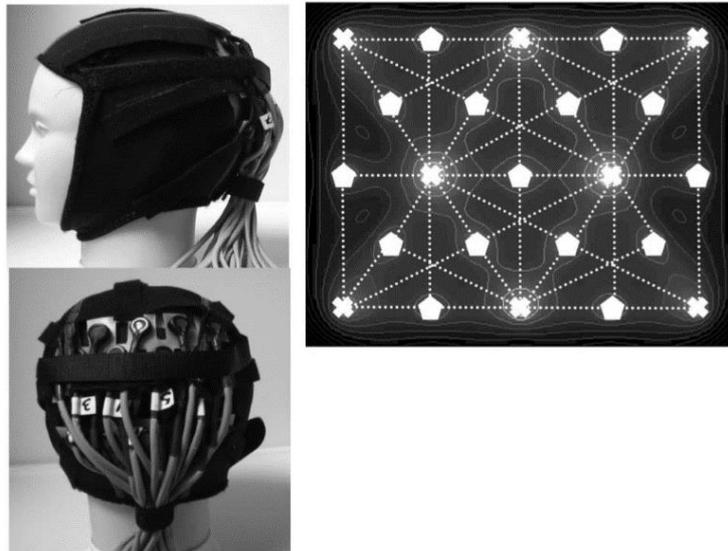


Figura B.2: Esempio di strumentazione *NIRS* con sorgenti e rivelatori contenuti in una cuffia morbida che si può adattare alle diverse morfologie delle teste dei soggetti. È messa in evidenza sulla destra anche la disposizione di sorgenti (croci) e rivelatori (esagoni) utilizzata in questa particolare configurazione. Presa da [26].

I più semplici sistemi *NIRS* sono i sistemi ad onda continua, i quali misurano la differenza di intensità luminosa tra la luce emessa dalla sorgente e quella captata dai rivelatori nel tempo. L'intensità della luce misurata può essere modellizzata attraverso la *Legge di Lambert – Beer modificata*:

$$\frac{I}{I_0} = e^{-xD\mu_a + P} \quad (B.1)$$

nella quale I e I_0 sono rispettivamente l'intensità luminosa uscente dal tessuto e quella incidente, x è la distanza relativa tra sorgente e rivelatore, μ_a è il coefficiente di assorbimento del mezzo. Il coefficiente D è noto come *Differential Pathlength Factor* o *DPF* e tiene conto al suo interno dei fenomeni di dispersione e dell'effetto del volume parziale [2].

La distanza effettivamente percorsa dalla luce non è quindi x , ma più precisamente il termine $x \cdot D$ che rappresenta quindi la distanza media percorsa da un fotone tra sorgente e rilevatore. Infine, il termine P tiene conto dei fotoni che, per ragioni geometriche, non sono stati osservati dal rilevatore e sono andati persi. Il coefficiente di assorbimento, μ_a , è proprio il parametro che si desidera stimare, ma la sua misura diretta non è possibile, in quanto abbiamo troppe variabili che non possiamo determinare. Nei sistemi ad onda continua, per aggirare il problema, viene misurata la differenza di intensità luminosa tra un certo istante t e un istante di riferimento t_0 , che indichiamo rispettivamente con $I_2 = I(t)$ e $I_1 = I(t_0)$. Dall'equazione (B.1) si deriva quindi la seguente relazione:

$$xD\Delta\mu_a = \ln\left(\frac{I_2}{I_1}\right) = \ln\left(\frac{I_2}{I_0}\right) - \ln\left(\frac{I_1}{I_0}\right) \quad (B.2)$$

nella quale il termine $\Delta\mu_a$ si riferisce alla differenza del coefficiente di assorbimento tra i due istanti temporali. Per semplicità di trattazione si assume generalmente che i termini D e P siano costanti nel tempo [2]. Sebbene il tessuto contenga molti tipi di molecole assorbenti, si considerano solo i contributi all'assorbimento derivanti dalle molecole di ossiemoglobina e deossiemoglobina, in quanto i contributi delle altre sostanze si possono assumere trascurabili oppure costanti nel tempo. Queste assunzioni ci permettono allora di scrivere una relazione *lineare* tra coefficiente di assorbimento e concentrazioni di ossiemoglobina e deossiemoglobina, per un dato canale:

$$\Delta\mu_{a|\lambda} = (\varepsilon_{HbO|\lambda} \cdot \Delta C_{HbO} + \varepsilon_{HbR|\lambda} \cdot \Delta C_{HbR}) \quad (B.3)$$

nella quale i termini $\varepsilon_{HbO|\lambda}$ e $\varepsilon_{HbR|\lambda}$ sono i coefficienti di estinzione molare specifici di ossiemoglobina e deossiemoglobina per una certa lunghezza d'onda λ , ΔC_{HbO} e ΔC_{HbR} sono le variazioni di concentrazione di ossiemoglobina e deossiemoglobina. Questa relazione ovviamente dipende anche dal canale che si considera, quindi il calcolo di $\Delta\mu_{a|\lambda}$ dipenderà anche dalla lunghezza dello specifico canale e dal fattore DPF (dipendente anch'esso dalla specifica lunghezza d'onda λ), come specificato nella formula (B.2) [2].

Sebbene sia possibile misurare direttamente il valore del DPF utilizzando apposite strumentazioni oppure ottenerne delle stime attraverso modelli matematici basati sulle equazioni che modellano il trasporto della luce attraverso un mezzo omogeneo [48], la maggior

parte degli esperimenti *NIRS* non ha accesso diretto ad informazioni come DPF o contributi di volumi parziali. Spesso si assume inoltre che questo parametro sia linearmente dipendente dalla distanza di separazione tra sorgente e rilevatore e indipendente da tutto il resto, tuttavia questa assunzione vale solo asintoticamente per distanze molto elevate. Sebbene siano presenti in letteratura valori tabulati, il DPF è dipendente sia dal soggetto, sia dalla specifica posizione sul cranio [2]. L'incertezza sui valori del DPF rimane perciò ancora un limite per la stima precisa delle variazioni di concentrazione dei sistemi *NIRS*.

Per poter misurare differenze di concentrazione sia di ossiemoglobina che di deossiemoglobina è necessario impiegare più di una lunghezza d'onda. In generale si utilizzano due lunghezze d'onda, una inferiore ed una superiore a quello che viene definito punto isosbastico, cioè quel valore di lunghezza d'onda per cui le due molecole presentano lo stesso coefficiente di assorbimento, pari a circa 808 nm. Esistono tuttavia sistemi che impiegano più di due lunghezze d'onda, permettendo quindi di valutare la concentrazione di altre molecole oppure semplicemente per aumentare la precisione delle misurazioni stesse [2].

Ci sono ancora alcune problematiche da risolvere prima che questo tipo di strumentazione possa essere utilizzata propriamente a scopo clinico. Tra queste, la difficoltà di produrre un'interfaccia strumentazione-paziente che possa coprire l'intero scalpo e sia abbastanza densa da fornire una risoluzione spaziale adeguata. Le misurazioni ottiche inoltre sono molto sensibili alle variazioni emodinamiche che avvengono negli strati superficiali dei tessuti extra-cerebrali (la cute e l'osso). Artefatti fisiologici quali la pulsazione cardiaca, la respirazione o cambiamenti localizzati nella pressione sanguigna superficiale possono essere interpretati erroneamente come variazioni emodinamiche cerebrali [2]. Oltre alla contaminazione fisiologica, un'altra fonte di artefatti presenti tipicamente nelle misurazioni *NIRS* è dovuta al movimento. Sebbene i metodi di accoppiamento tra fibre ottiche e scalpo siano molto migliorati nel corso degli ultimi anni, il movimento della testa causa comunque un irrimediabile moto relativo tra le fibre ottiche poste sulla superficie dello scalpo e lo scalpo stesso. Questo si traduce in un rapido spostamento dell'accoppiamento fibra-scalpo che risulta tipicamente in una componente di rumore ad alta frequenza nel segnale. Questi artefatti da movimento sono comunque facilmente individuabili attraverso informazioni esterne e correlate con il movimento oppure dalla semplice ispezione visiva delle serie temporali. In letteratura sono inoltre presenti molte tecniche specifiche per la rilevazione e rimozione di questi specifici artefatti [33].

Bibliografia

- [1] J. Nortje and D. K. Menon, “Applied cerebrovascular physiology,” *Anaesth. Intensive Care Med.*, vol. 5, no. 10, pp. 325–331, 2004.
- [2] S. Brigadoi and R. J. Cooper, “Diffuse Optical Imaging,” pp. 101–134, 2017.
- [3] N. Brew, D. Walker, and F. Y. Wong, “Cerebral vascular regulation and brain injury in preterm infants,” *Am. J. Physiol. Integr. Comp. Physiol.*, vol. 306, no. 11, pp. R773–R786, Jun. 2014.
- [4] C. Matterberger *et al.*, “Blood Glucose and Cerebral Tissue Oxygenation Immediately after Birth—An Observational Study,” *J. Pediatr.*, vol. 200, pp. 19–23, Sep. 2018.
- [5] K. D. Liem and G. Greisen, “Monitoring of cerebral haemodynamics in newborn infants,” *Early Hum. Dev.*, vol. 86, no. 3, pp. 155–158, Mar. 2010.
- [6] A. Galderisi *et al.*, “Continuous Glucose Monitoring in Very Preterm Infants: A Randomized Controlled Trial,” *Pediatrics*, vol. 140, no. 4, pp. 1–10, Oct. 2017.
- [7] M. Garg and S. U. Devaskar, “Glucose Metabolism in the Late Preterm Infant,” *Clinics in Perinatology*, vol. 33, no. 4, pp. 853–870, 2006.
- [8] L. Skov, “Capillary Recruitment for Preserving of Cerebral Glucose Influx in Hypoglycemic, Preterm Newborns: Evidence for a Glucose Sensor?,” *Pediatrics*, vol. 90, no. 2, pp. 193–195, 1992.
- [9] G. Greisen, “Compensatory Increase of CBF in Preterm Infants during Hypoglycaemia,” *Acta Paediatr Scand*, vol. 77, pp. 632–637, 1988.
- [10] N. T. Chiu, C. C. Huang, Y. C. Chang, C. H. Lin, W. J. Yao, and C. Y. Yu, “Technetium-99m-HMPAO brain SPECT in neonates with hypoglycemic encephalopathy,” *J. Nucl. Med.*, vol. 39, no. 10, pp. 1711–1713, 1998.
- [11] P. Adolfsson, D. Rentoul, B. Klinkenbijn, and C. G. Parkin, “Hypoglycaemia Remains the Key Obstacle to Optimal Glycaemic Control – Continuous Glucose Monitoring is the Solution,” *Eur. Endocrinol.*, vol. 14, no. 2, p. 50, 2018.
- [12] L. Thomson, D. Elleri, S. Bond, J. Howlett, D. B. Dunger, and K. Beardsall, “Targeting glucose control in preterm infants: pilot studies of continuous glucose monitoring,” *Arch. Dis. Child. - Fetal Neonatal Ed.*, Sep. 2018.

- [13] C. J. D. McKinlay, J. G. Chase, J. Dickson, D. L. Harris, J. M. Alsweiler, and J. E. Harding, “Continuous glucose monitoring in neonates: a review,” *Matern. Heal. Neonatol. Perinatol.*, vol. 3, no. 18, pp. 1–9, Dec. 2017.
- [14] A. Galderisi *et al.*, “Long-term continuous monitoring of the preterm brain with diffuse optical tomography and electroencephalography: a technical note on cap manufacturing,” *Neurophotonics*, vol. 3, no. 4, pp. 1–7, Dec. 2016.
- [15] H. R. Heekeren *et al.*, “Cerebral haemoglobin oxygenation during sustained visual stimulation – a near-infrared spectroscopy study,” *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.*, vol. 352, no. 1354, pp. 743–750, Jun. 1997.
- [16] P. Zaramella *et al.*, “Brain Auditory Activation Measured by Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) in Neonates,” *Pediatr. Res.*, vol. 49, no. 2, pp. 213–219, Feb. 2001.
- [17] M. Okamoto, M. Matsunami, H. Dan, T. Kohata, K. Kohyama, and I. Dan, “Prefrontal activity during taste encoding: An fNIRS study,” *Neuroimage*, vol. 31, no. 2, pp. 796–806, Jun. 2006.
- [18] M. A. Franceschini, S. Fantini, J. H. Thompson, J. P. Culver, and D. A. Boas, “Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging,” *Psychophysiology*, vol. 40, no. 4, pp. 548–560, Jul. 2003.
- [19] W. N. J. M. Colier, V. Quaresima, B. Oeseburg, and M. Ferrari, “Human motor-cortex oxygenation changes induced by cyclic coupled movements of hand and foot,” *Exp. Brain Res.*, vol. 129, no. 3, pp. 0457–0461, Nov. 1999.
- [20] T. Takeuchi, K. L. Sakai, and H. Sato, “Temporal cortex activation during speech recognition: an optical topography study,” *Cognition*, vol. 73, no. 3, pp. B55–B66, 1999.
- [21] A. . Fallgatter, M. Roesler, L. Sitzmann, A. Heidrich, T. . Mueller, and W. . Strik, “Loss of functional hemispheric asymmetry in Alzheimer’s dementia assessed with near-infrared spectroscopy,” *Cogn. Brain Res.*, vol. 6, no. 1, pp. 67–72, Jul. 1997.
- [22] B. G. Sood, K. McLaughlin, and J. Cortez, “Near-infrared spectroscopy: Applications in neonates,” *Semin. Fetal Neonatal Med.*, vol. 20, no. 3, pp. 164–172, Jun. 2015.
- [23] C. Terborg, S. Bramer, S. Harscher, M. Simon, and O. W. Witte, “Bedside assessment of cerebral perfusion reductions in patients with acute ischaemic stroke by near-infrared spectroscopy and indocyanine green.,” *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, vol. 75, no. 1, pp. 38–42, Jan. 2004.

- [24] T. Suto, M. Fukuda, M. Ito, T. Uehara, and M. Mikuni, “Multichannel near-infrared spectroscopy in depression and schizophrenia: cognitive brain activation study,” *Biol. Psychiatry*, vol. 55, no. 5, pp. 501–511, Mar. 2004.
- [25] I. Miyai *et al.*, “Cortical Mapping of Gait in Humans: A Near-Infrared Spectroscopic Topography Study,” *Neuroimage*, vol. 14, no. 5, pp. 1186–1192, Nov. 2001.
- [26] T. J. Huppert, S. G. Diamond, M. A. Franceschini, and D. A. Boas, “HomER: a review of time-series analysis methods for near-infrared spectroscopy of the brain,” *Appl. Opt.*, vol. 48, no. 10, pp. D280–D298, 2009.
- [27] S. Brigadoi *et al.*, “Motion artifacts in functional near-infrared spectroscopy: A comparison of motion correction techniques applied to real cognitive data,” *Neuroimage*, vol. 85, no. 11, pp. 181–191, Jan. 2014.
- [28] B. Molavi and G. A. Dumont, “Wavelet-based motion artifact removal for functional near-infrared spectroscopy,” *Physiol. Meas.*, vol. 33, no. 2, pp. 259–270, 2012.
- [29] H. Singh *et al.*, “Mapping cortical haemodynamics during neonatal seizures using diffuse optical tomography: A case study,” *NeuroImage Clin.*, vol. 5, pp. 256–265, 2014.
- [30] M. D. Pfeifer, F. Scholkmann, and R. Labruyère, “Signal Processing in Functional Near-Infrared Spectroscopy (fNIRS): Methodological Differences Lead to Different Statistical Results,” *Front. Hum. Neurosci.*, vol. 11, pp. 1–12, Jan. 2018.
- [31] L. Hocke, I. Oni, C. Duszynski, A. Corrigan, B. Frederick, and J. Dunn, “Automated Processing of fNIRS Data—A Visual Guide to the Pitfalls and Consequences,” *Algorithms*, vol. 11, no. 5, pp. 1–25, May 2018.
- [32] F. Scholkmann, S. Spichtig, T. Muehlemann, and M. Wolf, “How to detect and reduce movement artifacts in near-infrared imaging using moving standard deviation and spline interpolation,” *Physiol. Meas.*, vol. 31, no. 5, pp. 649–662, May 2010.
- [33] R. J. Cooper *et al.*, “A systematic comparison of motion artifact correction techniques for functional near-infrared spectroscopy,” *Front. Neurosci.*, vol. 6, no. OCT, pp. 1–10, 2012.
- [34] M. Izzetoglu, A. Devaraj, S. Bunce, and B. Onaral, “Motion Artifact Cancellation in NIR Spectroscopy Using Wiener Filtering,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 52, no. 5, pp. 934–938, May 2005.
- [35] M. Izzetoglu, P. Chitrapu, S. Bunce, and B. Onaral, “Motion artifact cancellation in NIR spectroscopy using discrete Kalman filtering,” *Biomed. Eng. Online*, vol. 9, no. 16, pp. 1–10, 2010.

- [36] X. Cui, S. Bray, and A. L. Reiss, “Functional near infrared spectroscopy (NIRS) signal improvement based on negative correlation between oxygenated and deoxygenated hemoglobin dynamics,” *Neuroimage*, vol. 49, no. 4, pp. 3039–3046, Feb. 2010.
- [37] M. A. Yücel, J. Selb, R. J. Cooper, and D. A. Boas, “Targeted principle component analysis: A new motion artifact correction approach for near-infrared spectroscopy,” *J. Innov. Opt. Health Sci.*, vol. 07, no. 02, pp. 1–8, 2014.
- [38] Q. Zhang, G. E. Strangman, and G. Ganis, “Adaptive filtering to reduce global interference in non-invasive NIRS measures of brain activation: How well and when does it work?,” *Neuroimage*, vol. 45, no. 3, pp. 788–794, Apr. 2009.
- [39] H. Santosa, M. Jiyoun Hong, S. Kim, and K. Hong, “Noise reduction in functional near-infrared spectroscopy signals by independent component analysis,” *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 84, no. 7, pp. 1–9, Jul. 2013.
- [40] T. Hiroyasu, Y. Nakamura, and H. Yokouchi, “Method for removing motion artifacts from fNIRS data using ICA and an acceleration sensor,” in *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS*, 2013, pp. 6800–6803.
- [41] S. Shalev-Shwartz and S. Ben-David, *Understanding Machine Learning*, no. 7. Cambridge: Cambridge University Press, 2014.
- [42] Yuchun Tang, Yan-Qing Zhang, N. V. Chawla, and S. Krasser, “SVMs Modeling for Highly Imbalanced Classification,” *IEEE Trans. Syst. Man, Cybern. Part B*, vol. 39, no. 1, pp. 281–288, Feb. 2009.
- [43] V. S. Chouhan and S. S. Mehta, “Total Removal of Baseline Drift from ECG Signal,” in *2007 International Conference on Computing: Theory and Applications (ICCTA'07)*, 2007, pp. 512–515.
- [44] K. Zhao, Y. Ji, Y. Li, and T. Li, “Online Removal of Baseline Shift with a Polynomial Function for Hemodynamic Monitoring Using Near-Infrared Spectroscopy,” *Sensors*, vol. 18, no. 312, pp. 1–10, Jan. 2018.
- [45] S. Shin, K. Kim, C. Song, J. Lee, J.-H. Kim, and G.-W. Jeung, “Removal of baseline wandering in ECG signal by improved detrending method,” *Biomed. Mater. Eng.*, vol. 26, no. s1, pp. S1087–S1093, Aug. 2015.
- [46] Z. M. Zhang, S. Chen, and Y. Z. Liang, “Baseline correction using adaptive iteratively reweighted penalized least squares,” *Analyst*, vol. 135, no. 5, pp. 1138–1146, 2010.

- [47] A. M. Chiarelli, E. L. Maclin, M. Fabiani, and G. Gratton, “A kurtosis-based wavelet algorithm for motion artifact correction of fNIRS data,” *Neuroimage*, vol. 112, pp. 128–137, 2015.
- [48] F. Scholkmann and M. Wolf, “General equation for the differential pathlength factor of the frontal human head depending on wavelength and age,” *J. Biomed. Opt.*, vol. 18, no. 10, pp. 1–6, 2013.
- [49] A. G. Asuero, A. Sayago, and A. G. González, “The Correlation Coefficient: An Overview,” *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 36, no. 1, pp. 41–59, Jan. 2006.
- [50] B. Buckingham, “Clinical Overview of Continuous Glucose Monitoring,” *J. Diabetes Sci. Technol.*, vol. 2, no. 2, pp. 300–306, Mar. 2008.
- [51] G. Schmelzeisen-Redeker, A. Staib, M. Strasser, U. Müller, and M. Schoemaker, “Overview of a Novel Sensor for Continuous Glucose Monitoring,” *J. Diabetes Sci. Technol.*, vol. 7, no. 4, pp. 808–814, Jul. 2013.