ALMA MATER STUDIORUM – UNIVERSITÀ DI BOLOGNA CAMPUS DI CESENA SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

EFFETTI DI AMBIENTI DI REALTÀ VIRTUALE SULLA VARIABILITÀ DELLA FREQUENZA CARDIACA

Elaborato in

Strumentazione biomedica

Relatore

Presentato da

Prof.ssa Elisa Magosso

Fabian Cneazovici

Correlatore

Prof.ssa Francesca De Crescenzio

ANNO ACCADEMICO 2017/2018

Sommario

INTRODUZIONE		
CAPITOLO 1		
LA FREQUENZA CARDIACA: MECCANISMI DI REGOLAZIONE E HEART RATE VARIABILITY		
1.1 IL CICLO CARDIACO, LA FREQUENZA CARDIACA E IL SEGNALE ELETTROCARDIOGRAFICO 7		
1.1.1 Pacemaker, conduzione cardiaca e segnale ECG7		
1.1.2 Il ciclo cardiaco		
1.2 LA REGOLAZIONE AUTONOMICA DELLA FREQUENZA CARDIACA		
I.3 LA VARIABILITA DELLA FREQUENZA CARDIACA (HEART RATE VARIABILITY)		
1.4 IL TACOGRAMMA		
1.5 IMPORTANZA CLINICA DELLA HEART RATE VARIABILITY		
1.6 METODI DI ANALISI DELLA HEART RATE VARIABILITY		
1.6.1 Analisi nel dominio delle frequenze		
1.6.2 Analisi nel dominio dei tempi 23		
CAPITOLO 2		
DESCRIZIONE DELL'ESPERIMENTO NELL'AMBIENTE DI REALTÀ VIRTUALE25		
2.1 Soggetti partecipanti all'esperimento		
2.2 STRUMENTAZIONE UTILIZZATA PER L'ACQUISIZIONE DEI SEGNALI		
2.3 GLI INTERNI DELLE CABINE PASSEGGERI REALIZZATI MEDIANTE REALTÀ VIRTUALE		
2.4 FASI DELL'ESPERIMENTO		
CAPITOLO 3		
IL SOFTWARE ARTIIFACT PER L'ELABORAZIONE DELLA FREQUENZA CARDIACA E		
L'ANALISI DELLA HEART RATE VARIABILITY		
3.1 Pre-elaborazione del segnale ECG acquisito negli esperimenti di Realtà Virtuale		
3.2 I MODULI DI ELABORAZIONE DI ARTIIFACT		
3.3 EXTRACT IBIS FROM ECG DATA		
3.4 DETECT AND PROCESS ARTIFACTS IN IBI DATA		
3.5 ANALYSE HRV		
3.6 TEST FOR NORMAL DISTRIBUTION		
3.7 ALTRI SOFTWARE PER L'ANALISI DELLA HRV		
ANALISI DELLA HEART RATE VARIABILITY NEGLI ESPERIMENTI DI REALTA VIRTUALE		
A_1 DESCRIZIONE DEI PASSI DI ELABORAZIONE DI ADTIEACT ADDITICATI AL SECNALI ECC		
THE DESCRIPTIONE DELTASSED ELADORAZIONE DE ARTIFACE APPLICATE AL SEGNALE EUS ACOMISITEMENTE DE SECONDENTE DE LA TÀ VIDTUALE 04		
AUQUISITT NEGLI ESTEKTIVIENTI DI NEALTA VIKTUALE		

4.1.1	Estrazione del tacogramma	84	
4.1.2	Rimozione degli artefatti dal tacogramma	87	
4.1.3	Analisi della heart rate variability (HRV)	87	
4.2	ESTRAZIONE IN MATLAB DEI RISULTATI OTTENUTI CON ARTIIFACT		
4.3	RAPPRESENTAZIONE GRAFICA DEI VALORI DI HRV OTTENUTI NEGLI	ESPERIMENTI DI	
REALTÀ	VIRTUALE E TEST STATISTICI	90	
CONCLU	SIONI		
RIFERIMENTI			

Introduzione

Con variabilità della frequenza cardiaca (più comunemente nota come Heart Rate Variability, HRV) ci si riferisce ad un'irregolarità nel normale ritmo cardiaco sinusale, il che significa che gli intervalli tra battiti cardiaci consecutivi non sono costanti, ma variano continuamente da un battito all'altro. Tale variabilità del periodo cardiaco (e quindi della frequenza cardiaca) è dovuta al controllo esercitato da un complesso sistema di meccanismi di regolazione dell'attività cardiaca, che includono l'integrazione di segnali afferenti provenienti da neuroni sensibili a stimoli meccanici e chimici, il sistema di controllo respiratorio, nonché influenze dirette da regioni corticali. Tale controllo dell'attività cardiaca viene esplicato dal sistema nervoso autonomo attraverso l'intervento simultaneo delle sue due branche, il sistema nervoso simpatico e parasimpatico, avendo come risultato un equilibrio dinamico tra questi due sistemi. Quindi le fluttuazioni che si riscontrano nella frequenza cardiaca riflettono il controllo mediato da parte delle due branche del sistema nervoso autonomo. Di conseguenza la HRV è anche un indicatore della funzionalità di tale sistema nervoso.

Uno dei principali metodi adottati per lo studio della HRV è l'analisi nel dominio delle frequenze, più precisamente l'analisi della densità spettrale di potenza, che fornisce la distribuzione di potenza in funzione della frequenza, e dalla quale è possibile ricavare la potenza in specifiche bande di frequenza. Le bande più utilizzate nella analisi della HRV sono due. La banda High Frequency (HF) è compresa nell'intervallo 0.15 - 0.4 Hz e riflette principalmente l'attività del sistema nervoso parasimpatico. La banda Low Frequency (LF) è compresa nell'intervallo 0.04 - 0.15 Hz, e riflette l'attività sia del sistema simpatico che del parasimpatico principalmente mediata dall'intervento dei barocettori (neuroni sensibili a variazioni di pressione). La distribuzione della potenza nelle due bande varia a seconda di stati emotivi, di attenzione e di sollecitazione del soggetto, generalmente con un aumento della potenza nella banda LF e diminuzione nella banda HF in presenza di stati di aumentata attenzione, eccitazione, coinvolgimento.

In questo lavoro di tesi ci si è concentrati sullo studio della HRV di soggetti immersi in ambienti di realtà virtuale allo scopo di investigare sia se tale immersione possa avere degli effetti sulla HRV, più precisamente sulla distribuzione di potenza nelle bande LF e

HF, sia se nei soggetti siano osservabili variazioni di tali parametri che possano riflettere un diverso livello di gradimento/attenzione/coinvolgimento in presenza di ambienti virtuali differenti.

Questo lavoro di tesi si colloca nell'ambito di un progetto (CASTLE, acronimo di "CAbin Systems design Toward passenger welLbEing") finanziato dalla Comunità Europea, al quale partecipano docenti di Ingegneria Aerospaziale, docenti di Ingegneria Biomedica e docenti di Neuropsicologia (Università di Bologna-Campus di Cesena e Campus di Forlì). Tale progetto si pone – tra le altre cose – l'obiettivo di investigare se sia possibile ottenere, attraverso misure di parametri fisiologici, valutazioni oggettive del livello di gradimento, coinvolgimento, comfort di un soggetto all'interno della cabina passeggeri di un'areo e se cabine differenti (ad esempio nei materiali, colori, organizzazione degli spazi, etc.) possano dare origine a differenze nei parametri fisiologici misurati (sottintendendo dunque effetti differenti sul soggetto). Nell'ambito di tale progetto, è stato dunque ideato un esperimento che prevede l'utilizzo di due ambienti di realtà virtuale (due cabine passeggeri) nel quale viene immerso il soggetto. Per riuscire ad evidenziare la variazione nella distribuzione di potenza una volta che il soggetto si trova immerso nella realtà virtuale, tale immersione è preceduta da una fase a realtà virtuale spenta seguita dunque dall'immersione nell'ambiente virtuale. Dato che l'esperimento prevede l'utilizzo di due ambienti virtuali, questa prima fase iniziale di realtà virtuale spenta è prevista per entrambi gli ambienti. Complessivamente sono stati coinvolti in questo esperimento trenta soggetti.

L'esperimento prevede l'acquisizione sia di segnali elettroencefalografici (EEG) sia di segnali elettrocardiografici (ECG). Durante questo lavoro ci si è concentrati solo sul segnale ECG, dal quale è stato estratto il tacogramma, necessario per l'analisi spettrale della HRV. In particolare, il tacogramma è la serie temporale degli intervalli battito-battito o intervalli RR, e si ricava dal segnale ECG grazie a degli algoritmi software di riconoscimento dei picchi R del complesso QRS (complesso che si osserva nel segnale ECG ad ogni battito cardiaco).

Per l'estrazione del tacogramma dal segnale ECG è stato utilizzato un software dedicato, stand-alone e disponibile gratuitamente in rete: ARTiiFACT. Tale software, oltre a consentire l'estrazione del tacogramma, consente anche di rilevare eventuali artefatti presenti nel tacogramma e di rimuoverli. Inoltre, fornisce gli strumenti in grado di

eseguire un'analisi nel dominio delle frequenze del tacogramma, ovvero in grado di svolgere l'analisi della HRV, fornendo quindi i valori di potenza nelle bande LF ed HF.

Dal punto di vista pratico quindi, questo lavoro di tesi è consistito nell'applicazione del software ARTiiFACT ai segnali ECG dei trenta soggetti che hanno partecipato all'esperimento, con l'obiettivo di estrarre il tacogramma e di eseguire l'analisi della HRV, ricavando i valori di potenza nelle bande LF e HF e il loro rapporto. In questo modo, si è voluto investigare se e come la distribuzione di potenza in queste due bande cambi passando dalla fase di assenza di realtà virtuale alla fase di immersione negli ambienti virtuali utilizzati, e se vi siano differenze nei due diversi ambienti utilizzati che possano essere legate allo stato emotivo del soggetto.

Il lavoro si articola in quattro capitoli.

Nel **primo capitolo** vengono descritti i meccanismi fisiologici che stanno alla base della generazione del segnale ECG. Quindi viene introdotta l'Heart Rate Variability e i meccanismi che la generano, evidenziando come essa dipenda dall'interazione tra il sistema simpatico e parasimpatico nei processi di regolazione dell'attività cardiaca.

Nel **secondo capitolo** viene descritto l'esperimento di realtà virtuale. In particolare, vengono illustrati gli strumenti utilizzati per la realizzazione degli ambienti virtuali e il sistema utilizzato per le acquisizioni dei segnali EEG ed ECG. Inoltre, vengono descritte le varie fasi in cui si articola l'esperimento.

Il **terzo capitolo** è dedicato alla descrizione del software ARTiiFACT, un software, come già detto, license-free per l'elaborazione del segnale ECG e l'analisi della HRV. Viene descritta l'organizzazione in moduli del software e vengono descritte in dettaglio le operazioni svolte da ogni singolo modulo, partendo dall'estrazione automatica degli intervalli battito-battito dall'ECG (sulla base dei picchi R), passando quindi alla detezione di artefatti nel tacogramma precedentemente individuato, per concludere con l'analisi del tacogramma sia nel dominio dei tempi che nel dominio delle frequenze, ottenendo in particolare i valori di potenza nelle bande LF ed HF. A fine capitolo è stato anche fatto il paragone con altri software simili ad ARTiiFACT (ovvero dedicati all'analisi dell'HRV) giustificando la scelta dell'uso di questo software rispetto ad altri. Sono state anche evidenziate alcune e problematiche pratiche.

Il **quarto capitolo** descrive dapprima l'applicazione del software ARTiiFACT ai tracciati ECG acquisiti durante l'esperimento. In particolare, rilevante è stata la suddivisione del tracciato ECG in porzioni corrispondenti alle varie fasi dell'acquisizione (questo per poter confrontare fasi con realtà virtuale accesa rispetto a fasi con realtà virtuale spenta) e l'applicazione del software ARTiiFACT separatamente a ciascuna di queste porzioni. Quindi vengono illustrati i risultati dell'analisi dell'HRV attraverso la loro visualizzazione mediante diversi grafici realizzati in Matlab, e attraverso l'uso di test statistici, e viene avanzata una loro possibile interpretazione.

Capitolo 1

La Frequenza Cardiaca: Meccanismi di Regolazione e Heart Rate Variability

1.1 Il ciclo cardiaco, la frequenza cardiaca e il segnale elettrocardiografico

1.1.1 Pacemaker, conduzione cardiaca e segnale ECG

Nel cuore sono presenti cellule autoritmiche, dette anche pacemaker, che sono in grado di generare autonomamente potenziali d'azione, i quali si propagano nel cuore sia attraverso le fibre muscolari che attraverso un sistema di conduzione specializzato costituito da fibre autoritmiche non contrattili.

Il nodo senoatriale, costituito da cellule autoritmiche e localizzato nell'atrio destro, rappresenta il principale pacemaker del cuore. La depolarizzazione inizia infatti dal nodo senoatriale, dal quale l'onda di depolarizzazione si propaga verso i ventricoli attraverso le fibre muscolari degli atri e attraverso un sistema di conduzione specifico, chiamato via internodale che collega il nodo senoatriale al nodo atrioventricolare, un secondo gruppo di cellule autoritmiche situato vicino al pavimento dell'atrio destro. Dal nodo atrioventricolare, l'onda di depolarizzazione percorre il setto interventricolare attraverso il fascio atrioventricolare e le branche del fascio, dirigendosi verso l'apice del cuore, dove le branche del fascio si dividono in fibre di Purkinje sempre più piccole. Tale fibre risalgono verso la base del cuore, diramandosi tra le cellule contrattili dei ventricoli. In tal modo l'onda di depolarizzazione nei ventricoli si propaga dall'apice verso la base del cuore [4]. Nella figura 1 viene mostrato l'intero percorso dell'onda di depolarizzazione attraverso il cuore durante un ciclo cardiaco.



Figura 1 L'onda di depolarizzazione viene generata nel nodo SA e si propaga velocemente verso il nodo AV attraverso le vie internodali, attraversando anche le fibre muscolari degli atri. Poi si dirige verso l'apice del cuore percorrendo il setto intraventricolare attraverso il fascio di His e le due branche del fascio per poi risalire verso la base del cuore attraverso le fibre di Purkinje. Tratto da [1].

In ogni istante di tempo l'attività elettrica risultante del cuore può essere rappresentata con un vettore flusso di corrente elettrica, che varia di direzione e verso durante il ciclo cardiaco.

L'attività elettrica del cuore viene registrata usando coppie di elettrodi di superficie che vengono posizionati in vari punti del corpo. In ogni coppia di elettrodi, uno agisce come elettrodo positivo mentre il secondo agisce come elettrodo negativo e la linea che congiunge i due elettrodi prende il nome di derivazione. Le registrazioni dell'attività elettrica del cuore prende il nome di elettrocardiogrammi o tracciati ECG. La direzione delle deflessioni del tracciato ECG indica la relazione fra il verso del vettore flusso di corrente elettrica e la derivazione. Nel caso in cui la proiezione del vettore sulla derivazione è diretta verso l'elettrodo positivo si avrà una deflessione del vettore è diretta verso l'elettrodo negativo. Quando il vettore flusso di corrente elettrica è diretto perpendicolarmente alla derivazione, il tracciato ECG non subisce nessuna deflessione.

Immaginando di registrare il tracciato ECG usando le 12 derivazioni standard, il tracciato ECG si presenterebbe come nella figura 2 in alto. La prima onda è l'onda P, che corrisponde alla depolarizzazione degli atri. Segue poi il complesso QRS che comprende

la depolarizzazione ventricolare e la ripolarizzazione atriale. Infine, l'onda T rappresenta la ripolarizzazione dei ventricolari [4].

Dal tracciato ECG si ricava il periodo cardiaco, come l'intervallo temporale tra due picchi R successivi. Il periodo cardiaco viene usato per determinare la frequenza cardiaca, come l'inverso del periodo cardiaco, e per ricavare la Heart Rate Variability (HRV).



Figura 2 Considerando le derivazioni sopra citate, il tracciato rappresenta la somma di quello che viene registrato su ogni singola derivazione. Tratto da <u>www.MyPersonalTrainer.com</u>.



Nella figura 3 invece viene riportato il tracciato ECG in corrispondenza di ogni evento della conduzione elettrica.

Figura 3 Ogni evento elettrico che avviene nel cuore, rappresentato in basso viene fatto corrispondere con una precisa parte del complesso PQRST. Tratto da [1].

L'onda di depolarizzazione viene seguita da un'onda di contrazione. Dato il percorso seguito dall'onda di depolarizzazione, dapprima si contraggono gli atri, dall'alto verso il basso, spingendo il sangue nei ventricoli. Successivamente si contraggono i ventricoli, dal basso verso l'alto spingendo il sangue nell'aorta e nell'arteria polmonare. Le varie fasi di contrazione e rilasciamento vengono racchiuse nel ciclo cardiaco.

1.1.2 Il ciclo cardiaco

Ogni ciclo cardiaco ha due fasi: la diastole, il periodo di tempo durante il quale il muscolo cardiaco si rilascia, e la sistole, il periodo di tempo durante in quale il muscolo si contrae. Gli atri, le due camere poste nella parte superiore del cuore, e i ventricoli, le due camere poste nella parte inferiore del cuore, non si contraggono simultaneamente [4]. Nella figura 4 si vede come le fasi di diastole e sistole atriale e ventricolare si sovrappongono durante il ciclo cardiaco.

Le fasi del ciclo cardiaco:

- 1. Diastole atriale e ventricolare;
- 2. Sistole atriale;
- 3. Contrazione ventricolare isovolumica;
- 4. Eiezione ventricolare;
- 5. Rilasciamento ventricolare isovolumico.

1. Diastole atriale e ventricolare.

Durante questa fase gli atri si riempiono di sangue proveniente dalle vene, mentre i ventricoli hanno appena completato la contrazione e iniziano il rilasciamento. Quando la pressione ventricolare diventa minore della pressione negli atri, le valvole atrioventricolari tra atri e ventricoli si aprono, lasciando fluire il sangue, secondo gradiente di pressione, all'interno dei ventricoli [4].

2. Sistole atriale.

Con la sistole atriale, quindi con la contrazione del muscolo cardiaco degli atri, viene completato il riempimento dei ventricoli. L'aumento di pressione all'interno degli atri, a causa della contrazione muscolare, spinge il sangue nei ventricoli [4].

3. Contrazione ventricolare isovolumica.

Mentre gli atri si contraggono l'onda di depolarizzazione si muove lentamente attraverso le cellule di conduzione del nodo atrioventricolare, poi rapidamente lungo il fascio atrioventricolare, le branche del fascio fino all'apice del cuore per poi risalire lungo i ventricoli attraverso le fibre di Purkinje. Inizia così la sistole ventricolare, che spinge il sangue contro la faccia inferiore delle valvole atrioventricolari, chiudendole. La pressione ventricolare non è ancora abbastanza elevata da aprire le valvole semilunari, poste tra ventricolo sinistro e aorta e tra ventricolo destro e arteria polmonare, quindi la pressione continua ad aumentare a parità di volume, motivo per il quale questa fase viene chiamata contrazione isovolumica.

Durante questa fase si ha anche la ripolarizzazione e rilasciamento degli atri. Quando la pressione atriale scende al di sotto della pressione nelle vene, il flusso di sangue riprende dalle vene agli atri. Essendo le valvole atrioventricolari chiuse, il riempimento atriale è totalmente indipendente dagli eventi che hanno luogo nei ventricoli [4].

4. Eiezione ventricolare

Con il prolungarsi della contrazione, la pressione ventricolare aumenta fino a superare la pressione nell'aorta e nell'arteria polmonare, determinando l'apertura delle valvole semilunari e l'eiezione del sangue dai ventricoli che si muove secondo gradiente di pressione.

Durante questa fase le valvole atrioventricolari rimangono chiuse e gli atri continuano il riempimento [4].

5. Rilasciamento ventricolare isovolumico.

Alla fine dell'eiezione ventricolare, i ventricoli iniziano a ripolarizzarsi e si rilasciano e di conseguenza la pressione ventricolare diminuisce. Quando la pressione ventricolare scende al di sotto della pressione nell'aorta e nell'arteria polmonare, il sangue inizia a refluire verso il cuore, determinando la chiusura delle rispettive valvole semilunari. Il rilasciamento continua con entrambe le valvole chiuse, quindi a volume costante [4].



Figura 4 Vengono illustrate brevemente le varie fasi del ciclo cardiaco e come la sistole e la diastole atriale e ventricolare si sovrappongono durante tale ciclo. Tratto da <u>www.iisfalcone-righi.it</u>.

1.2 La regolazione autonomica della frequenza cardiaca

Il controllo dell''attività cardiaca viene mediato attraverso l'intervento simultaneo del sistema nervoso simpatico e parasimpatico o vago (le due branche del sistema nervoso autonomo) e il risultato di tale mediazione è un equilibrio dinamico tra i due sistemi. Il sistema parasimpatico innerva il nodo senoatriale, il nodo atrioventricolare e il muscolo cardiaco degli atri. Un aumento dell'attività parasimpatica riduce la frequenza di generazione dei potenziali d'azione nel nodo senoatriale e atrioventricolare, che si traduce in una diminuzione della frequenza cardiaca. Viceversa, una diminuzione dell'attività vagale determina un incremento della frequenza cardiaca. L'effetto della stimolazione parasimpatica è molto rapido (< 1 s): una stimolazione vagale dà origine a una risposta che si manifesta tipicamente nello stesso ciclo cardiaco in cui si è verificata la stimolazione.

I nervi efferenti del sistema simpatico innervano anch'essi il nodo senoatriale e atrioventricolare e le fibre muscolari del cuore. Al contrario del sistema parasimpatico,

un aumento dell'attività simpatica aumenta la frequenza di generazione dei potenziali d'azione nel nodo senoatriale e atrioventricolare, aumentando così la frequenza cardiaca. Inoltre, a differenza del sistema parasimpatico, che induce una risposta quasi istantanea, l'intervento del sistema simpatico è caratterizzato da un ritardo di circa 5 secondi prima che la stimolazione si traduca in un progressivo aumento della frequenza cardiaca, arrivando ad un valore stabile dopo 20-30 secondi [1].

In un individuo sano, la frequenza cardiaca stimata in ogni istante di tempo riflette l'effetto netto dell'attività del sistema parasimpatico, che tende a rallentarla, e del sistema simpatico, che tende ad accelerarla. A riposo, sia i nervi simpatici che parasimpatici hanno un'attività tonica, con un predominio dell'attività parasimpatica, avendo come risultato una frequenza cardiaca media pari a circa 75 battiti al minuto (bpm). Tale valore medio in realtà è minore rispetto alla frequenza di generazione intrinseca dei potenziali d'azione del nodo senoatriale, il principale pacemaker dell'organismo, la quale è mediamente di 107 bpm a 20 anni, valore che decresce con l'avanzare dell'età. Tale diminuzione della frequenza cardiaca, rispetto a quella intrinseca, rispecchia il predominio dell'attività parasimpatica su quella simpatica quando il soggetto si trova in condizioni di riposo [1].

Il principale centro di controllo simpatico e parasimpatico della frequenza cardiaca è localizzato in una regione specializzata della medulla (o midollo allungato) situata nel tronco encefalico. Il sistema nervoso autonomo simpatico e parasimpatico può essere attivato in maniera riflessa (cioè senza coinvolgere livelli superiori della corteccia cerebrale) attraverso input interni provenienti da sensori presenti nei vasi, nel cuore e nei polmoni mediante un complesso meccanismo di feedback di segnali afferenti-efferenti. Inoltre, il sistema autonomo può anche essere attivato attraverso segnali provenienti da regioni di più alto livello della corteccia e inviati verso le regioni sotto-corticali (in particolare verso il midollo allungato) [1,2]. La figura 5 illustra le vie di comunicazione cuore-cervello alla base della regolazione della frequenza cardiaca.



Figura 5 Il sistema nervoso intrinseco del cuore integra informazioni provenienti dal sistema nervoso estrinseco (medulla, situata nel cervello, e ganglio cardiaco, situato nella cavità toracica) e dai neuroni sensoriali (barocettori e chemiocettori) presenti nel cuore. Con la mediazione delle due branche del sistema nervoso autonomo, il sistema nervoso intrinseco del cuore regola l'attività del nodo senoatriale, atrioventricolare e dei muscoli presenti nel cuore. Tratto da [1].

Vi sono diversi tipi di riflessi che inducono effetti cronotropici (ovvero che modificano la frequenza cardiaca) attraverso incrementi o decrementi dell'attività simpatica e parasimpatica. Alcuni di questi coinvolgono i barocettori, ovvero recettori sensibili alla pressione arteriosa, presenti nell'arco aortico, nel seno carotideo e nelle camere cardiache. Altri riflessi coinvolgono i chemiocettori, ovvero recettori sensibili al contenuto arterioso di ossigeno e anidride carbonica, anch'essi presenti nell'arco aortico e nel seno carotideo. Le informazioni dai chemiocettori e barocettori raggiungono, attraverso le vie afferenti, il centro di controllo cardiovascolare situato nel tronco encefalico il quale modula l'attività del sistema nervoso simpatico e parasimpatico verso il cuore e i vasi sanguigni. La stimolazione simpato-vagale ha effetto sulla venocostrizione, vasocostrizione, sulla contrattilità cardiaca e sulla frequenza cardiaca allo scopo di mantenere i livelli di pressione arteriosa e di flusso sanguigno adeguati alle esigenze metaboliche di ciascun organo e tessuto [1,2].

Un altro meccanismo riflesso è legato alla respirazione, e dà origine alla cosiddetta *respiratory sinus arrhythmia*; è dovuto alla presenza di recettori di stiramento polmonare. La *respiratory sinus arrhythmia* è una aritmia fisiologica associata a una sincronia tra la frequenza respiratoria e la frequenza cardiaca, in cui gli intervalli battito-battito si accorciano durante la fase di ispirazione e si allungano durante la fase di espirazione come conseguenza di variazioni dell'attività efferente vagale [2].

Inoltre, anche stati mentali che influenzano l'attività in regioni corticali (in particolare frontali e post-centrali) quali stati di stress, ansia, paura, attenzione, coinvolgimento, meditazione, hanno effetti sulla frequenza cardiaca attraverso segnali discendenti inviati da regioni di più alto livello della corteccia verso il centro di controllo cardiovascolare nel tronco encefalico [1,2].

1.3 La variabilità della frequenza cardiaca (Heart Rate Variability)

Con l'introduzione delle tecniche di elaborazione dei segnali, che hanno consentito di acquisire ed elaborare serie temporali continue riguardanti processi fisiologici, come la pressione arteriosa, la frequenza cardiaca (la grandezza di interesse nel nostro caso), l'attività neurale, è stato evidente che i processi biologici hanno un andamento temporale che varia in maniera complessa e non lineare, anche in condizioni stazionarie. In particolare, è emerso che il normale ritmo cardiaco sinusale è altamente irregolare anche quando ci si trova in condizioni stazionarie. In altre parole, gli intervalli tra battiti cardiaci consecutivi non sono costanti (il cuore sano non è un metronomo), ma variano continuamente da un battito all'altro; a questa variabilità ci si riferisce come **Heart Rate Variability (HRV**). Tali variazioni nella frequenza cardiaca sono dovute al complesso sistema di meccanismi che partecipa alla sua regolazione, come descritto precedentemente, e che include interazione tra il sistema nervoso autonomo, il sistema di controllo respiratorio, l'integrazione con segnali afferenti provenienti da neuroni sensibili a stimoli meccanici e chimici, influenze dirette da regioni corticali. Ognuno di questi contributi induce variazioni nella frequenza cardiaca, creando complessivamente un

sistema di controllo fisiologico dinamico che non è mai a riposo e non è nemmeno statico [1].

1.4 Il tacogramma

Il modo più comune per osservare la variabilità della frequenza cardiaca è il tacogramma, che riporta sull'asse delle ordinate la distanza temporale tra picchi R adiacenti (R-R), cioè l'informazione utile, mentre sull'asse delle ascisse il tempo. Il tacogramma viene ricavato dal tracciato ECG, grazie a degli algoritmi software di riconoscimento dei picchi R del complesso QRS. Inoltre, rappresenta anche il metodo di ottenimento del tacogramma più accurato e usato in ambito clinico. Pertanto, tra le caratteristiche forme d'onda dell'ECG che costituiscono ogni ciclo cardiaco, l'onda R (e più precisamente il suo picco) è generalmente utilizzata per l'estrazione degli intervalli battito-battito. Sarà argomento di un successivo capitolo la descrizione del programma utilizzato per l'estrazione del tacogramma dal segnale ECG, che usa la distanza temporale R-R. Un esempio di estrazione di tacogramma dall'ECG è illustrato in figura 6, insieme al corrispondente segnale di frequenza cardiaca.



Figura 6 Dal tracciato ECG vengono estratti gli intervalli battito-battito (in secondi), cioè gli intervalli temporali (sempre in secondi) tra picchi R successivi (A). Gli intervalli battito-battito vengono poi riportati in un grafico in cui sull'asse delle ascisse c'è il tempo in secondi, mentre sull'asse delle ordinate gli intervalli temporali tra battiti successivi sempre in secondi (B). Sull'asse delle ordinate si possono anche mettere i battiti per minuto usando la formula bpm=60/(R1-R2), dove R1 e R2 sono gli istanti di due picchi R successivi (C). I grafici B e C vanno sotto il nome di tacogrammi. Tratto da [2].

1.5 Importanza clinica della Heart Rate Variability

Clinicamente, un valore ottimale di HRV assicura flessibilità e adattabilità dei sistemi di regolazione cruciali dell'organismo. Troppa instabilità, cioè un'elevata HRV, è dannosa per un efficiente funzionamento fisiologico e utilizzo dell'energia, mentre una variabilità troppo bassa è indice di patologia, questo perché riflette una ridotta capacità di regolazione la quale, come detto in precedenza, rappresenta la capacità di adattamento dell'organismo a situazione diverse, quali esercizio fisico, carico mentale/attentivo o

stress psicologico. Un ridotto valore della variabilità, ad esempio, indica una ridotta capacità di controllo cardiaco e una maggiore probabilità di infarto miocardico. Inoltre, la HRV è stata utilizzata come indicatore predittivo di problemi di salute futuri, ad esempio nel caso dei pazienti diabetici è stato usato per predire neuropatie del sistema autonomo ancora prima che si presentino i sintomi. In generale la HRV può essere usata per predire disfunzioni del sistema nervoso autonomo, inclusi ansia, depressione, asma e morte infantile prematura. Questi sono solo degli esempi delle applicazioni della HRV in ambiente clinico; ci si limita solo a questi pochi esempi significativi e non ci si addentra ulteriormente nell'ambito dell'utilizzo della HRV in clinica poiché esula dallo scopo del presente lavoro.

1.6 Metodi di analisi della Heart Rate Variability

La HRV può essere valutata con diversi metodi analitici: tra i più comuni ci sono l'analisi nel dominio delle frequenze o analisi della densità spettrale di potenza e l'analisi nel dominio dei tempi. Entrambi i metodi prevedono prima di estrarre il tacogramma dall'ECG, individuando gli intervalli battito-battito normali, i cosiddetti normal-to-normal (NN) interbeat intervals (cioè risultanti da depolarizzazione del nodo senoatriale); battiti ectopici, pause compensatorie, artefatti e rumore devono essere esclusi [1,2] e sostituiti mediante appropriata interpolazione sulla base dei battiti precedenti e successivi. Questo è raccomandato anche dalle linee guida sull'Heart Rate Variability pubblicate dalla Task Force dell' The European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology [3].

1.6.1 Analisi nel dominio delle frequenze

L'analisi spettrale di potenza fornisce la distribuzione di potenza in funzione della frequenza e consente di ricavare informazioni riguardanti la frequenza e l'ampiezza (e quindi la potenza) di ogni specifico ritmo presente nella forma d'onda della HRV. Lo spettro di potenza, cioè l'area sottesa dalla curva, viene suddiviso in 4 bande di frequenza:

HF (high-frequency), LF (low-frequency), VLF (very-low-frequency) e ULF (ultra-lowfrequency). Nella figura 7 vengono riportati: una tipica suddivisione del segnale di HRV originale (cioè il segnale di HR istantaneo in funzione del tempo) nelle bande VLF, LF e HF, la densità spettrale di potenza e la potenza normalizzata in ciascuna delle tre bande.



Figura 7 Il segnale HRV originale viene suddiviso mediante tecniche di filtraggio nelle sue componenti VLF, LF e HF. Vengono poi calcolate la densità spettrale di potenza e la potenza normalizzata, entrambe suddivise anche esse nelle componenti VLF, LF, HF. Tratto da [1].

Banda HF

La banda HF è compresa all'interno dell'intervallo di frequenza tra 0.15-0.4 Hz e riflette l'attività del sistema nervoso parasimpatico. Viene anche chiamata banda respiratoria in quanto riflette variazioni della frequenza cardiaca in relazione con il ciclo respiratorio (*respiratory sinus arrhythmia*). Durante l'inspirazione il centro di controllo cardiovascolare inibisce l'attività del sistema parasimpatico, aumentando così la frequenza cardiaca. Durante l'espirazione invece, lo stesso centro cardiovascolare, riporta il sistema parasimpatico al livello di attività in cui si trovava all'inizio dell'inspirazione, diminuendo quindi la frequenza cardiaca. Una riduzione dell'attività parasimpatica è stata rilevata in pazienti affetti da cardiopatie e in pazienti sotto stress o che soffrono di attacchi di panico, ansia o preoccupazioni. Un blocco totale dell'attività parasimpatica elimina le oscillazioni ad alta frequenza e riduce la potenza della banda LF [1,2].

Banda LF

La banda LF corrisponde all'intervallo 0.04-0.15 Hz. Tale regione viene chiamata "intervallo dei barocettori". Quest'ultimi - come detto precedentemente - sono meccanocettori, sensibili a variazioni di pressione. Sono situati all'interno degli atri e dei ventricoli, nei seni carotidei e nell'arco aortico. Con l'aumentare della pressione sanguigna, i tessuti della carotide e dell'aorta si distendono determinando un aumento della tensione superficiale e quindi anche dell'attività dei barocettori. Normalmente i barocettori sono tonicamente attivi, ma in corrispondenza di un aumento della pressione nelle zone sopra citate, generano potenziali d'azione con una frequenza maggiore. Tale frequenza aumenterà all'aumentare della pressione. L'attivazione dei barocettori, in corrispondenza dell'aumento della pressione, determina l'inibizione del sistema nervoso simpatico e l'attivazione del sistema nervoso parasimpatico. L'effetto congiunto dei due fenomeni porta ad una repentina diminuzione della pressione sanguigna. Infatti, l'inibizione del sistema simpatico fa diminuire la resistenza vascolare periferica (effetto di maggior importanza per quanto riguarda la diminuzione della pressione sanguigna) nonché la frequenza e la contrattilità cardiache, mentre l'attivazione del parasimpatico riduce la frequenza cardiaca e la contrattilità del miocardio. In maniera quasi opposta, una diminuzione della pressione sanguigna determina l'attivazione del sistema simpatico, e l'inibizione del parasimpatico, quindi complessivamente un aumento della resistenza vascolare periferica, della frequenza cardiaca e della contrattilità del miocardio, portando così ad un incremento della pressione sanguigna.

Al contrario di quello che succede nella banda HF, nella banda LF è presente sia l'attività del sistema simpatico che del parasimpatico, attività che come si è visto viene mediata dall'intervento dei barocettori. Infatti, l'attività del simpatico genera oscillazioni nei ritmi cardiaci, che ricadono nella banda LF, in corrispondenza di attività fisica o di stress psicologico, e che generalmente non superano gli 0.1 HZ; mentre il parasimpatico interviene anche al di sotto dei 0.05 Hz (ritmi con periodo sopra i 20 s). Durante la

respirazione lenta, al di sotto di 8.5 respiri al minuto, oppure durante i sospiri e le respirazioni profonde, l'attività parasimpatica genera delle oscillazioni che ricadono nella banda LF. Questo ha importanti ripercussioni sul rapporto LF/HF [1,2].

Rapporto LF/HF

Per rapporto LF/HF si intende la potenza in banda LF (l'area sottesa dalla curva delle densità spettrale di potenza nell'intervallo 0.04-0.15 Hz) divisa per la potenza in banda HF (l'area sottesa dalla curva della densità spettrale di potenza nella banda 0.15-0.4 Hz). Questo rapporto è considerato un indice del bilancio simpato-vagale.

Un basso valore del rapporto LF/HF può essere assunto come una prevalenza dell'attività parasimpatica su quella simpatica, dovuta ad uno sbilanciamento tra le due branche del sistema nervoso autonomo a favore dell'attività parasimpatica.

Al contrario un alto valore di tale rapporto può essere visto come una prevalenza dell'attività simpatica sulla parasimpatica, che si può osservare nei soggetti coinvolti in compiti impegnativi e faticosi. Questo comporta un aumento dell'attività simpatica.

In realtà tale rapporto è molto più complesso, in quanto, come è stato anticipato nel paragrafo precedente, nella banda LF, è presente sia l'attività del simpatico che del parasimpatico. Quindi non può essere visto, in maniera assoluta, come un bilancio tra le attività delle due branche del sistema autonomo. Quindi considerazioni fatte sulla base di tale rapporto devono essere fatte conoscendo il meccanismo di generazione della banda LF e il contesto in cui si fanno le acquisizioni, in base al quale i vari contributi nella banda LF possono variare [1,2].

Banda VLF

Lo spettro di potenza della banda VLF è compreso nell'intervallo di frequenza 0.0033-0.04 Hz. Meccanismi di regolazione a lungo termine come la termoregolazione, il sistema renina-angiotensina, fattori umorali possono contribuire a questa banda. Alcune evidenze sperimentali suggeriscono che alle oscillazioni in tale intervallo contribuisca anche il sistema nervoso intrinseco del cuore, mentre l'ampiezza e la frequenza di tale oscillazioni vengono modulate dalla branca efferente del sistema simpatico. Più specificatamente, tali evidenze sperimentali suggeriscono che le oscillazioni VLF possano essere generate dalla stimolazione dei neuroni sensoriali afferenti presenti nel cuore, che attivano meccanismi di retroazione a diversi livelli del sistema nervoso del cuore, ma anche meccanismi presenti tra cuore e colonna vertebrale.

Un aumento della potenza in tale banda potrebbe riflettere un aumento dell'attività della branca simpatica del sistema nervoso autonomo. La modulazione delle oscillazioni presenti all'interno della banda VLF da parte del sistema simpatico, a causa di attività fisica, stress o altri fattori che possono far aumentare l'attività simpatica, può farle sconfinare all'interno della banda LF.

Banda ULF

La banda ULF cade al di sotto dei 0.0033 Hz, quindi con periodi superiori ai 5 min. Le oscillazioni nei ritmi cardiaci all'interno di questa banda sono principalmente dovute alle oscillazioni circadiane. Sono tuttavia presenti anche contributi dovuti a processi di regolazione molto lenti, come la regolazione della temperatura corporea, il metabolismo e il sistema renina-angiotensina. Data la bassissima frequenza delle oscillazioni, il contributo della banda ULF può essere apprezzata solo in acquisizioni di 24 ore.

1.6.2 Analisi nel dominio dei tempi

L'analisi nel dominio dei tempi fornisce degli indici che permettono di quantificare la variabilità nella frequenza cardiaca dal punto di vista statistico. Dato che vengono tutti calcolati sempre alla stessa maniera, i dati possono essere paragonati tra di loro anche se sono stati raccolti da ricercatori diversi, a patto che la durata delle acquisizioni sia la stessa. Tuttavia, le misure nel dominio dei tempi non consentono di quantificare adeguatamente la dinamica autonomica o determinare la attività oscillatoria generata dai vari sistemi di controllo fisiologico.

I principali indici che vengono calcolati sono SDNN, SDNN index e RMSSD; per valutazioni su registrazioni di breve durata vengono riportati anche il pNN50 e il HR_Max-HR_min [1,3].

SDNN (Standard Deviation of Normal-to-Normal (NN) Intervals)

Tale parametro fornisce la deviazione standard degli intervalli interbattito normali misurati in millisecondi, e riflette l'influenza di tutti i fattori che contribuiscono alla HRV (è quindi correlato con la potenza totale nel dominio delle frequenze).

SDNN index

Questo parametro viene ricavato nelle acquisizioni da 24 ore, come la media della SDNN calcolata sugli intervalli da 5 minuti in cui viene suddiviso il tempo totale di acquisizione.

RMSSD (Root of the Mean of the Sum of the Squares of Differences between adjacent NN intervals)

Il RMSSD è la radice della somma quadratica media delle differenze tra battiti NN successivi. In registrazioni di lunga durata (24 h) riflette la variabilità della frequenza cardiaca mediata dal sistema nervoso parasimpatico, cioè nella banda HF.

pNN50

Rappresenta la percentuale dei battiti normali adiacenti che differiscono l'uno dall'altro di 50 millisecondi o più ed è correlato con il RMSSD e con la potenza nella banda HF.

HR_Max-HR_min

Tale parametro viene calcolato come la media della differenza tra il massimo della frequenza cardiaca e il suo minimo in ogni ciclo respiratorio ed è altamente correlato con le misure SDNN e RMSSD.

Capitolo 2

Descrizione dell'esperimento nell'ambiente di Realtà Virtuale

In questo lavoro è stato analizzato il segnale di HRV di soggetti che hanno partecipato ad un esperimento di Virtual Reality. Tale esperimento è stato ideato da un gruppo di docenti di Bioingegneria appartenenti al Dipartimento di Ingegneria dell'Energia Elettrica e dell'Informazione, da un gruppo di docenti di Neuroscienze Cognitive del Dipartimento di Psicologia, e da un gruppo di docenti di Ingegneria Aerospaziale del Dipartimento di Ingegneria Industriale (Università di Bologna-Campus di Cesena e Campus di Forlì), nell'ambito del progetto CASTLE. Tale progetto, dal titolo esteso "CAbin Systems design Toward passenger welLbEing", finanziato dalla Comunità Europea, si pone – tra le altre cose – l'obiettivo di investigare se sia possibile ottenere, attraverso misure di parametri fisiologici, valutazioni oggettive del livello di gradimento, coinvolgimento, comfort di un soggetto all'interno della cabina passeggeri di un'areo e se cabine differenti (ad esempio nei materiali, colori, organizzazione degli spazi, etc.) possano dare origine a differenze nei parametri fisiologici misurati (sottintendendo dunque effetti differenti sul soggetto). L'obiettivo ultimo è il progetto e la realizzazione di interni di cabine che massimizzino il 'benessere' (in termini di comodità e funzionalità) dei passeggeri.

A tale scopo, sono stati creati due ambienti virtuali di cabine (che differiscono per alcuni aspetti), e il protocollo sperimentale è stato ideato per investigare il livello di coinvolgimento/attenzione di soggetti che vengono immersi in ciascuno dei due ambienti virtuali. Durante l'esperimento, il segnale elettroencefalografico (EEG) e il segnale elettrocardiografico (ECG) vengono acquisiti mediante elettrodi posizionati sulla testa (per il segnale EEG) e sul torace (per il segnale ECG). Gli elettrodi sono collegati ad una scheda di acquisizione che permette di visualizzare online l'andamento di tali segnali sullo schermo di un computer e di memorizzarli per una successiva elaborazione. I soggetti partecipanti all'esperimento, la strumentazione utilizzata, e la descrizione delle fasi dell'esperimento verranno illustrati nei paragrafi successivi. In questo lavoro,

l'analisi successiva si è concentrata sul segnale ECG; una volta estratto il tacogramma, si è proceduto all'analisi della Heart Rate Variability come descritto nei successivi capitoli.

2.1 Soggetti partecipanti all'esperimento

Trenta volontari sani con età compresa dai venti ai trenta anni (sei femmine e ventiquattro maschi) hanno partecipato all'esperimento. Essi sono stati reclutati principalmente tra gli studenti dei Corsi di Laurea in Ingegneria Biomedica e in Ingegneria Aerospaziale del Campus di Cesena e del Campus di Forlì (Università di Bologna). I soggetti partecipanti erano all'oscuro delle finalità dell'esperimento, e delle diverse fasi in cui si è articolato l'esperimento.

2.2 Strumentazione utilizzata per l'acquisizione dei segnali

Per l'acquisizione dei segnali EEG sono stati usati degli elettrodi fissati sulla testa del soggetto grazie ad una cuffia, come quella riportata nella figura 1. Per l'acquisizione del segnale ECG sono stati usati elettrodi sul torace fissati mediante adesivo.



Figura 1 Gli elettrodi vengono fissati nelle posizioni in cui si vuole registrare il segnale EEG grazie a dei appositi buchi. Tratto da <u>www.Blunet-Bluetooth-medical-devices.com</u>.

Generalmente la cuffia per EEG è realizzata in tela elastica e sono previste più taglie, in maniera tale che si possa adattare a tutti i soggetti. Presenta dei fori per il posizionamento degli elettrodi, localizzati secondo le posizioni previste dagli standard internazionali (Standard Internazionale 10-20) di posizionamento degli elettrodi. Secondo lo Standard Internazionale, la posizione di ciascun elettrodo è identificata da un codice alfanumerico. Le lettere rappresentano la porzione di corteccia cerebrale sottostante l'elettrodo mentre i numeri servono a discriminare la parte destra (numeri pari), la parte sinistra (numeri dispari) e la linea centrale (nessun numero e lettera z). Nella figura 2 vengono illustrate posizioni standard degli elettrodi.



Figura 2 Vengono mostrate le varie posizioni possibili in cui possono essere fissati gli elettrodi. Tratto da <u>www.ResearchGate.com</u>.

Nell'esperimento, il segnale EEG è stato acquisito da 12 posizioni sullo scalpo mediante elettrodi a disco in Ag/AgCl. Gli elettrodi utilizzati sono i seguenti: Cz, F3, F4, C3, C4, Tp7, Tp8, PO3, PO4, PO7, PO8, O1, O2. Come elettrodo di riferimento, rispetto al quale

tutti i canali sono stati acquisiti in modo differenziale, si è utilizzato la media dei potenziali rilevati ai lobi delle orecchie mediante elettrodi a pinza. Per assicurare un miglior contatto elettrico tra elettrodo e scalpo, grazie ad un apposito foro presente al centro di ciascun elettrodo, è stato applicato un gel conduttivo. Anche per gli elettrodi di riferimento è previsto l'utilizzo di tale gel oltre a un pretrattamento che consisteva nella pulizia superficiale del lobo mediante detergente granuloso (scrub).

Il segnale ECG è stato acquisito mediante una derivazione bipolare costituita da una coppia di elettrodi a disco posizionati sul torace. Per la preparazione, il gel veniva messo direttamente sulla superficie dell'elettrodo che andava a contatto con la cute. Uno degli elettrodi era posizionato vicino all'inserzione distale del pettorale sotto la clavicola e il secondo in posizione speculare.

La scheda di acquisizione è stata fissata sulla cuffia, in posizione centrale. Come scheda di acquisizione è stata usata la Cyton+Daisy Biosensing Boards di OpenBCI (www.openBCI.com), disponibile presso il Laboratorio di Ingegneria Biomedica del Campus di Cesena. Tale scheda è costituita da 2 moduli: La Cyton, che è la scheda di acquisizione vera e propria, e la Daisy Biosensing, la quale invece è un modulo che va ad ampliare il numero dei canali di acquisizione. La Cyton possiede 8 canali per il campionamento del segnale e un processore a 32 bit. Il core è anche implementato con un microcontrollore che fornisce una memoria locale e un elevata velocità di elaborazione dei dati. La Daisy Biosensing, che viene collegata alla prima, aggiunge altri 8 canali, per un totale quindi di 16 canali. La frequenza di campionamento della scheda è di 125 Hz. I dati campionati possono essere memorizzati sia sulla scheda, grazie alla memoria locale, ma anche inviati al computer via wireless grazie alla OpenBCI USB dongle che utilizza dei moduli radio RFDuino, permettendo così anche la comunicazione con un qualsiasi dispositivo mobile compatibile con una connessione Bluetooth a bassa energia. Nella figura 3 vengono mostrati i vari componenti della scheda. Nell'esperimento è stata utilizzata la trasmissione dati wireless dalla scheda al computer per la visualizzazione online e la memorizzazione dei segnali. Si noti che il posizionamento della scheda di acquisizione sulla cuffia e la trasmissione wireless consentono al soggetto di muoversi liberamente senza intralcio dei cavi e senza limitazioni negli spostamenti all'interno dell'ambiente di realtà virtuale.



Figura 3 Vengono illustrati la scheda di acquisizione Cyton in basso, per l'acquisizione dei segnali, il modulo Daisy Biosensing in alto al centro, per l'ampliamento dei canali di acquisizione, l'OpenBCI USB dongle in alto a sinistra per la trasmissione wireless dei dati dalla scheda al PC e infine l'alimentazione e il filo necessario al collegamento tra due schede. Tratto da <u>www.openBCI.com.</u>

I pin vengono collegati agli elettrodi nel seguente modo:

 I pin dal 1 al 7 sulla scheda Cyton vengono rispettivamente collegati agli elettrodi Cz, F4, C4, Tp8, Po4, Po8, O2;

2. I pin dal 1 al 7 sul modulo Daisy vengono rispettivamente collegati agli elettrodi F3,C3, Tp7, Po3, Po7, O1, ECG;

3. I pin AGND di entrambe le schede vengono collegate ognuna all'elettrodo di riferimento a pinza.

Il software dedicato della OpenBCI permette di selezionare quali canali acquisire e visualizzare diversi tipi di informazioni riguardanti i segnali acquisiti, come ad esempio: l'andamento dei segnali acquisiti nel tempo, la FFT dei segnali acquisiti e la mappa dell'attività cerebrale rilevata da ogni elettrodo. Inoltre, permette anche l'applicazione di filtri software come ad esempio il filtro Notch per rimuovere le interferenze della frequenza di rete. Tuttavia, è importante sottolineare che il filtraggio è applicato in fase

di visualizzazione, ma non in fase di memorizzazione; pertanto vengono acquisiti segnali 'raw', cioè grezzi. Un esempio delle informazioni che possono essere presentate a video in tempo reale durante l'acquisizione viene mostrato nella figura 4.



OpenBCI Visualizer

Figura 4 Nella parte sinistra della schermata viene visualizzato l'andamento nel tempo del segnale acquisito da ogni elettrodo. Invece, nella parte destra della schermata, in basso viene visualizzato la FFT del segnale EEG, mentre in alto viene visualizzato la mappa dell'attività rilevata dagli elettrodi. Questa schermata può essere personalizzata a piacere dall'utilizzatore, nel senso che si possono visualizzare diversi tipi di informazioni. Nel nostro caso sono state scelte le 3 schermate descritte in precedenza. Tratto da <u>www.openBCI.com</u>.

2.3 Gli interni delle cabine passeggeri realizzati mediante Realtà Virtuale

Per la realizzazione dell'ambiente virtuale che verrà usato durante le acquisizioni è stato usato il CAVE, acronimo di cave automatic virtual environment, un'ambiente per la realtà virtuale immersiva, nel nostro caso costituito da un palcoscenico, 3 schermi e un sistema di acquisizione del movimento [5]. Sui 3 schermi viene proiettato l'ambiente virtuale all'interno del quale il soggetto si troverà durante l'esperimento. Grazie al sistema di acquisizione del movimento, il soggetto sarà in grado di muoversi all'interno dell'ambiente virtuale. Il sistema è stato calibrato in modo tale che un passo frontale nella realtà corrisponda a 3 passi nell'ambiente virtuale, mentre i movimenti laterali e le rotazioni sono rimaste in proporzione 1:1. Inoltre, l'ambiente virtuale è stato realizzato in maniera tale che quando il soggetto andava in collisione con gli oggetti presenti nell'ambiente, veniva riprodotto un suono simile a quello che si sente quando colpiamo un oggetto nella realtà. Quest'accorgimento è stato aggiunto per assicurare un maggior coinvolgimento del soggetto quando si muove all'interno dell'ambiente virtuale. Nella figura 5 viene mostrato il CAVE presente nella sede di Ingegneria Aerospaziale di Forlì e che è stato usato durante le acquisizioni.

Le acquisizioni sono state fatte usando due ambienti virtuali distinti, che riproducevano l'area vip della zona passeggeri di un aereo. I due ambienti dal punto di vista strutturale sono molto simili tra di loro e differiscono nell'aspetto. Entrambi gli ambienti sono costituiti da un corridoio all'interno del quale sono presenti: due poltrone, due divani, un tavolo con sopra una televisione, un'altra televisione posta all'interno del muro e dei bordi sporgenti sui lati vicino alle sedie. Uscendo dal corridoio, subito a destra troviamo il bagno, mentre andando avanti ci sono 4 posti dove è possibile mangiare. Nelle figure 6, 7, 8 viene riprodotta la prima cabina, la B1, mentre nelle figure 9, 10, 11 la seconda cabina, la B2.

La cabina B1, dal punto di vista estetico, ha un tappetto di colorazione blu con dei rombi bianchi. Il tavolo sotto la televisione è di colorazione bianca mentre i bordi vicino alle poltrone e la mensola sotto il tavolo sono fatte di legno. Infine, un divano e le sedie sono di colorazione beige mentre il secondo divano grigio. La cabina B2 invece ha un tappetto grigio scuro ed è privo di disegni. Il tavolo sotto la televisione, la mensola sotto il tavolo e i bordi sporgenti vicino alle sedie sono realizzate in marmo scuro. Infine, le poltrone e un divano sono beige e l'altro divano è grigio scuro.



Figura 5 Sui 3 schermi viene proiettato uno dei due ambienti virtuali utilizzati per l'acquisizione, più precisamente il B1. Davanti al soggetto si trova il palcoscenico dove avrà la possibilità di muoversi e in fondo al palcoscenico è presente il sistema di acquisizione del movimento. Foto fatta direttamente sul luogo.



Figura 6 Corridoio principale di B1. Screenshot all'interno dell'ambiente.



Figura 7 Bagno di B1. Screenshot all'interno dell'ambiente.



Figura 8 Sala pranzo B1. Screenshot all'interno dell'ambiente.



Figura 9 Corridoio principale B2. Screenshot all'interno dell'ambiente.



Figura 10 Bagno di B2. Screenshot all'interno dell'ambiente.



Figura 11 Sala pranzo di B2. Screenshot all'interno dell'ambiente.

2.4 Fasi dell'esperimento

Ogni soggetto dovrà essere sottoposto all'esperimento in entrambe le cabine, per verificare se ci sono cambiamenti nei tracciati EEG ed ECG quando l'estetica della cabina cambia.

L'acquisizione relativa a ciascuna delle due cabine è stata suddivisa in 4 fasi, ognuna della quali dura 5 min. Le fasi erano le stesse per entrambe le cabine:

1. Prima fase:

Il soggetto restava seduto davanti agli schermi spenti per tutta la durata di questa fase.

2. Seconda fase

In questa fase gli schermi venivano accesi e il soggetto si trovava davanti all'ambiente virtuale che riproduceva la cabina dell'aereo. Anche in questa fase il soggetto restava seduto per 5 min.

3. Terza fase

In questa fase il soggetto doveva interagire con l'ambiente che gli si presentava davanti, camminando per tutta la lunghezza della cabina e interagendo con gli oggetti in essa presenti, entro i limiti che l'ambiente virtuale consente, come è stato descritto in precedenza.

4. Quarta fase

In questa ultima fase, il soggetto metteva nuovamente a sedere e stava seduto per tutta la durata dei 5 min.

Durante la seconda, terza e quarta fase venivano anche riprodotti i suoni che il soggetto avrebbe dovuto sentire se si fosse trovato realmente all'interno di un aereo in volo. Questo accorgimento è stato aggiunto per rendere l'esperienza di realtà virtuale più immersiva.

Infine, una volta che il soggetto è stato sottoposto all'esperimento, egli doveva compilare un questionario con una serie di domande. Il fine di tale questionario era di determinare in maniera indiretta quale delle due cabine il soggetto ha preferito. Poteva anche risultare nessuna preferenza. Le preferenze dei 30 soggetti vengono poi salvati all'interno di un file .mat. Le preferenze sono state salvate all'interno di questo file come un vettore colonna di 30 righe. In ogni riga veniva riportato un numero che può andare da 0 a 2: 0nessuna preferenza, 1-preferenza per la cabina B1, 2-preferenza per la cabina B2.
Per quanto riguarda il ruolo specifico da me svolto nella parte sperimentale, si evidenzia che ho contribuito a mettere a punto il set-up sperimentale per l'acquisizione dei segnali EEG ed ECG, inoltre – insieme a altri due tesisti (uno triennale e uno magistrale) - ho supportato i ricercatori del Laboratorio di Realtà Virtuale di Forlì nell'individuare le condizioni audio-visive maggiormente immersive (con gli strumenti a disposizione) e ho attivamente partecipato presso il laboratorio di Forlì alle acquisizione sui primi 7 soggetti. Le successive acquisizioni sono state invece gestite dalla tesista magistrale che mi ha poi fornito i segnali ECG per la successiva elaborazione.

Capitolo 3

Il software ARTiiFACT per l'elaborazione della frequenza cardiaca e l'analisi della Heart Rate Variability.

ARTiiFACT è un software per l'elaborazione della frequenza cardiaca e per l'analisi della HRV. Più specificatamente è un programma sviluppato in MATLAB (MathWorks)®; essendo compilato con il compilatore MATLAB, è un programma stand-alone, che non richiede licenza MATLAB per la sua installazione e utilizzo. È stato sviluppato nel 2011 da un gruppo di ricercatori tedeschi (Università di Würzburg, Germania; Università del Lussemburgo) [6] e scaricabile gratuitamente dal sito <u>http://www.artiifact.de/</u>. Le principali funzioni di ARTiiFACT sono:

- Estrazione, sia in maniera automatica che manuale, degli intervalli temporali tra battiti successivi (intervalli interbattito) da un tracciato ECG, ricevuto come input;
- Identificazione e rimozione degli artefatti negli intervalli interbattito, anche in questo caso sia in maniera automatica che manuale;
- Analisi della HRV nel dominio dei tempi e delle frequenze;
- Analisi statistica.

3.1 Pre-elaborazione del segnale ECG acquisito negli esperimenti di Realtà Virtuale

Prima di utilizzare ARTiiFACT, il segnale ECG 'grezzo', acquisito con la strumentazione descritta nel Capitolo 2, è stato sottoposto ad una preelaborazione costituita da un filtraggio e da un ricampionamento, ed eseguita in MATLAB.

Nella figura 1a viene illustrato l'andamento del segnale ECG grezzo per l'intera durata della registrazione (20 minuti = 1200 secondi) mentre nella figura 1b per pochi secondi.



Figura 1a Andamento del segnale ECG grezzo (cioè acquisito tramite OpenBCI) sull'intera durata di registrazione. Sono ben visibili le derive a bassa frequenza del segnale ECG nonché l'offset, da eliminare prima dell'elaborazione mediante il software ARTiiFACT.



Figura 1b Viene riportato uno zoom del tracciato ECG grezzo in cui sono ben visibili l'onda P, il complesso QRS e l'onda T, che presentano una deflessione verso il basso perché la derivazione sul torace è stata invertita.

Il filtraggio consiste nell'applicazione di un filtro passa-banda, con banda passante tra 0.2 Hz e 60 Hz e banda attenuata al di sotto di 0.1 Hz e al di sopra di 62 Hz. È stato inoltre applicato un filtro Notch a 50 Hz. Il filtro passa-banda ha la funzione, sostanzialmente, di eliminare l'offset e le derive a bassa frequenza del segnale ben visibili in Figura 1a; il filtro Notch riduce eventuali disturbi alla frequenza di rete dovuti all'accoppiamento con la linea di alimentazione elettrica o a interferenze con altre apparecchiature elettromagnetiche presenti nell'ambiente di registrazione. In seguito all'applicazione di questi di questi filtri il segnale si presenta come nella Figura 2a sull'intera durata della registrazione e come nella Figura 2b su pochi secondi.



Figura 2a In seguito all'applicazione del filtro passa-banda e del filtro Notch, vengono eliminati l'offset, le derive a basse frequenze e i disturbi dovuti alla frequenza di rete nel segnale ECG grezzo.



Figura 2b Viene riportato anche uno zoom del segnale ECG in seguito all'applicazione dei filtri, in cui sono visibili l'onda P, il complesso QRS e l'onda T, con una deflessione verso il basso a causa dell'inversione della derivazione sul torace.

Il segnale ECG grezzo è acquisito con frequenza di campionamento di 125 Hz (frequenza di campionamento del sistema di acquisizione OpenBCI). Per una corretta analisi con ARTiiFACT è necessaria una frequenza di campionamento maggiore. Nella fase di preelaborazione è stato quindi inserito anche un ricampionamento del segnale ad una frequenza pari a 250 Hz. Il segnale ECG così pre-elaborato è stato salvato in formato .mat e utilizzato come input da ARTiiFACT per le successive elaborazioni specificamente eseguite da questo software.

3.2 I moduli di elaborazione di ARTiiFACT

ARTiiFACT si suddivide in 4 moduli di elaborazione, più un modulo che converte i file che contengono il segnale ECG in file supportati dal programma.



L'interfaccia iniziale del programma viene mostrata nella figura 3.

Figura 3 Quando ARTiiFACT viene avviato si apre questa prima interfaccia grafica che mostra le varie operazioni possibili.

L'interfaccia iniziale consente di selezionare l'operazione da compiere sui dati, permettendo all'utente di selezionare tra il modulo di conversione dei file e i 4 moduli di elaborazione. Inoltre, consente anche di definire una cartella di lavoro all'interno della quale verranno salvati i risultati delle varie elaborazioni eseguite e dalla quale verranno caricati i dati da elaborare.

Il modulo di conversione dei file *'File conversion'*, converte i file contenenti il segnale ECG in file supportati da ARTiiFACT. I formati supportati dal programma sono .txt, .mat, .xls e .hdf5. Di default i vari moduli di elaborazione mettono i risultati in file .txt. Il modulo File conversion non è stato utilizzato in quanto i segnali ECG pre-elaborati erano già salvati in un formato (.mat) supportato da ARTiiFACT.

Il modulo di estrazione degli intervalli inter-battito (Inter Beat Intervals, IBI) dal segnale ECG '*Extract IBIs from ECG data*', consente all'utente di estrarre gli intervalli interbattito come intervalli temporali tra due picchi R successivi sia in maniera automatica che manuale. Chiaramente verrà sempre utilizzata la modalità automatica di determinazione di tali intervalli e l'intervento manuale dell'utilizzatore sarà necessario solo per la correzione di errori di valutazione commessi dal programma. In questo modulo sono comprese anche altre funzioni che verranno meglio illustrate nel paragrafo dedicato a tale modulo.

Il modulo di identificazione e rimozione degli artefatti dagli intervalli inter-battito **'Detect and process artifacts in IBI data'**, permette di identificare e trattare gli artefatti individuati negli intervalli inter-battito estratti mediante il modulo precedente. Anche in questo caso l'operazione può essere eseguita in maniera automatica o manuale ed è possibile compiere anche altre operazioni. Come verrà illustrato nel paragrafo dedicato a tale modulo, in questo caso la detezione automatica degli artefatti non è sempre affidabile e sarà preferibile l'intervento manuale.

Il modulo di analisi dell'Heart Rate Variability, '**Analyse HRV**', esegue l'analisi della HRV nel dominio dei tempi e delle frequenze fornendo una serie di risultati che verranno illustrati nel paragrafo dedicato.

Il modulo di test per la distribuzione normale **'Test for normal distribution'**, fornisce misure descrittive di dispersione e il test di Kolmogorov-Smirnov. Anche questo modulo verrà descritto più in dettaglio nel paragrafo dedicato.

Come indicato nell'interfaccia, alcuni dei moduli permettono un'elaborazione di tipo 'batch'; questo significa che è possibile selezionare una cartella contenente tutti i file su cui si desidera applicare il modulo di elaborazione, e l'elaborazione viene applicata a tutti i file della cartella. Diversamente, è possibile applicare l'elaborazione file per file. Nel lavoro svolto, l'elaborazione è sempre stata applicata file per file.

3.3 Extract IBIs from ECG data

In questo modulo vengono estratti gli intervalli inter-battito, e quindi il tacogramma, a partire da un file che contiene il segnale ECG. Per accedere a questo modulo di elaborazione, nella schermata iniziale si deve schiacciare il pulsante **File by file** che si trova al di sotto della scritta che identifica il modulo in questione. Con questa selezione si apre una nuova finestra, come quella nella figura 4.

ECG Data Preparation Module	 You may want to cut your data before extracting IBIs. The plot on the right side helps to find cut positions. Select the "cross" button to enter data cursor mode, if you need precise timing information. Scroll through your data and select data points by clicking on them. Information will be displayed. You may enter these data points on the left side to cut your data. The effect should be directly visible, i.e. a marker will appear or disappear depending on your choice.
Open file:	1 Current length [s]:
Would you like to analyse only parts of your data?	
No, do not cut data	<u>a</u>
◯ Yes, cut data	0.7 -
C Exclude all data after [s]	0.6 -
C Exclude all data before [s]	0.5 -
O Exclude data between [s] and [s]	0.4 -
O Include last [s] of data	0.3 -
◯ Include first [s] of data	0.2 -
O Include data between [s] and [s]	0.1 -
! Apply cut !	0
Please note:	0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 1
A cut can also be applied several times for different time intervals. Simply adjust the parameters and each time press the "apply cut" button. Click proceed to finally (and irreversibly) apply all cutting steps.	Reservery Zoon ou Zoom in Nove Select

Figura 4 Prima interfaccia del modulo Extract IBIs from ECG data.

Questa prima interfaccia consente di fare alcune operazioni preliminari sui dati.

Innanzitutto, i dati vengono caricati, schiacciando sul pulsante in altro a sinistra raffigurante una cartella, cercando tra i vari file e selezionando il file contente il segnale ECG che si desidera elaborare. A questo punto compare una finestra più piccola in cui viene chiesta la frequenza di campionamento. Per avere una corrispondenza temporale bisogna usare la stessa frequenza di campionamento che è stata usata per il campionamento del segnale durante l'acquisizione, altrimenti usando una frequenza più bassa o più alta si avrà rispettivamente una dilatazione o un restringimento sull'asse dei tempi del segnale ECG da analizzare. La dilatazione o il restringimento determineranno

rispettivamente un allungamento o un'abbreviazione dei periodi cardiaci, falsando di conseguenza le analisi successive.

Una volta caricato il file contenente il segnale ECG campionato, l'intero tracciato viene riportato nella porzione azzurra a destra, come mostrato nella figura 5.



Figura 5 Il segnale ECG viene visualizzato per intero nella schermata azzurra a destra, dove sull'asse delle ascisse viene riportato il tempo in secondi, mentre sull'asse delle ordinate il segnale in microvolt.

Al di sotto della porzione azzurra, c'è una serie di pulsanti che permettono di eseguire varie operazioni, qui illustrate a partire dal pulsante più a destra:

- Selezione di un campione ('Select'), con la possibilità di visualizzare il tempo e la tensione relativi ad esso;
- Muoversi lungo il tracciato in tutte le direzioni ('Move');
- Eseguire uno zoom in o uno zoom out ('Zoom in', 'Zoom out'), che consentirà di vedere meglio il tracciato come nella Figura 6. Grazie alla possibilità di muoversi lungo tutto il tracciato, quest'ultimo potrà essere visualizzato più attentamente prima di una qualsiasi elaborazione;
- Ritornare alla visualizzazione iniziale ('Reset view'), cioè prima di premere qualunque dei precedenti pulsanti.



Figura 6 Eseguendo uno zoom in sul tracciato ECG è possibile riconoscere la tipica forma d'onda del segnale ECG, ovvero l'onda P, il complesso QRS e l'onda T che si susseguono. In questo caso tali onde presentano una deflessione verso il basso anziché verso l'alto (cioè sono invertite) perché è invertita la derivazione sul torace.

Nella parte sinistra della schermata invece, ARTiiFACT dà la possibilità di eseguire l'analisi solo su alcune porzioni del tracciato, rimuovendo dall'analisi mediante dei tagli ('cut') alcune parti del tracciato. Le possibilità di taglio sono molteplici:

- Le prime tre opzioni permettono di escludere dall'analisi i dati prima o dopo un certo istante oppure escludere dall'analisi i dati contenuti all'interno di un certo intervallo temporale.
- Le ultime tre opzioni permettono di includere nell'analisi solo i dati prima o dopo un certo istante oppure includere nell'analisi solo i dati contenuti all'interno di un certo intervallo temporale.

Per l'opzione selezionata, si va a specificare nel rettangolo a fianco l'istante o l'intervallo temporale relativo al taglio da eseguire, e poi si deve schiacciare il pulsante **!Apply cut!**.

Una volta eseguito il taglio, nella schermata azzurra, la parte selezionata, quindi quella che sarà sottoposta ad analisi successive, è colorata in nero mentre quella rimossa dall'analisi è colorata in rosso. Un esempio di taglio viene riportato nella figura 7.

ECG Data Preparation Module		You may want to cut y The plot on the right s 1. Select the "cross" 2. Scroll through your 3. You may enter thes 4. The effect should b	You may want to cut your data before extracting IBIs. The plot on the right side helps to find cut positions . Select the "cross" button to erter data cussor mode, if you need precise timing information. 2. Scroll through your data and select data points by cicking on them. Information will be displayed. 3. You may enter these data points on the fiscle to cut your data. 4. The effect should be directly visible, i.e. a marker will appear or disappear depending on your choice.				
Open file: C:Users\Fabian Cneazovici/Desktop)	Tesi/Dati250/A	Current length [s]: 299.996	ECG data included into fur ECG data excluded from fu	ther analysis urther analysis			
Would you like to analyse only parts of your data?					Q		
No, do not cut data			l i				
Yes, cut data			and the set	dealer and the second of the			
C Exclude all data after [s]	1204.004						
◯ Exclude all data before [s]	0			will be a star that the holds of the	1		
C Exclude data between [s] and [s]	0 1204.004	A standard to an address of the standard of the	and and so in the second s	And the state of the			
◯ Include last [s] of data	1204.004			Li di i			
O Include first [s] of data	1204.004						
● Include data between [s] and [s]	0 300						
	Apply cut						
Please note: A cut can also be applied several times for differe	ent time intervals.	0 200	400 600 Time [s]	800 1000	1200		
Simply adjust the parameters and each time pres Click proceed to finally (and irreversibly) apply al	s the "apply cut" button. I cutting steps.	Reset view Zoom out Zoom in	Move Select	Proceed			

Figura 7 In questo caso è stato applicato un taglio selezionando l'opzione: includi dati nell'intervallo 0-300 secondi. La parte selezionata, in nero, verrà usata per le elaborazioni successive, mentre quella esclusa, in rosso, verrà ignorata.

Caricato il file e applicato o meno gli opportuni tagli si può procedere con l'estrazione dei periodi cardiaci, cliccando sul pulsante **Proceed**.

Assol for heart rate and the processing and heart rate watable analysis ARTIIFACT	Automated Peak Detection Module			Back	Proceed
Internation -		, , ,	Detect	ed R-peaks	••••••••••••••••••••••••••••••••••••••
Invert ECG data?No	✓ Yes Yes Low-pass ✓		*****		44444444444444444444
	Cut-off [Hz]: 10			******	
Choose peak detection method:	Global threshold VIII VIII VIIII VIIII VIIII VIIII VIIII VIIII VIIIII VIIIIII	44444444444444444444444	*****	*****	*****
	Distribution of detected R-peaks		*****	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,	****
\$ C		249	****		299 299 299
Q					ECG raw data Data not filtered Global threshold
0 50	100	150 Time [s]	200	 250	

Figura 8 Seconda interfaccia del modulo Extract IBIs from ECG data. Qui, come esempio di funzionamento, è stata selezionato il metodo di detezione degli intervalli inter-battito 'Global threshold', con soglia posta al valore di 150 μ V.

Con questa seconda interfaccia, ARTiiFACT dà la possibilità di invertire il segnale in modo tale che l'onda R sia orientata positivamente, nel caso in cui ciò si renda necessario

come ad esempio nel caso illustrato in Figura 6, e di applicare un filtro passa basso o passa alto specificandone la frequenza di taglio. Nel caso in cui si voglia utilizzare una di queste funzionalità è sufficiente spuntare 'Yes' in alto a sinistra in corrispondenza della funzione desiderata.

La funzione principale di questa fase dell'elaborazione è la scelta e l'impostazione dei parametri del metodo di detezione automatica dei picchi R. La scelta del metodo è molto importante, come anche l'impostazione dei parametri sui quali si basa, in quanto dovrebbe essere idealmente in grado di determinare la posizione di tutti i picchi senza commettere errori e quindi senza che sia necessaria la correzione da parte di un operatore umano. ARTiiFACT mette a disposizione 4 metodi di detezione automatica, selezionabili dal menu a tendina a destra della scritta "Choose peak detection method":

- Global threshold;
- Local threshold;
- Global threshold+linear detrend;
- Local threshold+linear detrend.

Gli ultimi due differiscono dai primi solo per la presenza di un detrend lineare dei dati che ha lo scopo di rimuovere un andamento di deriva lineare. Questo consiste nel calcolare la funzione lineare (o lineare a tratti) che meglio approssima i dati secondo il metodo ai minimi quadrati e di sottrarla dai dati. Visto che nei dati ECG pre-processati, al di fuori di ARTiiFACT, gli andamenti di deriva sono già stati rimossi mediante il filtraggio passa-banda, nel lavoro in esame non sono stati utilizzati i metodi di detezione che includono il linear detrend.

A prescindere dal metodo utilizzato, il risultato viene riportato nelle schermate bianche nella parte destra dell'interfaccia. Quello che viene visualizzato è la porzione di tracciato ECG selezionata per l'analisi (nel caso in esame 300 secondi di tracciato ECG), che per maggiore chiarezza è suddivisa in 6 plot (ciascun plot che rappresenta dunque 50 secondi di tracciato nel caso qui illustrato), su cui sono sovrapposte delle linee azzurre verticali. Tali linee sono il risultato del metodo usato per la detezione dei picchi e corrispondo alle posizioni dei picchi R riconosciuti dal metodo selezionato.

Come si può ben vedere nella Figura 9, con il metodo selezionato nell'esempio di Figura 8, non tutti i picchi vengono individuati e ci possono anche essere casi in cui vengono individuati picchi inesistenti a causa di errori compiuti dall'algoritmo su cui si basa il

metodo. In questi casi sarà necessario impostare opportunamente i parametri del metodo oppure, nel caso in cui ciò non basti, sarà necessario l'intervento manuale da parte dell'utilizzatore per la correzione di tali errori. Da questo si deduce quanto sia importante che il metodo di detezione dei picchi non commetta errori o ne commetta pochi, in quanto più gli errori sono numerosi, più la procedura di correzione manuale sarà lunga.



Figura 9 Risultato del metodo di detezione degli intervalli scelto esemplificativamente in Figura 8. Si può osservare come negli intervalli tra 49 s e 99 s e tra 149 s e 199 s, ci sono picchi R che non vengono individuati.

In seguito, verranno descritti solamente i primi due metodi di detezione automatica dei picchi R, in quanto gli ultimi due sono identici ai primi con la sola aggiunta del detrend lineare (in questo lavoro non applicato perché non necessario, come specificato sopra). Si precisa che la descrizione del funzionamento di questi metodi è stato in parte tratto dal lavoro pubblicato dal gruppo di ricercatori che ha sviluppato questo software [6], e in parte è stato dedotto attraverso l'uso stesso del software; infatti in alcune parti la descrizione dei metodi di detezione sul lavoro scientifico è al quanto sintetica e non esaustiva.

Global thresold

Choose peak detection method:

Global threshold	~
Threshold [µV]:	150

Figura 10 Dal menu a tendina è stato selezionato il metodo Global threshold. L'unico parametro da impostare è il valore di tensione di soglia, threshold, in microvolt. Inizialmente il software suggerisce un valore di threshold in base ai dati a disposizione, valore che può essere cambiato dall'utilizzatore. Per il tracciato in esame, il software suggerisce un valore di threshold di 67.3 μ V, che è stato modificato a 150 μ V.

Usando questo metodo, il software suggerisce un minimo valore di tensione, in microvolt, del picco, che può anche essere cambiato dall'utilizzatore. Vengono identificati come validi per l'estrazione degli intervalli inter-battito, i picchi R che superano tale valore di soglia [6]. Più precisamente, si è dedotto che il riconoscimento del picco R avvenga come segue. Viene fatta una scansione dei valori dei campioni ECG. Quando il valore di un campione supera il valore di soglia impostato, esso viene temporaneamente riconosciuto come picco e ha inizio la detezione del picco. Il valore di picco temporaneo viene rimpiazzato dal valore del campione successivo se questo è maggiore del valore di picco temporaneo. Quando il valore del nuovo campione esaminato è più piccolo del valore del picco temporaneo, quest'ultimo viene identificato come picco R. La detezione del successivo picco R ha inizio quando il valore del campione scende al di sotto della soglia. Inoltre, per evitare che picchi spuri quali artefatti o anche onde T sopra soglia vengano erroneamente identificati come picchi R il software scarta automaticamente un picco se identificato a distanza inferiore a una distanza minima dal picco precedente. Il valore di soglia viene riportato anche graficamente, sovrapposto al tracciato ECG, nella schermata azzurra in basso. Nella Figura 11 viene riportato uno Zoom in di tale schermata nel caso di Threshold impostato a 150 µV. Come si può osservare, sebbene alcune onde T superino il valore di soglia, esse non sono riconosciute come picchi R spuri (si veda infatti la Figura 9, grafico in alto tra 0 e 49 s in cui le linee azzurre verticali sono presenti solo in corrispondenza a effettivi picchi R), poiché l'identificazione di un picco che dista dal precedente meno di un valore minimo viene automaticamente rigettata. Se questo da un lato è utile per evitare detezioni spurie, dall'altra può introdurre omissioni nell'identificazioni di picchi R effettivi; i picchi R infatti non identificati (si veda Figura 9), pur superando il valore di soglia globale, sono omessi in quanto il corrispondente intervallo RR risulta inferiore al valore minimo impostato dal software. Tuttavia, il numero limitato di tali omissioni può essere facilmente superato mediante una correzione manuale (si veda più avanti).



Figura 11 Il valore di soglia, in linea tratteggiata nera, viene sovrapposto al traccio ECG, in linea continua rossa. Quest'informazione grafica è di supporto all'impostazione del valore di soglia, threshold.

Local thresold



Figura 12 Dal menu a tendina è stato selezionato il metodo Local threshold. L'unico parametro da impostare è il valore di tensione di soglia, threshold, in microvolt. Inizialmente il software suggerisce un valore di threshold in base ai dati a disposizione, valore che può essere cambiato dall'utilizzatore.

Questo metodo consiste nell'impostare una minima differenza di tensione (threshold), in microvolt, la quale, insieme ad una minima distanza temporale predefinita tra due battiti,

consente di determinare la presenza di un picco R. Il principio sul quale tale metodo si basa è il seguente: se il campione ha un valore di tensione che supera i valori di tensione dei campioni ad esso adiacenti (a destra e a sinistra) di una quantità maggiore o uguale del valore di soglia e si trova ad una distanza temporale dal picco precedentemente individuato maggiore o uguale alla distanza temporale predefinita, l'algoritmo individua tale campione come picco [6].

La scelta di uno di questi due metodi dipende essenzialmente da come si presenta il tracciato ECG. Nel caso in cui vi siano delle derive, come nella Figura 13, oppure i picchi R non abbiano ampiezza sufficientemente elevata, come nella Figura 14, il metodo Global threshold non appare come il metodo più adatto per la detezione automatica dei picchi, in quanto molti picchi R non vengono individuati oppure l'algoritmo commette numerosi errori di individuazione. In tal caso sarà necessario la detezione manuale dei picchi oppure la correzione degli errori da parte dell'utilizzatore, prolungando di conseguenza questa fase dell'elaborazione.



Figura 13 Usando il metodo della Global threshold, molti picchi non vengono individuati perché non superano il valore di soglia di 150 microvolt.



Figura 14 L'onda T ha un picco di ampiezza sistematicamente maggiore del picco R, di conseguenza l'algoritmo riconosce come picco il picco dell'onda T anziché il picco dell'onda R.

In casi come questi è quindi preferibile usare il metodo Local threshold. Prendendo in considerazione lo stesso intervallo temporale della Figura 13 e passando al metodo Local threshold, nella Figura 15 si può vedere che i picchi sono stati individuati correttamente. Tuttavia, tale metodo può comportare comunque errori di identificazione. Nella Figura 16 vengono riportati alcuni esempi di questi errori.

Anche se gli errori commessi dall'algoritmo non vengono del tutto eleminati, il loro numero cala drasticamente e quindi l'intervento manuale viene ridotto.

In generale si vuole che l'intervento dell'utilizzatore venga ridotto al minimo oppure, se possibile, che non sia addirittura necessario, in quanto il fine di questo programma è risparmiare al ricercatore il compito di determinare i periodi cardiaci manualmente, in maniera tale che si possa concentrare solamente sui risultati dell'elaborazione dei dati e non anche sull'elaborazione stessa.



Figura 15 Usando il metodo Local threshold, tutti i picchi R all'interno dell'intervallo considerato vengono individuati pur essendo presente una deriva del segnale ECG. Si confronti la presente figura con la Figura 13.



Figura 16 Esempio di errore di identificazione quando si utilizza il metodo Local Threshold. Si può osservare come nell'intervallo tra 15 s e 16 s sono stati individuati due picchi che in realtà non sono picchi R.

Una volta che si è impostato al meglio il metodo di detezione automatica dei picchi R si clicca sul pulsante **Proceed** e si passa all'interfaccia successiva, che viene mostrata nella Figura 17 e che permette di intervenire manualmente sul risultato dell'identificazione automatica dei picchi R.



Figura 17 In una schermata più estesa, rispetto alle precedenti, viene riportato il risultato della detezione automatica dei picchi R.

Questa schermata presenta una moltitudine di pulsanti. Ci sono pulsanti che consentono diverse opzioni di zoom (Zoom in/out e Zoom horizontally/vertically), pulsanti di selezione (Select), pulsanti che consentono di muoversi lungo tutta il tracciato ECG (Move, </>, |<</>>), il pulsante Reset view che ripristina la visualizzazione di defalut e infine i pulsanti Mark as peak/Mark as non-peak. Questi ultimi hanno una funzione fondamentale in questa interfaccia in quanto permettono di intervenire sull'identificazione automatica, marcando i campioni da noi selezionati come picchi

In questo modo, ARTiiFACT ci dà la possibilità di correggere eventuali errori di identificazione automatica (picchi non R indentificati come tali dall'algoritmo oppure di identificare i picchi che sono stati omessi dall'algoritmo). Per la correzione, ARTiiFACT ci mostra una porzione di tracciato, dove riporta il risultato della detezione automatica dei picchi, cioè le linee azzurre verticali che rappresentano la posizione dei picchi, sovrapposte al tracciato ECG. L'utilizzatore dovrà spostarsi lungo tutto il tracciato del

segnale ECG, usando le varie opzioni di movimento a sua disposizione, e intervenire se sia o meno necessario.

Nel caso in cui si ritenga che l'algoritmo di detezione automatica dei picchi abbia commesso un errore di identificazione individuando come picco R un valore non corretto, si dovrà cliccare sul pulsante **Select** e poi spostare il cursore del mouse sul campione in corrispondenza del quale è stato rilevato il picco oppure direttamente sulla riga azzurra e cliccarci sopra, selezionando così il campione. Successivamente si dovrà cliccare sul pulsante **Mark as a non-peak**. La riga passerà da una colorazione azzurra ad una arancione, il che significa che il campione in questione non sarà più considerato come picco R. Si possono anche selezionare più campioni contemporaneamente, schiacciando il tasto **Select** e poi cliccando sui vari campioni, oppure sulle righe azzurre, corrispondenti ai picchi rilevati e poi schiacciare il pulsante **Mark as a non-peak**. Facendo così si possono deselezionare tutti i campioni che sono stati erroneamente considerati picchi.

Nel caso in cui ci si rende conto che ci siano dei picchi che non sono stati rilevati dall'algoritmo di detezione automatica, si schiaccia il tasto **Select** e si seleziona il campione in corrispondenza del quale si ritiene che ci sia il picco, spostando il cursore sul campione e cliccandoci sopra. Successivamente si dovrà cliccare sul pulsante **Mark as a peak**. In corrispondenza del campione comparirà una riga verde, il che significa che il campione in questione sarà considerato come picco R. L'operazione di detezione manuale dei picchi può essere eseguita contemporaneamente su più campioni, selezionando con il cursore più campioni e poi schiacciando il pulsante **Mark as a peak**.

Queste due operazioni devono essere eseguite su tutto il tracciato, spostandosi di volta in volta su tutte le sezioni del tracciato ECG, in maniera tale da controllare e assicurarsi che tutti i picchi R siano stati individuati correttamente. Nella Figura 18 viene mostrato il risultato di queste due operazioni su una sezione del tracciato ECG.



Figura 18 Si può notare come i picchi R rilevati automaticamente dall'algoritmo siano azzurri, mentre quelli deselezionati e selezionati dall'utilizzatore siano rispettivamente di colorazione arancione e verde.

Ci possono essere dei casi in cui il tracciato presenta un andamento altamente irregolare, a causa di rumore oppure di artefatti, come nel caso riportato nella Figura 19. In questi casi l'utilizzatore deve deselezionare eventuali picchi rilevati dall'algoritmo e tenere conto dell'eliminazione fatta. Si dovrà tenere conto di tale eliminazione in quanto ARTiiFACT calcolerà il periodo cardiaco come la differenza temporale tra i battiti rilevati o selezionati più vicini alla traccia eliminata, come viene mostrato in Figura 19. Tale periodo cardiaco non sarà chiaramente valido e dovrà essere escluso dall'analisi (o dovrà essere fatta una qualche operazione di interpolazione all'interno di questo intervallo) ed è per questo motivo che si deve sapere dov'è stata fatta tale operazione, in maniera tale da non confonderlo con un battito effettivo più prolungato.



Figura 19 Si noti come nell'intervallo tra 30 s e 32 s l'andamento del segnale è irregolare e nonostante questo l'algoritmo di detezione automatica dei picchi ha comunque rilevato due picchi che in realtà non sono picchi R. Tali picchi vanno deselezionati. I picchi R evidenziati in giallo sono i due picchi R usati da ARTiiFACT per il calcolo del periodo cardiaco quando la parte di tracciato compresa tra di essi viene eliminato.

Completata la fase di correzione manuale degli errori di identificazione dei picchi R si procede cliccando sul pulsante **Proceed**. Facendo così si passa alla successiva interfaccia che viene mostrata in Figura 20.

Questa è l'interfaccia finale del modulo che stiamo esaminando. Tale interfaccia consente scegliere in che tipo di file verranno esportati i risultati di questo modulo. Questo modulo fornisce in uscita l'elenco dei valori degli intervalli inter-battito; i valori sono forniti in ms e con una risoluzione di 2 ms. Questo elenco di valori può essere salvato in formato .txt o .xls. Di default il tipo di file è .txt. È possibile rinominare il file in cui i risultati verranno esportati, essendo denominati di default IBIs_from_ECG_FileName (FileName è il nome del file che forniamo come input all'inizio dell'elaborazione).

Infine, vengono forniti due grafici: la distribuzione degli intervalli inter-battito estratti **'Distribution of extracted interbeat intervals'** e il QQ-plot degli intervalli inter-battito **'QQ-plot of extracted interbeat intervals'**.



Figura 20 L'interfaccia finale consente di scegliere il tipo di file in cui verranno salvati i risultati, ovvero gli intervalli inter-battito, spuntando o Excel-file, per file .xls, oppure txt-file, per file .txt. Si può modificare anche il nome del file in cui i dati verranno salvati, sostituendolo con il nome che viene dato di default nel rettangolo a destra di "Filename for storage". Infine, vengono visualizzati anche 2 grafici che forniscono informazioni sulla distribuzione degli intervalli inter-battito estratti.

Distribution of extracted interbeat intervals

Nella parte sinistra dell'interfaccia viene mostrata la distribuzione degli intervalli interbattito (IBI) all'interno di un istogramma. Tale istogramma (Figura 21) riporta sull'asse delle ascisse i valori degli intervalli inter-battito (espressi in ms e con una risoluzione di 2 ms) e sull'asse delle ordinate quante volte ciascun valore di intervallo inter-battito si è presentato nel tracciato ECG esaminato.



Figura 21 Ogni barra rappresenta il numero di battiti che hanno una durata pari al valore riportato sull'asse delle ascisse.

QQ-plot of extracted interbeat intervals

Nella parte destra dell'interfaccia viene mostrato il QQ-plot (Quantile-Quantile plot), che è la rappresentazione grafica dei quantili di una distribuzione [5]. È un metodo grafico per confrontare due distribuzioni di probabilità, (in particolare la distribuzione campionaria in esame e la distribuzione normale) graficando i rispettivi quantili gli uni rispetto agli altri. Inoltre, fornisce anche informazioni sulla simmetria di tale distribuzione.

Un quantile di ordine α è un valore q_{α} che divide un certo gruppo di dati in due gruppi. Immaginando di prendere i numeri interi dal 1 al 15, il numero 8, che è anche la mediana, è il quantile di ordine ½, chiamato anche 50esimo percentile (in quanto il 50% dei valori campionari cade al di sotto di tale valore), il valore 4, cioè la mediana considerando il gruppo di numeri dal 1 al 7, è il quantile di ordine ¼, chiamato 25esimo percentile (in quanto il 25% dei valori campionari cade al di sotto di tale valore), mentre il valore 12, cioè la mediana considerando il gruppo di numeri dal 9 al 15 è il quantile di ordine ³/₄, chiamato 75esimo percentile (il 75% dei valori campionari cade al di sotto di tale valore), etc.

In generale l'ordine di un quantile si calcola come il rapporto tra la sua posizione, all'interno del gruppo di valori campionari ordinati in senso crescente, e il numero totale di elementi del gruppo di valori, mentre il valore del quantile è il valore del relativo dato. Ad esempio, nel gruppo di valori usati precedentemente, l'ordine del quantile del terzo valore del gruppo è pari a 3/15, quindi 0.2 (chiamato anche 20esimo percentile), mentre il suo valore è 3.

Per tracciare il QQ-plot dei periodi cardiaci, ARTiiFACT inizialmente assegna ad ogni dato IBI il proprio quantile. Prende poi in considerazione una curva normale alla quale viene assegnato lo stesso numero di quantili quanti sono quelli dei dati IBI. Nel caso della normale, la suddivisione in quantili della curva porta alla suddivisione in intervalli all'interno dei quali si ha la stessa probabilità di osservare un certo valore. Nella Figura 22 viene illustrata tale suddivisione.



Figura 22 La probabilità, vista come l'area sottesa dalla curva normale per ogni intervallo, è la stessa per ogni intervallo. Tratto da <u>www.statisticshowto.com</u>.

Il QQ-plot riporta sull'asse delle ascisse i valori dei quantili della curva normale, mentre sull'asse delle ordinate i valori dei quantili dei dati IBI. I vari punti del grafico hanno come coordinate (x,y) rispettivamente il valore del quantile di ordine n della curva normale e il valore del quantile di ordine n dei dati. Nella Figura 23 viene mostrato un esempio di QQ-plot visualizzato da ARTiiFACT.



Figura 23 Sull'asse delle ascisse vengono riportati gli standard normal quantiles, cioè i valori dei quantili della curva normale, mentre sull'asse delle ordinate i quantiles of input samples, cioè i valori dei quantili dei dati IBI.

Se i dati avessero una distribuzione normale, tutti i punti del QQ-plot giacerebbero sulla diagonale, la linea tratto-punto di colore rosso in Figura 23. Nella figura in esame, l'allontanamento dei dati dalla linea rossa agli estremi indica la presenza di outliers.

Sulla base della concavità del insieme di punti di un QQ-plot, la distribuzione dei dati può avere una asimmetria positiva oppure negativa. Nel caso di una concavità verso l'alto, la asimmetria della distribuzione è positiva, mentre è negativa se la concavità è verso il basso. Nella Figura 24 viene mostrato tale corrispondenza.





Dopo aver scelto il tipo di file in cui salvare i risultati e, eventualmente, rinominato il file, cliccando sul pulsante **Save & quit**, i dati vengono salvati nel file in questione.

In questo lavoro i file sono stati salvati esclusivamente in file .txt senza rinominare i file, lasciando quindi il nome di default.

3.4 Detect and process artifacts in IBI data

In questo modulo vengono individuati in maniera sia automatica che manuale artefatti presenti nel tacogramma (cioè nel grafico degli intervalli IBI in funzione del tempo) ottenuto con il primo modulo.

Per accedere a questo modulo, si deve cliccare sul pulsante **File by file** sotto la scritta che identifica il modulo (si veda Figura 3). In seguito, si aprirà un'interfaccia simile a quella di Figura 4, in cui però si deve aprire il file contenente gli intervalli IBI salvato come output dal modulo precedente (nel caso specifico IBIs_from_ECG_FileName.txt). Il file viene aperto cliccando sul pulsante raffigurante una cartella. In base ai dati ricevuti come input, nella schermata azzurra a destra, viene tracciato il tacogramma, che riporta sull'asse delle ascisse il tempo in secondi, e sull'asse delle ordinate i corrispondenti intervalli interbattito espressi in millisecondi. In modo analogo a quanto già visto per l'interfaccia iniziale del modulo precedente (si veda Figura 4) è possibile eseguire dei tagli del tracciato. Sono presenti anche gli stessi pulsanti già esaminati in Figura 4. L'interfaccia iniziale di questo modulo viene riportata nella Figura 25.



Figura 25 Come nell'interfaccia iniziale del precedente modulo, ci sono i pulsanti di zoom, di spostamento, di selezione e di reset della visualizzazione del tracciato che in questo caso, però, rappresenta il tacogramma. Inoltre, ci sono anche le varie opzioni di taglio e la schermata azzurra dove viene tracciato il tacogramma.

Dopo aver caricato i file ed eseguito o meno dei tagli, si passa alla successiva interfaccia cliccando il pulsante **Proceed**. Questa seconda interfaccia viene mostrata nella Figura 26.

Questa seconda interfaccia consente di applicare un metodo di detezione automatico degli artefatti nella serie degli intervalli inter-battito (tacogramma), scegliendo tale metodo automatico dal menu a tendina in corrispondenza della scritta "Detection method". Inoltre, fornisce la possibilità all'utilizzatore di intervenire manualmente per correggere eventuali falsi artefatti (falsi positivi) o identificare artefatti omessi (falsi negativi) dal metodo automatico.

Come si osserva nell'interfaccia mostrata in Figura 26, sono presenti due finestre blu (una a sinistra più piccola e una a destra più grande) predisposte alla visualizzazione del tacogramma e del risultato della detezione automatica degli artefatti: la finestra azzurra a sinistra è predisposta alla visualizzazione dell'intero tacogramma su cui sono marcati gli IBI identificati come artefatti, mentre la finestra azzurra a destra è predisposta alla visualizzazione di una porzione più ristretta del tacogramma, per una migliore visualizzazione. In basso a sinistra sono inoltre presenti gli stessi pulsanti dell'interfaccia di Figura 19, che permettono di fare le stesse operazioni: selezionare i campioni, muoversi lungo il tracciato del tacogramma, eseguire zoom, ripristinare la visualizzazione di defalut del tracciato. Inoltre, sono presenti i due pulsanti Mark as artifact/Mark as valid che permettono, se necessario, all'utilizzatore di modificare l'identificazione automatica degli artefatti, marcando i campioni selezionati manualmente rispettivamente come artefatti o come non artefatti. Per visualizzare il tracciato nelle due finestre insieme al risultato della detezione automatica è necessario selezionare il metodo di detezione automatico nel menu a tendina e quindi schiacciare il pulsante raffigurante due frecce all'interno di un cerchio azzurro.



Figura 26 Nella schermata azzurra a sinistra viene riportato l'intero tacogramma, mentre nella schermata destra un intervallo più ristretto e ingrandito.

È possibile scegliere tra 2 metodi di detezione automatica degli artefatti: Median absolute deviation detection e Berntson detection.

Median absolute deviation detection

Questo metodo identifica gli outlier nella distribuzione degli intervalli inter-battito e identifica questi outlier come artefatti.

Un metodo per identificare gli outlier in una distribuzione di valori, è calcolare la media (m) e la deviazione standard (s) e considerare outlier i campioni che distano dalla media per più di 3 volte la deviazione standard (da entrambe le parti). Questo deriva dalla considerazione che in una distribuzione normale, il 99.87% dei valori è compreso nell'intervallo $m\pm 3 \cdot s$ e quindi la decisione consiste nel considerare come outlier i valori che stanno al di fuori di questo intervallo di valori, fatto che si verifica solo nel 0.13% dei casi. Tuttavia, l'uso di questo metodo per identificare gli outlier è problematico. Innanzitutto, assume che la distribuzione dei valori (compresi gli outlier) sia normale. In secondo luogo, la media e la deviazione standard sono fortemente influenzate dagli outlier: di conseguenza si assume che l'indicatore basato su media e deviazione standard guidi nell'identificazione degli outlier ma contemporaneamente è lui stesso fortemente influenzato dai valori degli outlier.

Un'alternativa al precedente indicatore per l'identificazione degli outlier è la Median Absolute Deviation. La mediana (ovvero il quantile di ordine $\frac{1}{2}$ o 50-esimo percentile) è uno stimatore della tendenza centrale dei dati, analogamente alla media, ma a differenza della media, è più robusto, cioè, è molto meno sensibile alla presenza degli outlier. La Median Absolute Deviation è la deviazione assoluta mediana dalla mediana e, dato un vettore x = [x₁, x₂,...,x_n] di valori, è definita nel seguente modo:

$$D = Median Absolute Deviation = median (abs(x - median(x)))$$
$$= median(abs(x - M))$$

dove è stato posto

$$M = median(x)$$

È dunque ottenuta calcolando la differenza assoluta tra ciascun valore del set di dati e la mediana dell'intero set, e quindi calcolando la mediana di tali differenze assolute.

La Median Absolute Deviation, opportunamente scalata, è uno stimatore consistente della dispersione dei dati (cioè della deviazione standard), con il vantaggio di essere molto insensibile agli outlier

$$scaledD = b \cdot D = b \cdot median(abs(x - M))$$

In genere, la costante moltiplicativa b = 1.4826, un valore legato all'assunzione di normalità dei dati, trascurando l'anormalità introdotta dagli outlier.

Un criterio conservativo di identificazione degli outlier, considera outlier quei valori del set x che si discostano dalla mediana per più di 3 volte la scaledD, considerando come validi tutti gli altri valori:

$$x_i \in x \text{ è un valore valido} \Leftrightarrow M - 3 \cdot scaledD \le x_i \le M + 3 \cdot scaledD$$

 $x_i \in x \text{ è un outlier } \Leftrightarrow (x_i > M + 3 \cdot scaledD) \text{ o } (x_i < M - 3 \cdot scaledD)$

Quanto illustrato sopra è il criterio adottato per l'identificazione degli artefatti dal metodo automatico Median Absolute Deviation Detection. Dato quindi in ingresso l'insieme degli intervalli inter-battito, cioè il set dei valori IBI, viene calcolato di questo set la mediana M_{IBI} , e la scaled Median Absolute Deviation (con b = 1.4826), scaledD_{IBI}. Quindi vengono etichettati come outlier, ovvero come artefatti, tutti quei valori IBI x_{iIBI} tali che

$$(x_{iIBI} > M_{IBI} + 3 \cdot scaledD_{IBI}) o (x_{iIBI} < M_{IBI} - 3 \cdot scaledD_{IBI})$$

Nella Figura 27 viene mostrato un esempio di risultato ottenuto applicando tale metodo.



Figura 27 Risultato dell'identificazione automatica degli artefatti mediante il metodo Median Absolute Deviation Detection. Come detto nel testo, la porzione azzurra a sinistra contiene l'intero tacogramma esaminato, mentre la porzione azzurra a destra visualizza solo una porzione ridotta di tacogramma, corrispondente alla finestra di colore blu elettrico nella figura di sinistra. Le linee verticali tratteggiate rosse indicano gli intervalli inter-battito che sono stati identificati come artefatti. Si può anche notare come l'algoritmo abbia rilevato degli artefatti, nell'intervallo 55 s – 60 s, che in realtà non sono artefatti. Questo particolare sarà analizzato meglio in seguito.

Berntson detection

Il secondo metodo di detezione degli artefatti implementato in ARTiiFACT [6] sfrutta un algoritmo proposto da Berntson et al. (1990). Per una descrizione dettagliata di questo metodo, il lettore può fare riferimento all'articolo originale [8]. Qui di seguito vengono forniti gli elementi essenziali di questo algoritmo.

L'algoritmo di Berntson si basa sulla distribuzione delle differenze tra intervalli interbattito adiacenti. D'ora in avanti le differenze tra IBI adiacenti verranno indicate come Δ_{IBI} . In particolare, l'algoritmo sfrutta il fatto che le Δ_{IBI} generate dalla presenza di

artefatti sono grandi rispetto ad una normale variabilità, e pertanto la rilevazione di differenze elevate tra IBI successivi serve a identificare potenziali artefatti. Infatti, nella serie di IBI possono essere presenti solo due tipi di artefatti: artefatti dovuti all'omissione di un battito reale oppure artefatti dovuti all'inserimento di un battito spurio. Un complesso QRS omesso dà origine ad un IBI che è il doppio della media dei due battiti reali. Al contrario, un artefatto originato da una detezione spuria di onda R tra due reali complessi QRS, farà sì che almeno uno dei due risultati IBI spuri sia uguale o inferiore a metà del reale intervallo. In entrambi i casi, comunque, il risultato è che la differenza tra un IBI generato da un artefatto e i circostanti IBI relativi a battiti veridici è larga rispetto alla normale variabilità del periodo cardiaco. Ad es. Berntson riporta nell'articolo [8] i dati di intervalli inter-battito (corretti manualmente da artefatti) di 60 soggetti umani; per essi la distribuzione delle Δ_{IBI} ha valore medio pari a 0 e deviazione standard di 57.5 ms. Assumendo una distribuzione normale di queste differenze (prive di artefatti), il 99% di valori di Δ_{IBI} è inferiore a 148 ms (≈ 2.58 ·deviazione standard). La presenza di artefatti dà invece origine a Δ_{IBI} molto maggiori. Per un IBI tipico di 800 ms contenente un battito di artefatto spurio, almeno uno dei risultanti battiti sarà inferiore o uguale a 400 ms. Questo porta ad una differenza Δ_{IBI} (con i circostanti IBI di battiti veridici) di almeno 400 ms o superiore. In modo simile, un battito omesso dà origine a un IBI di artefatto di circa 1600 ms, che differisce dai normali battiti circostanti mediamente di 800 ms. In conclusione, dunque, gli artefatti danno origine a IBI di valore fortemente deviato, con conseguenti Δ_{IBI} maggiori rispetto alla normale variabilità del periodo cardiaco. L'idea alla base di questo metodo è quindi quella di poter separare la distribuzione delle $\Delta_{\rm IBI}$ relative ai battiti veridici e la distribuzione delle Δ_{IBI} associate agli artefatti

In questo metodo gli artefatti sono identificati ottenendo una stima accurata della massima differenza attesa tra IBI normali (Maximum Expected Difference MED) e la minima differenza attesa tra IBI dovuti agli artefatti (Minimal Artifact Difference, MAD). Se il primo indice (la Maximum Expected Difference per battiti veridici) è più piccolo del secondo indice (la Minimal Artifact Difference, MAD, cioè la minima differenza attesa associata con un artefatto), questi due indici possono servire per differenziare gli IBI di artefatto dagli IBI veridici. Vediamo ora come, sulla base di questo metodo, vengono stimati i due indici MED e MAD (attenzione a non confondere qui l'acronimo MAD = Minimal Artifact Detection con la Median Absolute Deviation che – proprio per evitare confusione – è stata indicata con D nel paragrafo precedente).

Una stima accurata della MED tra battiti normali, a partire da un set di IBI (contenenti anche IBI artefattuali) include i seguenti passi.

a) Si usa un indice di variabilità degli IBI basato sui percentili (anziché la standard deviation), ovvero il range interquartile (Interquartile Range, IQ = valore del 75-esimo percentile meno il valore del 25-esimo percentile). Si introduce poi il Quartile Deviation QD=IQ/2.

b) L'indice IQ (ovvero QD) sono poco sensibili alla presenza di artefatti nella distribuzione degli IBI e può dunque essere usato per ottenere una stima della deviazione standard degli IBI di battiti normali. Per una distribuzione normale si ha che:

standard deviation (SD) =
$$1.48 \cdot QD = 0.74 \cdot IQ$$

Questa fornisce una stima della deviazione standard dei battiti normali nel set di IBI comprendenti anche gli artefatti.

c) Tenendo conto che per una distribuzione normale di Δ_{IBI} , i valori all'interno dell'intervallo $\pm 3.32 \cdot QD$ (= 2.24 · SD) contengono circa il 97.5% di tutte le differenze, e poiché le Δ_{IBI} non artefattuali hanno una distribuzione approssimativamente normale, la Maximum Expected Difference (MED) per IBI normali (non di artefatto) è stimata come:

$$MED = 3.32 \cdot QD = 2.24 \cdot SD$$

Per quanto riguarda invece la stima della Minimal Artifact Difference MAD (la minima differenza interbattito legata ad artefatti), una serie di considerazioni (si vedano i dettagli nell'articolo [8]) porta ad assumere

dove il 'Shortest expected veridical beat' è il più breve IBI normale. Questo ultimo è stimato come

Shortest expected veridical beat = Median(IBI)
$$- 2.9 \cdot QD$$

Infatti, per una distribuzione normale degli IBI, il valore stimato come indicato sopra è più piccolo del 97.5% di tutti gli IBI. Pertanto

$MAD = (Median(IBI) - 2.9 \cdot QD)/3$

I due indici MED e MAD possono essere interpretati nel seguente modo: il MED può essere interpretato come il limite superiore della distribuzione delle Δ_{IBI} relative a battiti normali mentre il MAD come il limite inferiore della distribuzione delle Δ_{IBI} relative ad artefatti. Se MED è inferiore a MAD essi possono essere usati per discriminare le differenze tra IBI veridici e le differenze tra IBI generati da artefatto. In particolare, un ragionevole criterio fissa la soglia di discriminazione tra Δ_{IBI} di artefatto e Δ_{IBI} di battiti normali a metà strada tra MED e MAD, ovvero al seguente valore

Criterion Beart Difference (CBD) = (MED + MAD)/2

La Figura 28 illustra i concetti sopra esposti. Tale figura riporta la distribuzione di probabilità delle Δ_{IBI} relative a battiti veridici, relativi a battiti spuri (extra) e relativi a battiti omessi (missed). I valori sono espressi come rapporto dei valori Δ_{IBI} rispetto alla soglia CBD: come si osserva le Δ_{IBI} di artefatto hanno valore sopra a CBD, mentre una percentuale molto limitata di Δ_{IBI} veridici hanno valori al di sopra di CBD e una larga percentuale è al di sotto.



Figura 28 Distribuzione di probabilità delle differenze tra IBI adiacenti relativi a battiti veridici (linea continua), e relativi a IBI di artefatto (battiti spuri linea tratteggiata, battiti omessi linea punteggiata). I dati sono espresso come i valori delle Δ_{IBI} divisi per la soglia CBD. Come si vede la distribuzione di probabilità delle Δ_{IBI} relative a battiti veridici sta al di sotto di quelle relative agli artefatti, con una piccola sovrapposizione tra le code delle distribuzioni. Tratta da [8].
L'inevitabile sovrapposizione tra le code delle distribuzioni Δ_{IBI} associate con battiti veridici e con artefatti genera inevitabilmente falsi allarmi (cioè falsi positivi). Il metodo di Berntson prevede anche un algoritmo per la detezione dei falsi allarmi (si veda [8]) qui non descritto per brevità e perché esula dall'obiettivo del presente lavoro.

Un esempio di applicazione dell'algoritmo di Berntson per la detezione degli artefatti è mostrato in Figura 29.



Figura 29 Applicando questo algoritmo di detezione allo stesso tacogramma di figura 27, si vede come, a differenza di figura 27, i campioni compresi nell'intervallo 55 s - 60 s, non sono stati identificati come artefatti.

La modalità di segnalazione degli artefatti individuati con questo metodo è identica a quella di Figura 27, anche se gli artefatti individuati con i due metodi possono differire (in generale il metodo di Berntson individua un numero inferiore di artefatti).

A prescindere dal tipo di algoritmo automatico utilizzato, l'interfaccia inoltre, fornisce sempre il numero di artefatti individuati automaticamente, in corrispondenza della voce "Automatically detected artifacts", e il numero di artefatti selezionati manualmente (cioè quei campioni che sono stati indicati come artefatti da parte dall'utilizzatore), in corrispondenza della voce "Currently selected artifacts".

Nel caso in cui si disponga della solo sequenza degli IBI senza il segnale ECG originale (come è il caso di alcuna strumentazione che fornisce come output gli intervalli R-R e non il segnale ECG) l'utilizzatore deve necessariamente affidarsi (e fidarsi) dei metodi automatici di detezione degli artefatti nella serie IBI. Nel caso invece in cui si disponga del segnale ECG originale, è consigliato [9] ispezionare il segnale ECG in corrispondenza agli artefatti identificati automaticamente allo scopo di verificare visivamente gli intervalli R-R e confermare o meno l'artefatto identificato negli IBI. L'importanza dell'ispezione visiva da parte dell'utilizzatore è sottolineata nel presente esempio. La Figura 30 mostra la detezione automatica (usando l'algoritmo di Median absolute deviation detection) di due artefatti. Ispezionando il segnale ECG originale in corrispondenza agli IBI identificati come artefatti (Figure 31 e 32), si evidenzia come quelle due detezioni siano in realtà falsi positivi. In entrambi i casi infatti, non corrispondono a complessi QRS omessi ma a veridici più prolungati intervalli R-R. Per questo motivo, in questo lavoro l'identificazione automatica degli artefatti è stata poi sottoposta a una verifica mediante ispezione visiva del tracciato ECG.



Figura 30 Il metodo automatico di detezione degli artefatti (in questo caso Median absolute deviation detection) segnala la presenza di due artefatti (uno vicino a 125 s e l'altro vicino a 147 s).



Figura 31 Segnale ECG originale mostrato nell'intervallo tra 120 e 130 s. Si osserva che in corrispondenza a 125 s si ha un periodo cardiaco veridico più prolungato che è stato erroneamente marcato come un artefatto dal metodo automatico.



Figura 32 Segnale ECG originale mostrato nell'intervallo tra 140 e 150 secondi. Si nota che in realtà l'IBI identificato come artefatto non è tale ma è un veridico intervallo R-R più prolungato.

Per la correzione degli errori di individuazione o per individuare manualmente gli artefatti, si adotta lo stesso procedimento usato nella fase di correzione di individuazione dei picchi R: si seleziona il campione e poi si schiaccia il tasto **Mark as valid**, nel caso in cui si vuole indicare che tale campione non è un artefatto, oppure il tasto **Mark as artifact**, nel caso in cui si vuole indicare che il campione è un artefatto. Nel primo caso i campioni vengono individuati con una linea verde, mentre nel secondo caso con una linea

arancione. Il pulsante **Deselect all** deseleziona tutti i campioni che sono stati indicati come artefatti.

Infine, il pulsante **View report** mostra una tabella che fornisce le seguenti informazioni: numero di artefatti, numero totale di punti (campioni), la differenza interquartile (IQ), la deviazione standard (SD, stimata come $0.74 \cdot IQ$), la MED (Maximum Expected Difference degli intervalli RR normali stimata sulla base del QD = IQ/2 come precedentemente descritto), la MAD (Minimal Artifact Difference, la minima differenza attesa degli intervalli RR dovuti a artefatti stimata come indicato precedentemente sulla base della mediana degli IBI e del QD), CBDa (il Criterio Beat Difference = (MED+MAD)/2), la media degli IBI e infine la mediana degli IBI.

Dopo aver individuato correttamente gli artefatti, si passa alla interfaccia successiva cliccando il pulsante **Proceed**. L'ultima interfaccia relativa al modulo 'Detect and process artifacts in IBI data' viene mostrata in Figura 33.

ARTiiFACT, con quest'interfaccia chiede all'utilizzatore come gestire gli artefatti e dà 4 possibilità:

- 1. Interpolazione cubica;
- 2. Interpolazione lineare;
- 3. Cancellazione;
- 4. Sostituzione con NaN.

Con il primo e il secondo metodo, i campioni che vengono identificati come artefatti vengono prima cancellati, per poi applicare un'interpolazione con un polinomio di terzo grado, nel caso dell'interpolazione cubica, o con un polinomio di primo grado, nel caso dell'interpolazione lineare.

Con il terzo metodo, gli artefatti vengono semplicemente rimossi dal tracciato, mentre con il quarto vengono sostituiti con NaN (Not a Number).

In tutti i casi il tracciato che ne risulta viene sovrapposto al tracciato originale, come si può ben vedere nella Figura 33.

Se si vuole vedere il risultato della gestione degli artefatti si deve schiacciare il pulsante di refresh di fianco al menu a tendina, ogni qualvolta si cambia metodo. Nel lavoro svolto, si è scelto di utilizzare il metodo di interpolazione cubica per la correzione degli artefatti. Viene data anche la possibilità di scegliere il formato del file in cui i dati verranno salvati, avendo la possibilità di scegliere tra .txt, .xls e .rsa, e anche di cambiare il nome del file, il quale di default sarà IBIs_from_ECG_NomeFile_artifactProcessed.



Figura 33 Nella schermata azzurra a sinistra viene riportata la distribuzione degli IBI senza artefatti, mentre a destra il tacogramma originale, in blu, con sovrapposto il nuovo tacogramma, in rosso, ottenuto applicando il metodo di correzione degli artefatti.

3.5 Analyse HRV

Questo modulo richiede come input il tacogramma. Quest'ultimo può essere sia quello ottenuto dal modulo 'Extract IBIs from ECG data', cioè un file con nome (nella nostra trattazione) 'IBIs_from_ECG_NomeFile', sia quello ottenuto dopo la trattazione e la correzione degli artefatti nel modulo precedente 'Detect and process artifacts in IBI data' con nome 'IBIs_from_ECG_NomeFile_artifactProcessed'. La serie IBI in ingresso è sottoposta ad un'analisi nel dominio del tempo e delle frequenze.

Come per tutti gli altri moduli, per accedervi si deve cliccare sul pulsante **File by file** sotto la scritta che identifica il modulo. In seguito, si apre l'interfaccia mostrata in Figura 34, dove vengono anche riportati i risultati dell'analisi sui dati.

Quest'interfaccia consente di caricare i dati, cliccando il solito pulsante raffigurante una cartella, di scegliere il tipo di file in cui salvare i risultati dell'analisi avendo la possibilità di scegliere tra .txt e .xls, e di rinominare il file, che di default è IBIs_from_ECG_NomeFile_artifactProcessed_hrvResults.



Figura 34 Nella parte sinistra dell'interfacci viene riportato il tacogramma, mentre la parte destra è dedicata all'analisi nel dominio dei tempi, in alto, dove viene riportata la distribuzione di frequenza degli IBI e alcuni parametri, e delle frequenze, in basso, dove invece viene riportato lo spettro di potenza e le potenze nelle varie bande in cui lo spettro viene suddiviso. Le frequenze delle bande possono essere cambiate nella parte sinistra dell'interfaccia in corrispondenza della voce "Frequency bands [Hz]".

L'analisi nel dominio dei tempi riporta la distribuzione degli IBI, vista anche nei precedenti moduli, e i seguenti parametri:

- 1. Mear RR: il valore medio degli intervalli battito-battito;
- 2. SDNN: la deviazione standard degli intervalli battito-battito normali (NN);
- 3. RMSSD: lo scarto quadratico medio delle differenze tra intervalli successivi;
- NN50: numero di battiti normali adiacenti che differiscono l'uno dall'altro di 50 millisecondi o più;

 pNN50: percentuale dei battiti normali adiacenti che differiscono l'uno dall'altro di 50 millisecondi o più.

L'analisi nel dominio delle frequenze consiste in un'analisi spettrale di potenza, che fornisce una stima della potenza a ciascuna frequenza. Viene infatti mostrato lo spettro di potenza che viene suddiviso in 3 bande: VLF (very low frequency), LF (low frequency), HF (high frequency).

Per ogni banda di frequenza viene riportata la potenza associata in [ms²] e la potenza normalizzata [n.u.], in corrispondenza delle voci VLF, LF e HF. Inoltre, viene riportato anche il rapporto tra la potenza della banda LF e HF.

Il significato fisiologico dei parametri, delle potenze delle varie bande e del rapporto LF/HF sono stati spiegati nel capitolo 2 del suddetto lavoro.

3.6 Test for normal distribution

Infine, l'ultimo modulo esegue un'elaborazione statistica, fornendo delle informazioni che possono aiutare a valutare se le condizioni sperimentali erano appropriate e se la strumentazione è stata usata correttamente [6]. Per accedere a questo modulo si deve schiacciare il solito pulsante **File by file**.

L'interfaccia che si apre viene riportata in figura 35, dove vengono anche riportati i risultati dell'elaborazione sui dati. Anche in questo caso per caricare i dati, cioè il tacogramma ottenuto con il secondo modulo, si deve schiacciare il pulsante raffigurante una cartella.

Oltre al tacogramma, alla distribuzione dei periodi cardiaci e al QQ-plot, già visti in precedenza, vengono riportati anche parametri statistici di dispersione, l'asimmetria della distribuzione, la curtosi e viene fatto il test di Kolmogorov-Smirnov.

I parametri statistici di dispersione che vengono riportati sono:

- Scarto interquartile: è un indice di dispersione e viene calcolato come la differenza tra il terzo e il primo quartile. Questo indice fornisce l'ampiezza della fascia di valori compresi tra il primo e quarto quartile;
- Deviazione media assoluta: misura la dispersione statistica di un campione e viene calcolato come la media del valore assoluto delle deviazioni dei dati dalla media [5];
- 3. Range: differenza tra il massimo e minimo dei valori degli intervalli inter-battito;
- 4. Deviazione standard: indice di dispersione che esprime la dispersione dei dati attorno ad un indice di posizione, come potrebbe essere la media aritmetica [5];
- 5. Varianza: fornisce una misura della variabilità dei dati (deviazione standard al quadrato) [5].

L'asimmetria insieme alla curtosi vengono usati per verificare quanto la distribuzione degli IBI si discosta dalla distribuzione normale. Per quanto riguarda l'asimmetria, essa ha a che fare con la forma della distribuzione. Si guardi la figura 24 per vedere cosa si intende per asimmetria positiva e negativa. Mentre la curtosi è un allontanamento dalla distribuzione normale, allontanamento che consiste in un maggior appiattimento o allungamento [5].

Oltre all'asimmetria e alla curtosi come misure di non-gaussianità c'è il test di Kolmogorov-Smirnov che verifica se la distribuzione dei dati si discosta in maniera significativa dalla distribuzione gaussiana [www.bayes.it]. Con questo test si verifica la validità dell'ipotesi nulla, la quale afferma che la distribuzione dei dati non si discosta dalla distribuzione normale, con un livello di significatività pari a 5%. Il risultato di tale test viene riportato nella voce "Test rejects null-hypothesis on the 5% level" (il risultato 'true', significa che l'ipotesi nulla è rigettata con un livello di confidenza del 5% e quindi che, con tale livello di confidenza, la distribuzione degli IBI si discosta dalla distribuzione normale). Infine, viene anche riportato il p-value del test.



Figura 35 Vengono riportati il tacogramma, la distribuzione dei periodi cardiaci e il QQplot, già visti in precedenza. Inoltre, vengono riportati anche alcuni dati statistici nella parte destra dell'interfaccia.

Per salvare i dati e chiudere tale interfaccia schiacciare il pulsante Save & Quit.

3.7 Altri software per l'analisi della HRV

Per concludere questo capitolo, si desidera evidenziare che oltra al software ARTiiFACT qui utilizzato e scaricabile gratuitamente, sono disponibili altri software che possono essere usati per l'analisi della HRV, quali: Kubios, GHRV, KARDIA, VARVI, RHRV, LabVIEW e POLYAN. Le loro caratteristiche sono sinteticamente illustrate in [7]. Sono tutti programmi open source, scritti in python, MATLAB, R o altri linguaggi di programmazione, utilizzabili su Windows, MAC OSX e GNU LINUX. Differiscono l'uno dall'altro per le analisi e le operazioni che consentono di fare sui tracciati ECG ed eventualmente sui tracciati HRV. Tutte le caratteristiche dei singoli programmi sono sintetizzate nella tabella di figura 36.

Software	Features	Data format (signal)	Data format (output)	Time domain	Frequenc y domain	Non-linear domain	Free available	Platform
Kubios ⁷	QRS detection, artefact correction, Spectral factorization and respiratory frequency estimation.	.edf, .pdf, .txt, .acq, polar .mat and .gdf	MAT files, ASCII files, .pdf file,	Yes (Mean RR, SDNN, RMSSD, NN50, pNN50, TINN, RR Triangular index.	Fourier, AR(VLF, LF, HF), LF/HF	Yes (Poincaré plots, SD1, SD2, DFA, ApEn, Recurrence plot, SampEn, Multiscale entropy)	Yes	Linux, windows (Matlab)
gHRV ^S	Frame based evaluation, outlier removal, automatic and manual filtering, artifact removal, portable tool developed in python.	WFDB, ASCII files, IBI ASCII files, polar and suunto heart rate monitors(HRM and SDF/STE files)	.txt file	Yes	Yes	Yes (Poincaré plot, ApEn, FracDim)	Yes	Linux, windows OS X (Matlab)
LabView ²⁵	Appearance of virtual instruments imitates the actual instruments, interactive user interface and source code, creates custom HRV analysis applications.	IBI data type	Create program in flow chart lform called block diagram.	Yes	Fourier, AR	Poincaré plot, Detrended fluctuation.	Yes	Linux, windows
RHRV 24	Statistical calculation, R- programming language.	ASCII and WFDB	.txt files	Yes	Fourier, wavelet	ApEn, fracDim	Yes	Linux, windows OS X (R)
ARTiiFACT ⁶	Batch processing, artifact removal, Independent modules for various import and export opportunities	.txt, .hdf,.xls, .mat	Matlab files, spreadsheet format.	Yes	Fourier	No	Yes	Window (Matlab)
KARDIA ²²	User defined sampling, load data from many subjects simultaneously and calculates average PCRs and HRV statistics IBI analysis	.txt files, .mat files.	Matlab file	Yes	Fourier and AR	Detrended fluctuation	Yes	Linux, Window (Matlab)
VARVI ²³	Allow the analysis of HRV while the subject watching a series of videos (Visual stimuli)	Compatible with gHRV and RHRV	.txt files	Yes	Fourier	Yes	Yes	Linux, mPlayer, PyBlueZ
aHRV ²⁴	Segmented ECG analysis, Advanced detrending options, informative printable report sheet.	ASCII text file, .txt, .pdf, mat, binary files, .edf	.pdf, .emf, .bmp, .jpg, .tif, .eps, .png, .pgm, .pcx, .pbm, .ppm	Yes	Fourier, AR	Poincaré plot	Yes	Window
POLYAN ²⁶	Analysis of several simultaneous signals, non-invasive technique, used for neurovegetative assessment, baroreflex sensitivity, flexible	Raw time series (heart period, systolic and diastolic arterial pressure, instantaneous lung volume).	.mat	Yes	Fourier , AR	Yes	Yes	Window(Ma tlab)

Figura	36 La	tabella	riporta	in	sintesi	le	caratteristiche	principali	dei	programmi	sopra
citati. 7	Fratto d	la [7].									

Tra i vari software, è stato scelto ARTiiFACT per una serie di motivi. Innanzitutto, è stand-alone e non richiede di possedere licenza di altri programmi per essere utilizzato, a differenza di altri software per l'analisi della HRV come RHRV che richiede l'uso del software statistico R o LabView. Tra l'altro questi avrebbero richiesto l'acquisizione di competenze nell'uso di questi specifici programmi. In secondo luogo, è stato selezionato in quanto permette di estrarre gli intervalli RR dal segnale ECG, cosa non possibile in altri software: ad es. Kubios nella sua versione Standard, scaricabile gratuitamente, può lavorare solo sul tacogramma, mentre per estrarre gli intervalli IBI dal segnale ECG è necessario utilizzare la versione Premium a pagamento. Inoltre si è scelto di usare ARTiiFACT perché presentava le caratteristiche richieste per questo lavoro di tesi (appunto la possibilità di estrarre gli intervalli RR dal segnale ECG, la possibilità di

trattare e correggere gli artefatti, l'analisi dell'HRV nel dominio dei tempi e delle frequenze) e non includeva potenzialità non necessarie in questo contesto (come analisi non-lineari mediante Poincaré plot, Entropia, analisi frattale, etc) Inoltre, come si è visto, ARTiiFACT consente una moltitudine di operazioni, come ad esempio le varie opzioni di taglio, e permette di eseguire un'analisi automatica ma anche di intervenire manualmente sia nella fase di detezione dei picchi che di individuazione e rimozione degli artefatti. Inoltra ha un'interfaccia utente molto intuitiva e facile da usare.

Tuttavia, durante questo lavoro sono state riscontrate alcune problematiche, che non minano le funzionalità del programma ma piuttosto la comodità nel suo utilizzo (soprattutto quando prolungato). Tali problematiche vengono riportate nella seguente lista:

- Nel momento in cui si deve definire la cartella di lavoro, al primo tentativo essa non viene definita per cause sconosciute. Al secondo tentativo invece tale operazione va a buon fine. Si dovrebbe fare in modo tale che questa funzionalità funzioni già al primo tentativo in quanto il percorso del file potrebbe essere anche abbastanza lungo e dovendo ripetere l'operazione due volte, risulta essere molto fastidioso;
- Nei moduli 'Extract IBIs from ECG data' e 'Detect and process artifacts in IBI data', una volta che sono stati caricati i dati, nel caso in cui ci si accorge di aver caricato i dati sbagliati, non è possibile cambiare i dati caricati. È necessario chiudere e riaprire il modulo. Per questioni di comodità di utilizzo si dovrebbe avere la possibilità di cambiare i dati caricati;
- Se si vuole eseguire un taglio non è sufficiente impostare l'istante o gli istanti di tempo dopo, prima o tra i quali tale taglio si deve eseguire, in quanto la selezione della modalità di taglio non avviene in automatico. Schiacciando su !Apply cut!, senza aver selezionato la modalità di taglio si apriranno due finestre di errore. Inoltre, non sempre è possibile cambiare l'intervallo di valori che si vuole includere nell'analisi. Ad esempio, usando l'opzione "include data between" se si è scelto un certo intervallo di dati e lo si vuole restringere, questo non è possibile. Per un utilizzo più funzionale, si dovrebbe fare in modo tale che la modalità di taglio venga scelta automaticamente quando si imposta l'istante o gli istanti di tempo e si dovrebbe avere la possibilità di cambiare l'intervallo di dati da sottoporre all'analisi in qualsiasi maniera;

 Infine, si è notato che su alcuni PC, ARTiiFACT smette di funzionare, non permettendo di andare avanti con l'analisi e nemmeno di avviarlo, essendo necessario cancellarlo e poi installarlo nuovamente. Chiaramente questa è una problematica non da poco che dovrebbe essere assolutamente risolta.

Capitolo 4

Analisi della Heart Rate Variability negli esperimenti di Realtà Virtuale

Nel precedente capitolo, è stato illustrato nel dettaglio come funziona il software ARTiiFACT. Nel presente capitolo verranno dapprima illustrati i passi di applicazione di ARTiiFACT ai tracciati ECG acquisiti negli esperimenti di Virtual Reality, evidenziando le informazioni di Heart Rate Variability estratte. Quindi, verranno descritte le elaborazioni svolte in MATLAB sui dati di heart rate variability ottenuti da ARTiiFACT, quali ad esempio i valori di potenza nelle varie bande in cui viene suddivisa la densità spettrale di potenza del tacogramma. Infine, i risultati ottenuti nelle varie fasi dell'elaborazione verranno riportati in forma di grafici e verranno sottoposti ad una analisi critica.

4.1 Descrizione dei passi di elaborazione di ARTiiFACT applicati ai segnali ECG acquisiti negli esperimenti di Realtà Virtuale

4.1.1 Estrazione del tacogramma

Il primo modulo di elaborazione di ARTiiFACT che viene utilizzato è **Extract IBIs from ECG data**, che consente di estrarre il tacogramma dal segnale ECG che riceve come input.

Come è stato illustrato nel Capitolo 3, la prima interfaccia di tale modulo di elaborazione ci mostra, in un'apposita schermata, l'intero tracciato ECG e ci consente di scegliere la porzione di tracciato dalla quale estrarre il tacogramma, grazie ad opportune opzioni di taglio.

Nel Capitolo 2 è stato detto che l'esperimento al quale il soggetto si sottopone è suddiviso in 4 fasi, ognuna della durata di 5 minuti. Grazie alle opzioni di taglio che ARTiiFACT mette a disposizione, si può selezionare la porzione di tracciato relativa alla fase di interesse dalla quale si vuole estrarre il tacogramma. Le porzioni di tracciato che vengono sottoposte all'analisi sono:

- Os 300s: porzione di tracciato di 5 minuti relativa alla prima fase dell'esperimento. Si ricorda che in questi primi 5 minuti il soggetto è in condizioni di relax (seduto e rilassato) con la Virtual Reality spenta. Questa fase viene identificata come r1.
- 300s 600s: porzione di tracciato di 5 minuti relativa alla seconda fase dell'esperimento. Si ricorda che in questa seconda fase il soggetto è ancora in condizioni di relax (seduto e rilassato) ma immerso in uno dei due scenari (cabina B1 o cabina B2) della Virtual Reality. Questa fase viene identificata come r1VR.
- 900s 1200s: porzione di tracciato di 5 minuti relativa all'ultima fase dell'esperimento. Si ricorda che in questa fase il soggetto è di nuovo in condizioni di relax ancora immerso in uno dei due scenari, dopo però una fase di 5 minuti (da 600s a 900s) di interazione e movimento all'interno della Virtual Reality. Questa fase viene identificata come r2VR.

La porzione di tracciato compresa tra 600s – 900s non viene sottoposta all'analisi in quanto durante questa fase il soggetto si muove. Il movimento introduce molti artefatti nel segnale ECG rendono la sua analisi poco affidabile. A questo si aggiunge il fatto che l'obiettivo di questo studio non era tanto esaminare quanto succede durante la fase di movimento all'interno della Virtual Reality. Piuttosto, si ricorda che gli obiettivi sono:

- investigare se l'immersione nella Virtual Reality ha effetti sulla variabilità della frequenza cardiaca. Questo primo punto in particolare può essere messo in evidenza confrontando i valori di HRV nelle fasi r1VR e r2VR rispetto alla fase r1.

- investigare se i due scenari diversi (seppur di poco) di Virtual Reality hanno effetti diversi sulla HRV. Questo secondo punto può essere studiato confrontando i valori di r1VR (o r2VR) ottenuti nella cabina B1 con quelli ottenuti nella cabina B2.

Quindi, tenuto conto di questi obiettivi, ogni porzione di tracciato ECG corrispondente a ciascuna delle tre fasi è stata sottoposta separatamente al processing tramite ARTiiFACT per ottenere dati di HRV relativi a ciascuna di queste fasi.

Di seguito vengono riportate delle immagini che mostrano le porzioni di tracciato sottoposte all'analisi. Il tracciato preso come esempio è il tracciato ottenuto su un soggetto durante le acquisizioni usando la cabina B1.



Figura 1 Tracciato relativo alla porzione 0s-300s. In nero la porzione di tracciato che viene sottoposta ai successivi passi di elaborazione con ARTiiFACT per estrarre i dati di HRV relativi alla fase r1, mentre in rosso la parte eliminata da questa analisi.



Figura 2 Tracciato relativo alla porzione 300s-600s. In nero la porzione di tracciato che viene sottoposta ai successivi passi di elaborazione con ARTiiFACT per estrarre i dati di HRV relativi alla fase r1VR, mentre in rosso la parte eliminata da questa analisi.



Figura 3 Tracciato relativo alla porzione 900s-1200s. In nero la porzione di tracciato che viene sottoposta a successivi passi di elaborazione con ARTiiFACT per estrarre i dati di HRV relativi alla fase r2VR, mentre in rosso la parte eliminata da questa analisi.

Ogni porzione di tracciato viene in seguito sottoposta alla procedura di detezione automatica dei picchi R e a eventuali correzioni manuali nel riconoscimento dei picchi R, secondo le modalità illustrate nel Capitolo 3, così da ricavare gli intervalli temporali tra picchi R adiacenti (intervalli inter-battito), necessari all'ottenimento del tacogramma, che costituisce l'output di tale modulo di elaborazione.

4.1.2 Rimozione degli artefatti dal tacogramma

I tacogrammi relativi alle tre porzioni di tracciato ECG ottenuti con il modulo **Extract IBIs from ECG data**, vengono poi dati, separatamente, in ingresso al secondo modulo di elaborazione che consente di individuare ed eliminare eventuali artefatti presenti nel tacogramma. Il secondo modulo in questione è **Detect and process artifacts in IBI data**. Nel caso in cui si ritiene che non ci siano artefatti presenti nel tacogramma, questo secondo modulo può anche non essere utilizzato.

La prima interfaccia di tale modulo riporta in un'apposita schermata il tacogramma, come è stato mostrato nel Capitolo 3. Anche in questo caso ARTiiFACT dà la possibilità di sottoporre all'analisi solo una porzione di tracciato, avendo a disposizione le stesse modalità di selezione dell'interfaccia del modulo precedente. In questo caso però non è necessario selezionare la porzione di tracciato da sottoporre all'analisi, in quanto il modulo riceve come input il tacogramma relativo alla singola porzione di tracciato ECG già selezionata con il primo modulo di elaborazione.

Ogni tacogramma viene sottoposto alla detezione automatica degli artefatti e a eventuali correzioni manuali, con le modalità illustrate nel Capitolo 3, fornendo come risultato il tacogramma privo di artefatti che costituisce l'output di questo modulo di elaborazione.

4.1.3 Analisi della heart rate variability (HRV)

Per l'analisi della HRV viene utilizzato il modulo **Analyse HRV** (**Heart rate variability**), che riceve come input il tacogramma ottenuto con il modulo **Extract IBIs from ECG data** oppure **Detect and process artifacts in IBI data**, nel caso in cui fosse stato necessaria la rimozione di artefatti dal tacogramma.

Il modulo **Analyse HRV (Heart rate variability**), sottopone il tacogramma fornito in input, ad un'analisi nel dominio dei tempi e delle frequenze. Questo modulo, oltre a presentare i risultati in forma grafica come mostrato nel Capitolo 3, fornisce una serie di risultati numerici che vengono raccolti in una tabella: questa tabella riporta in ciascuna riga, come primo elemento della riga, l'identificativo (ID) del parametro estratto e come secondo elemento a fianco il relativo valore del parametro. In questo modo, la tabella presenta nella prima colonna l'elenco degli identificativi dei parametri e nella seconda colonna i valori numerici dei parametri. Tale tabelle sono salvate da ARTiiFACT in formato .txt (o .xls) sull'archivio di massa del computer (nel nostro lavoro, le tabelle con i risultati della HRV sono stati salvate in formato .txt).

Nella Figura 4 viene riportata come esempio una tabella relativa a un soggetto nell'intervallo 0s – 300s, durante le acquisizioni con la cabina B1.

ID MEANRR 573.7701 MEDIANRR 572.0000 MEANHR 104.5715 SDNN 35.1426 RMSSD 19.9094 NN50 8.0000 pNN50 1.5326 VLF[%] 27.8524 LF[%] 53.8795 HF[%] 18.2681 LF/HF 2.9494 LF[n.u.] 74.6795 HF[n.u.] 25.3205 VLF[abs] 275.4704 LF[abs] 532.8886 HF[abs] 180.6787 RECORDINGTIME[s] 299.5080

Figura 4 I primi 7 parametri sono relativi all'analisi della HRV nel dominio dei tempi, mentre i restanti all'analisi nel dominio delle frequenze. Questa tabella (così come tutte le altre tabelle con i risultati di HRV) sono state salvate in formato .txt al termine dell'elaborazione con ARTiiFACT.

I dati contenuti in queste tabelle verranno poi usati per elaborazioni successive mediante algoritmi scritti in MATLAB. Si noti che in questo modo per ogni soggetto e per ogni cabina, si avranno tre tabelle .txt ciascuna riportante i risultati dell'analisi della HRV relativi a una delle tre fasi in cui è stata suddivisa l'analisi (r1, r1VR, r2VR).

4.2 Estrazione in Matlab dei risultati ottenuti con ARTiiFACT

Come detto sopra, attraverso le elaborazioni in ARTiiFACT, per ogni soggetto si ottengono 6 file .txt, 3 per la cabina B1 e 3 per la cabina B2. Ogni file contiene i valori dei parametri come mostrato Figura 4, relativi ad una delle tre porzioni di tracciato ECG. Da ciascuno di questi file .txt, usando un programma scritto in Matlab, vengono estratti i valori dei seguenti parametri di interesse: MEANHR, LF[abs], HF[abs], LF/HF, LF[%], HF[%]. Il significato di questi parametri è il seguente: MEANHR è il valore medio di frequenza cardiaca sulla porzione di tracciato; LF(abs) e HF(abs) sono la potenze rispettivamente in banda LF e in banda HF della frequenza cardiaca (cioè l'area della densità spettrale di potenza sull'intervallo 0.04 Hz – 0.15 Hz e sull'intervallo 0.15 Hz – 0.4 Hz) espresse in ms², LF/HF è il rapporto tra i due precedenti valori; LF[%] e HF[%] è la percentuale di potenza rispettivamente in banda LF e HF rispetto alla potenza totale (cioè alla somma delle potenze in banda VLF, LF e HF, cioè alla potenza totale nella banda 0.003 – 0.4 Hz). I valori dei parametri così estratti vengono salvati per tutti i trenta soggetti acquisiti, separatamente per le due cabine in due file .mat denominati CabinaB1_HRVArti.mat e CabinaB2_HRVArti.mat. Ogni file .mat è organizzato nel seguente modo: contiene una matrice per ogni parametro, che ha tante righe quanti sono i soggetti (quindi 30 righe) e tante colonne quanti sono le porzioni in cui sono stati divisi i tracciati ECG (quindi 3). Di conseguenza il singolo file .mat contiene 6 matrici 30x3. In particolare, il file CabinaB1_HRVArti.mat (CabinaB2_HRVArti.mat) contiene le matrici così denominate: B1_mHR (B2_mHR), B1_LF (B2_LF), B1_HF (B2_HF), B1_LFHF (B2_LFHF), B1_LFpc (B2_LFpc), B1_HFpc (B2_HFpc), dove il significato dei nomi dati alle matrici è facilmente associabile al loro contenuto.

I due file .mat vengono poi usati da un secondo programma scritto in Matlab, suddiviso in 3 sezioni, che è dedicato alla rappresentazione grafica dei parametri estratti.

4.3 Rappresentazione grafica dei valori di HRV ottenuti negli esperimenti di Realtà Virtuale e test statistici

Prima di mostrare i risultati in forma grafica, può essere utile evidenziare quali sono gli andamenti attesi. Si ricorda che l'intervallo 0s – 300s, ovvero la fase chiamata r1, corrisponde alla fase dell'esperimento in cui il soggetto resta seduto e rilassato con la realtà virtuale spenta, l'intervallo 300s – 600s, ovvero la fase chiamata r1VR, corrisponde alla fase in cui l'ambiente virtuale viene acceso e il soggetto rimane seduto e rilassato immerso in esso, e infine l'intervallo 900s – 1200s, ovvero la fase chiamata r2VR, corrisponde ancora a una fase in cui il soggetto è seduto e rilassato e ancora immerso nella realtà virtuale, ma successivamente a una fase di interazione e movimento all'interno dell'ambiente virtuale.

Quello che ci si aspetta di vedere è innanzitutto un aumento della frequenza cardiaca passando dalla fase r1 (a realtà virtuale spenta) alla fase in cui la realtà virtuale è accesa, soprattutto in r1VR. Inoltre, ci si aspetta un aumento nel rapporto LF/HF passando dalla fase r1 alla fase r1VR, dovuto ad un aumento della potenza nella banda LF e una diminuzione nella banda HF. Mentre nella fase r2VR può essere ragionevole attendersi una diminuzione del rapporto LF/HF rispetto alla fase r1vR, dovuto ad una diminuzione del rapporto LF/HF rispetto alla fase r1vR, dovuto ad una diminuzione della potenza nella banda LF e una diminuzione del rapporto LF/HF rispetto alla fase r1vR, dovuto ad una diminuzione della potenza nella banda LF e una aumento nella banda HF.

Queste considerazioni si basano sul fatto che passando dalla fase r1 in cui la realtà virtuale è spenta, alla fase r1VR in cui l'ambiente virtuale viene acceso, ci si aspetta un aumento dell'attenzione e dell'interesse del soggetto nei confronti dell'ambiente virtuale e che può riflettersi in un aumento del rapporto tra le potenze delle bande LF e HF, nel modo precedentemente descritto, oltre che in un leggero incremento della frequenza cardiaca stessa per lo stato di eccitazione e coinvolgimento prodotto dall'immersione nella realtà virtuale. Nella fase r2VR (fase conclusiva dell'esperimento), ci si aspetta che l'attenzione, l'interesse e il coinvolgimento del soggetto verso la realtà virtuale siano venuti parzialmente meno, essendo terminata l'aspetto di novità iniziale, in quanto in seguito all'osservazione dell'ambiente virtuale, durante la seconda fase, e all'interazione con esso, durante la terza fase, si suppone che il soggetto si sia abituato a quest'ultimo e quindi risulti meno interessato ad esso e meno stimolato da esso; questo potrebbe riflettersi in una diminuzione del rapporto LF/HF nonché della frequenza cardiaca rispetto alla fase r1VR.

Per esaminare i risultati effettivi e il grado di corrispondenza con i risultati attesi, sono state generati vari grafici attraverso Matlab.

Innanzitutto, il file Matlab dedicato alla rappresentazione grafica dei parametri di HRV, carica i dati contenuti nei due file .mat CabinaB1_HRVArti.mat e CabinaB2_HRVArti.mat, quindi le 12 matrici 30x3.

MEANHR, LF[abs], HF[abs], e LF/HF normalizzati rispetto a r1

In un primo stadio ci si è concentrati sui parametri MEANHR, LF[abs], HF[abs], e LF/HF sia nella cabina B1 che nella cabina B2. Per mettere in evidenza le variazioni di questi parametri rispetto alla fase r1, per ogni soggetto e ogni cabina il valore del parametro nelle fasi r1VR e r2VR è stato normalizzato al corrispondente valore nella fase r1 (quindi i dati mostrati in questa sottosezione sono sempre normalizzati rispetto a r1).

Le Figure dalla 5 alla 8 mostrano i valori dei parametri MEANHR, LF[abs], HF[abs], e LF/HF (normalizzati rispetto a r1) in ciascuna delle tre fasi (r1, r1VR, r2VR) sia per ogni soggetto separatamente (pannello in alto in queste figure) sia mediate su tutti i soggetti (pannello in basso in queste figure) per la cabina B1. Le Figure dalla 9 alla 12 fanno la stessa cosa per la cabina B2.



Figura 5 Frequenza cardiaca (media su ogni fase) in funzione della fase dell'esperimento, su tutti i soggetti separatamente (pannello in alto) e mediata su tutti i soggetti (pannello in basso), relativamente alla cabina B1. I valori mostrati nel pannello in basso sono ottenuti mediando, per ogni fase, i valori riportati nei singoli plot del pannello in alto. Come spiegato nel testo, i valori del parametro in ciascun soggetto sono stati normalizzati rispetto alla fase r1.



Potenza in banda HF - B1

Figura 6 Potenza in banda HF in funzione della fase dell'esperimento, su tutti i soggetti separatamente (pannello in alto) e mediata su tutti i soggetti (pannello in basso), relativamente alla cabina B1. I valori mostrati nel pannello in basso sono ottenuti mediando, per ogni fase, i valori riportati nei singoli plot del pannello in alto. Come spiegato nel testo, i valori del parametro in ciascun soggetto sono stati normalizzati rispetto alla fase r1.

r1VR

r2VR

1

0.5



Potenza in banda LF - B1

Figura 7 Potenza in banda LF in funzione della fase dell'esperimento, su tutti i soggetti separatamente (pannello in alto) e mediata su tutti i soggetti (pannello in basso), relativamente alla cabina B1. I valori mostrati nel pannello in basso sono ottenuti mediando, per ogni fase, i valori riportati nei singoli plot del pannello in alto. Come spiegato nel testo, i valori del parametro in ciascun soggetto sono stati normalizzati rispetto alla fase r1.

r1VR

r2VR

0.5



Rapporto potenza LF/HF - B1





Frequenza cardiaca - B2

Figura 9 Frequenza cardiaca (media su ogni fase) in funzione della fase dell'esperimento, su tutti i soggetti separatamente (pannello in alto) e mediata su tutti i soggetti (pannello in basso), relativamente alla cabina B2. I valori mostrati nel pannello in basso sono ottenuti mediando, per ogni fase, i valori riportati nei singoli plot del pannello in alto. Come spiegato nel testo, i valori del parametro in ciascun soggetto sono stati normalizzati rispetto alla fase r1.



Potenza in banda HF - B2

Figura 10 Potenza in banda HF in funzione della fase dell'esperimento, su tutti i soggetti separatamente (pannello in alto) e mediata su tutti i soggetti (pannello in basso), relativamente alla cabina B2. I valori mostrati nel pannello in basso sono ottenuti mediando, per ogni fase, i valori riportati nei singoli plot del pannello in alto. Come spiegato nel testo, i valori del parametro in ciascun soggetto sono stati normalizzati rispetto alla fase r1.

r1VR

r2VR

0.5



Potenza in banda LF - B2



r1VR

r2VR

1

0.5



Rapporto potenza LF/HF - B2

Figura 12 Rapporto tra la potenza in banda LF e HF in funzione della fase dell'esperimento, su tutti i soggetti separatamente (pannello in alto) e mediata su tutti i soggetti (pannello in basso), relativamente alla cabina B2. I valori mostrati nel pannello in basso sono ottenuti mediando, per ogni fase, i valori riportati nei singoli plot del pannello in alto. Come spiegato nel testo, i valori del parametro in ciascun soggetto sono stati normalizzati rispetto alla fase r1.

r1VR

r2VR

0.5

Riferendosi agli andamenti dei parametri mediati sui 30 soggetti nelle Figure dalla 5 alla 12 (pannello in basso in ciascuna di queste figure), si possono fare le seguenti considerazioni. Innanzitutto, la frequenza cardiaca mostra un leggero aumento nelle fasi r1VR e r2VR rispetto alla fase r1, sia in B1 che in B2 (anche se meno in B2). In secondo luogo, sia la potenza in LF che la potenza in HF tendono ad essere maggiori nelle fasi r1VR e r2VR rispetto a r1, in entrambe le cabine. In base poi al pattern di LF/HF, si può dire che pur aumentando sia la potenza in LF che la potenza in HF che la potenza in HF, la potenza in LF aumenta di più della potenza in HF (infatti il rapporto LF/HF è maggiore in r1VR e r2VR che in r1). I risultati ottenuti sono parzialmente coerenti con quelli attesi, ma non completamente. Ad es., nella cabina B1 il rapporto LF/HF più bassi in r2VR che in r1VR (se pur in entrambi i casi sopra il valore in r1, come si osserva nella cabina B2).

Osservando, però, gli andamenti dei parametri nei singoli soggetti nelle Figure dalla 5 alla 12 (pannello in alto in ciascuna di queste figure) si osserva che c'è una enorme variabilità tra i soggetti, senza che in essi sia riscontrabile un andamento univoco. In particolare, alcuni soggetti mostrano variazioni (in aumento o diminuzione) che si discostano molto come entità da quelle degli altri soggetti, ovvero vi sono comportamenti di tipo 'outlier' (ad esempio, nella Figura 6, si osservi il valore del parametro nel Soggetto 6 e nel Soggetto 19 nella fase r2VR). Gli outlier (i campioni all'interno di una distribuzione campionaria che si discostano molto dal comportamento della massa) influenzano molto il valore medio della distribuzione campionaria.

Andando ad utilizzare il valore medio di una distribuzione campionaria (come fatto nelle figure dalla 5 alla 12), si presuppone che essa sia normale. In caso contrario è sconsigliato fare delle conclusioni basandosi sui valori medi, in quanto la media è fortemente influenzata dalla presenza di outliers. Al contrario la mediana è un parametro di posizione molto meno influenzato dagli outliers e infatti viene usato al posto della media nel caso in cui la distribuzione campionaria non sia normale.

Distribuzione campionaria dei parametri MEANHR, HF[abs], HFpc, LF[abs], LFpc, LF/HF

Per ottenere una rappresentazione dei parametri che meglio evidenzi la presenza degli outliers e che riduca il loro effetto nel valutare il comportamento complessivo del campione acquisito (cioè il comportamento di massa), il programma Matlab nella seconda sezione va a tracciare la distribuzione campionaria della frequenza cardiaca media, delle potenze in banda LF e HF sia in ms² sia in % rispetto alla potenza totale, e il rapporto tra le potenze nelle bande LF e HF, in ciascuna delle tre fasi dell'esperimento (r1, r1VR e r2VR), separatamente per la cabina B1 e B2. Inoltre, per ciascun parametro viene visualizzato anche un grafico ottenuto mediante una funzione di Matlab che va sotto il nome di boxplot. Tale funzione prende in ingresso il vettore contente i valori di uno dei parametri precedentemente citati e traccia un grafico che è organizzato nel seguente modo: la funzione traccia una "scatola" (box) all'interno della quale viene mostrata una linea continua rossa che rappresenta la mediana dei valori nel vettore. Il lato inferiore e superiore della scatola rappresentano rispettivamente il 25-esimo e 75-esimo percentile. Sopra e sotto la scatola vengono anche tracciate due linee nere che rappresentano gli estremi dell'intervallo di valori valutati dal programma come non outliers. Tutti gli altri valori sono valutati come outliers e rappresentati come croci rosse (di default, vengono considerati outliers i valori che si discostano dal 75esimo percentile e dal 25esimo percentile per più di una volta e mezza il range interquartile). Sull'asse delle ascisse viene riportata la fase (r1, r1VR, r2VR) a cui i valori fanno riferimento.

Nelle figure seguenti i grafici vengono organizzati nel seguente modo: per ogni parametro sopra citato viene riportato all'interno di una figura la distribuzione campionaria del parametro in ciascuna fase (r1, r1VR, r2VR), e il grafico ottenuto mediante boxplot, anche in questo caso per ogni intervallo temporale. Le Figure dalla 13 alla 18 riportano i valori dei parametri MEANHR (bpm = battiti per minuto), LF[abs] (in ms²), LF[%] (adimensionale), HF[abs] (in ms²), HF[%] (adimensionale), e LF/HF (adimensionale) per la cabina B1. Le Figure dalla 19 alla 24 riportano i grafici corrispondenti per la cabina B2.



Figura 13 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della frequenza cardiaca (media su ogni fase) in bpm (battiti per minuto), e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B1. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 14 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda HF (per ogni fase) in ms², e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B1. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 15 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda HF (per ogni fase) in % rispetto alla potenza totale, e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B1. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figure 16 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda LF (per ogni fase) in ms², e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B1. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 17 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda LF (per ogni fase) in % rispetto alla potenza totale, e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B1. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 18 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria del rapporto tra le potenze nelle bande LF e HF (per ogni fase), grandezza adimensionale, e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B1. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 19 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della frequenza cardiaca (media su ogni fase) in bpm (battiti per minuto), e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B2. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 20 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda HF (per ogni fase) in ms², e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B2. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 21 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda HF (per ogni fase) in % rispetto alla potenza totale, e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B2. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 22 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda LF (per ogni fase) in ms², e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B2. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 23 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria della potenza in banda LF (per ogni fase) in % rispetto alla potenza totale, e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B2. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).



Figura 24 A sinistra viene riportata la distribuzione campionaria del rapporto tra le potenze nelle bande LF e HF (per ogni fase), grande adimensionale, e a destra il grafico di tipo boxplot su ciascuna delle 3 fasi (r1, r1VR, r2VR), relativamente alla cabina B2. Per distribuzione campionaria si intende che i valori relativi ai 30 soggetti vengono tutti graficati (ogni asterisco corrisponde al valore di un soggetto).
Come si può ben vedere nelle figure riportate nelle pagine precedenti, le distribuzioni campionarie non sono normali, e presentano outliers che vengono riportati anche nei grafici ottenuti mediante boxplot.

Osservando gli andamenti delle figure precedenti (dalla Figura 13 alla Figura 24), con particolare riferimento alle mediane, si possono fare le seguenti considerazioni. Si osserva che la potenza in banda HF (HF in ms²) tende a diminuire in r1VR rispetto a r1 e a ricrescere in r2VR riportandosi verso il valore di r1, sia per la cabina B1 che per la cabina B2. Per quanto riguarda la potenza in banda LF (LF in ms²) si osserva una tendenza all'aumento sia in r1VR che in r2VR rispetto a r1 nella cabina B2, mentre per la cabina B1 sembra non modificarsi. È molto interessante, però, osservare l'andamento delle potenze in banda HF e in banda LF in percentuale della potenza totale (HF[%] e LF[%]). Si può notare che la potenza HF in percentuale tende a diminuire nettamente nella fase r1VR rispetto a r1 e ad aumentare nuovamente in r2VR riportandosi a valori vicini alla fase r1. La potenza LF in percentuale tende ad aumentare nella fase r1VR risetto a r1 e a diminuire nuovamente nella fase r2VR riportandosi a valori più vicini a r1. Questi andamenti per LF[%] e per HF[%] sono riscontrabili sia nella cabina B1 che nella cabina B2. Questo suggerisce che soprattutto nella fase r1VR rispetto alla r1 ci sia una ridistribuzione di potenza dell'HRV tra le due bande, con la potenza che tende a spostarsi dalla banda HF alla banda LF, ovvero ad aumentare in banda LF e a diminuire in banda HF. Infatti, questo risultato si riscontra anche osservando le distribuzioni del rapporto LF/HF: in particolare questo rapporto aumenta in r1VR rispetto a r1 e nella fase r2VR ritorna verso il valore r1, sia per la cabina B1 che per la cabina B2. Per quanto riguarda la frequenza cardiaca media nelle tre fasi, è invece difficile individuare un trend.

Confronto tra il rapporto LF/HF nella cabina B1 e nella cabina B2

In quest'ultima sezione vengono dapprima graficate per completezza, le potenze nelle bande LF e HF e il rapporto LF/HF, normalizzati rispetto a r1, usando la funzione boxplot, sia per la cabina B1 (Figura 25) che per la cabina B2 (Figura 26). Inoltre, vengono mostrati anche 3 ulteriori grafici: uno mette a confronto i rapporti normalizzati LF/HF delle due cabine durante la seconda fase dell'esperimento (r1VR), figura 27; un altro mette a confronto i grafici del rapporto normalizzato LF/HF delle due cabine nella fase r1VR nel caso dei soggetti che hanno preferito la cabina 1, figura 27; nell'ultima figura viene fatto lo stesso confronto della figura precedente, ma per i soggetti che hanno

preferito la cabina B2, figura 27. Si noti infatti che avendo i soggetti compilato un questionario alla fine delle acquisizioni, è stato possibile ricavare da tali questionari un'indicazione di quale tra le due cabine ciascun soggetto preferisse. Pertanto, per ogni soggetto acquisito, si ha una indicazione di preferenza ed è possibile separare i soggetti con la preferenza verso una cabina dai soggetti con preferenza verso l'altra.



Figura 25 Potenza normalizzata in banda HF (pannello in alto sinistra) e LF (pannello in alto a destra) e il rapporto normalizzato tra le potenze nelle bande LF e HF (pannello in basso), relativamente alla cabina B1. In entrambi i pannelli è stato effettuato uno zoom, escludendo così dalla visualizzazione alcuni outlier, per rendere più visibile l'andamento delle mediane.



Figura 26 Potenza normalizzata in banda HF (pannello in alto sinistra) e LF (pannello in alto a destra) e il rapporto normalizzato tra le potenze nelle bande LF e HF (pannello in basso), relativamente alla cabina B2. In entrambi i pannelli è stato effettuato uno zoom, escludendo così dalla visualizzazione alcuni outlier, per rendere più visibile l'andamento delle mediane.



Figura 27 Confronto tra i rapporti normalizzati LF/HF delle due cabine durante la seconda fase dell'esperimento (r1VR), pannello in alto; confronto tra i grafici del rapporto normalizzato LF/HF delle due cabine nella fase r1VR nel caso dei soggetti che hanno preferito la cabina 1, pannello in basso a sinistra, e nel caso in cui hanno preferito la cabina 2, pannello in basso a destra.

Come si può vedere nelle figure 25 e 26 guardando l'intera distribuzione e la mediana si osserva che anche il rapporto tra le potenze delle bande LF e HF (normalizzato rispetto a r1) segue l'andamento atteso.

Sulla base del fatto che LF/HF tende ad aumentare durante la fase r1VR (di accensione della cabina), con l'ultima figura si è voluto analizzare se vi siano differenze tra le due cabine. Questa analisi si fonda sul fatto che, essendo le cabine diverse tra di loro, dal punto di vista estetico, il soggetto potrebbe aver gradito di più o essere stato stimolato maggiormente da l'una o l'altra cabina. Questo gradimento/stimolazione maggiore in una rispetto ad un'altra potrebbe riflettersi come un maggior valore del rapporto LF/HF in una cabina rispetto al valore che si ha nell'altra cabina.

Nella figura 27 in alto viene mostrata, tramite boxplot, la distribuzione di tale rapporto nel caso in cui si considerano tutti i soggetti. I valori delle mediane sono all'incirca uguali, e si osserva solo una maggiore dispersione del campione nel caso della cabina B2 rispetto alla cabina B1 (più ampio range interquartile).

Considerando invece le altre distribuzioni, cioè quelle che tengono conto della preferenza, si vede nella figura 27 in basso a sinistra che i soggetti hanno preferito la cabina B1 mostrano un valore del rapporto LF/HF maggiore nella cabina B1 che nella cabina B2. Nel caso della figura 27 in basso a destra, i soggetti che hanno preferito la cabina B2 hanno un rapporto LF/HF maggiore nel caso della cabina B2. Sebbene questi risultati siano preliminari, possono esser spiegati supponendo che la preferenza per una cabina rispetto all'altra si rifletta in un maggiore stato di coinvolgimento, di eccitazione e di stimolazione sul soggetto prodotto dall'immersione nella cabina maggiormente preferita rispetto all'altra cabina, con una conseguente maggiore attivazione del sistema simpatico rispetto al parasimpatico e quindi un incremento del rapporto LF/HF.

Questi risultati preliminari richiedono ulteriori indagini per essere validati: usando due cabine che siano più diverse tra di loro rispetto alle due utilizzate e usando più soggetti si potrebbe verificare in maniera più robusta se la preferenza per una cabina rispetto all'altra, possa essere rispecchiata da una variazione nel rapporto LF/HF tra le due cabine.

Infine, si può affermare che le aspettative riguardanti gli andamenti del rapporto LF/HF passando dalla fase r1 alla fase r1VR e R2VR sono stati abbastanza confermati, soprattutto facendo riferimento al trend delle distribuzioni campionari e ai valori di mediana.

Inoltre, sono stati eseguiti dei test statistici, usando la funzione signtest di Matlab, che hanno lo scopo di verificare se le differenze osservate tra i valori mediani nei grafici di tipo boxplot di figura 27 sono significative. Questi test sono stati effettuati per completezza, in quanto già dalla visualizzazione grafica si può concludere che non vi siano differenze significative. In seguito, viene spiegato il funzionamento di signtest e vengono riportati anche i risultati dei test statistici eseguiti con tale funzione.

Sign Test

La funzione signtest di Matlab è un test di significatività, che prende in ingresso una distribuzione e verifica la validità dell'ipotesi nulla, la quale è: "la mediana della distribuzione è M", dove M è comunemente 0 ma può essere impostato dall'utente (ad es. M =1). Quando usato per eseguire questo test, la funzione utilizza un solo vettore in ingresso (il vettore della distribuzione campiononaria). La funzione signtest permette anche di confrontare due distribuzioni, eseguendo un test di tipo "paired", ovvero si applica quando le due distribuzioni campionarie da confrontare sono state ottenute sullo stesso gruppo di soggetti. In questa variante la funzione prende in ingresso due vettori, che rappresentano le due distribuzioni, e come prima operazione fa la differenza tra i due, ottenendo così un solo vettore, quindi una sola distribuzione. Infine, di quest'ultima distribuzione verifica la validità dell'ipotesi nulla (rispetto a mediana M = 0), fornendo il risultato di tale verifica e il p-value, i quali vengono rispettivamente messi in due variabili h e p. Il livello di significatività (α) è di default il 5%. Nel caso in cui l'ipotesi nulla sia verificata, e quindi la mediana della distribuzione sia zero, h è uguale a 0, mentre è uguale a 1 in caso contrario. Si ricorda che il p-value di un test di significatività è un parametro che quantifica la validità dell'ipotesi nulla o del suo rifiuto, e rappresenta la probabilità di ottenere un risultato uguale o più estremo di quello osservato nel caso in cui l'ipotesi nulla sia vera. Se il p-value risulta maggiore di α l'ipotesi nulla non si può rifiutare quindi la mediana della distribuzione è uguale a 0. Quando il p-value è più piccolo di α l'ipotesi nulla va rifiutata e si conclude che la mediana è diversa da 0. Infine, c'è il caso in cui il p-value è circa uguale ad α. In questo caso la validità dell'ipotesi nulla può anche essere messa in discussione. Questo stesso ragionamento vale, ovviamente, quando una singola distribuzione è confrontata con un valore di mediana M.

Il signtest è stato usato in 3 casi.

Nel primo caso si è confrontato se il rapporto normalizzato LF/HF di tutti i 30 soggetti nella fase r1VR di B1 (normLF/HF_r1VR_B1) (si veda il boxplot a sinistra nel panello in alto di figura 27) e il rapporto normalizzato LF/HF di tutti i soggetti nella fase r1VR di B2 (normLF/HF_r1VR_B2) (si veda il boxplot a destra nel panello in alto di figura 27) avessero mediana significativamente diversa da 1. In entrambi i casi, l'ipotesi nulla non può essere rifiutata: il test ha fornito come risultati h=0 e p-value = 0.2. Pertanto, negli esperimenti effettuati, non sono emerse differenze statisticamente significative nel rapporto LF/HF quando i soggetti venivano immersi nella realtà virtuale rispetto a realtà virtuale spenta.

Nel secondo caso sono stati confrontati tra di loro i due precedenti rapporti (normLF/HF_r1VR_B1 vs normLF/HF_r1VR_B2). Il test ha fornito come risultati h=0, (quindi l'ipotesi nulla che le due distribuzioni abbiano stessa mediana non può essere rifiutata), indicando che le due diverse cabine, non hanno generato differenze significative nel rapporto LF/HF, e p=0.8555.

Nel terzo caso sono stati confrontati i rapporti normalizzati tra la potenza in banda LF e HF in r1VR nei due scenari B1 e B2 dei soggetti che hanno dimostrato una preferenza per la cabina B1 (ovvero si sono confrontati i due campioni corrispondenti ai due boxplot nel pannello a sinistra in basso di figura 27, che indichiamo come normLF/HF_r1VR_B1_prefB1 e normLF/HF_r1VR_B2_prefB1). Questo test ha fornito come risultati h=0 e p=1. Si è proceduto in maniera analoga per i soggetti che hanno preferito la cabina B2 (ovvero si sono confrontati i due campioni corrispondenti ai due boxplot nel pannello a destra in basso di figura 27, che indichiamo come normLF/HF_r1VR_B1_prefB2 e normLF/HF_r1VR_B2_prefB2). Questo test ha fornito i risultati h=0 e p=0,2101. Il fatto che non si possa rifiutare l'ipotesi nulla di mediana uguale a zero in entrambi i casi significa che una maggiore preferenza per uno scenario rispetto all'altro, non ha dato origine, in questo esperimento ad una differenza statisticamente significativa del rapporto LF/HF.

Nella tabella che segue vengono riportati i risultati dei test statistici ricavati utilizzando signtest con riferimento al caso di applicazione.

Parametri utilizzato per i test statistici	Fase dell'esperimento		
	considerata	h	p-value
Rapporto normalizzato LF/HF dei 30 soggetti nella			
cabina B1 (primo caso)	r1VR	0	0.20
Rapporto normalizzato LF/HF dei 30 soggetti nella			
cabina B2 (primo caso)	r1VR	0	0.20
Rapporto normalizzato LF/HF dei 30 soggetti nelle			
2 cabine (secondo caso)	r1VR	0	0.8555
Rapporto normalizzato LF/HF nelle 2 cabine dei			
soggetti che hanno preferito la B1 (terzo caso)	r1VR	0	1
Rapporto normalizzato LF/HF nelle 2 cabine dei			
soggetti che hanno preferito la B2 (terzo caso)	r1VR	0	0.2101

Conclusioni

Questo progetto ha riguardato l'analisi dell'Heart Rate Variability (HRV) di soggetti che hanno partecipato ad esperimenti di realtà virtuale, venendo immersi in ambienti virtuali che simulavano due diverse cabine passeggeri. L'obiettivo del lavoro è stato investigare se l'immersione nella realtà virtuale avesse effetto sulla HRV e se le due diverse cabine simulate, essendo esteticamente diverse, potessero produrre differenze nella HRV riflettendo un diverso livello di gradimento/coinvolgimento/attenzione da parte del soggetto. A questo scopo, i segnali ECG acquisiti sui soggetti prima dell'immersione nella realtà virtuale e durante l'immersione in ciascuno dei due ambienti virtuali, sono stati esaminati per estrarre il tacogramma (cioè la serie temporale degli intervalli cardiaci) e quindi eseguire l'analisi in frequenza dell'HRV, utilizzando il software ARTiiFACT. Importante è stata la suddivisione del tracciato ECG in porzioni, ognuna corrispondente ad una fase dell'esperimento, per poter confrontare la fase a realtà virtuale spenta con le fasi di realtà virtuale accesa. Da ciascuna porzione di segnale ECG è stato ricavato il tacogramma; questo, dopo una procedura di rimozione degli artefatti, è stato sottoposto ad un'analisi nel dominio dei tempi e in particolare delle frequenze. I risultati relativi all'analisi del tacogramma nel dominio delle frequenze, più precisamente i valori restituiti per le potenze nelle bande LF e HF, il loro rapporto, nonché il valore medio di frequenza cardiaca, sono stati esaminati in Matlab mediante grafici di distribuzione e mediante test statistici.

Sulla base di tali analisi si è osservato che il rapporto tra la potenza nella banda LF e HF tende a crescere quando il soggetto è immerso nella realtà virtuale rispetto alla fase di realtà virtuale spenta, per una ridistribuzione di potenza dalla banda HF alla banda LF. Tale aumento si è riscontrato in entrambi gli scenari testati; questo risultato è stato interpretato come uno stato di attenzione e sollecitazione prodotto dall'ambiente di realtà virtuale sul soggetto, con attivazione del simpatico e disattivazione del parasimpatico (e conseguente incremento del rapporto LF/HF).

Inoltre, avendo dedotto dai questionari sottoposti ai partecipanti la preferenza che ciascuno di essi aveva per una cabina rispetto all'altra, è stata anche fatta un'analisi per valutare se la preferenza per l'uno o l'altro scenario si riflettesse in un maggior valore del rapporto tra la potenza nella banda LF e HF quando il soggetto si trovava nell'una o

nell'altra cabina. Da questa analisi è emerso che i soggetti che hanno dimostrato una preferenza per una cabina in particolare (preferenza, che si ricorda, viene determinata indirettamente in seguito alla compilazione da parte dei soggetti di un questionario) tendono ad avere un maggior rapporto LF/HF quando si trovano immersi in tale scenario. Questo suggerisce che la cabina per la quale i soggetti hanno provato maggiore preferenza, è quella che li ha maggiormente stimolati, coinvolti e che ha attratto maggiormente la loro attenzione

Tuttavia, i risultati sopra sintetizzati sono solo delle tendenze, e come intuibile anche dalle rappresentazioni grafiche riportate nel capitolo 4, non emergono differenze statisticamente significative. In particolare, il rapporto LF/HF su tutti i soggetti né nella cabina B1 né nella cabina B2 risulta significativamente diverso dalla condizione di riposo (assenza di realtà virtuale), né è emerso un legame significativo tra il valore del rapporto LF/HF e la preferenza dei soggetti.

È importante sottolineare alcuni limiti del presente lavoro che possono anche aver influito sui risultati ottenuti.

Un primo considerevole limite riguarda la realizzazione dei due ambienti di realtà virtuale. I due scenari di cabine passeggeri realizzati erano poco diversi tra di loro, differendo infatti solo per pochi dettagli estetici. Questo limite può aver influito nel determinare l'assenza di differenze significative nei rapporti LF/HF passando da una cabina all'altra. Queste poche differenze anche hanno probabilmente determinato una preferenza non spiccata per l'una o l'altra cabina. Sviluppi futuri possono riguardare l'utilizzo di cabine maggiormente differenti, per testare se una maggiore difformità tra gli scenari presentati possa dare luogo a differenze significative o più vicine alla significatività del rapporto LF/HF rispetto ai risultati qui ottenuti.

Un altro limite più attinente al lavoro pratico svolto, può riguardare l'uso di ARTiiFACT. Questo software, come è stato detto nel Capitolo 3, è stato scelto tra i vari software per l'analisi della HRV, sulla base sia di esigenze operative specifiche (in particolare fornisce la possibilità di estrarre il tacogramma dell'ECG, cosa non resa disponibile da tutti i software), sia per la facilità d'uso, sia per la gratuità. Tuttavia, presenta il limite che, pur essendo un software basato su Matlab, è reso disponibile gratuitamente in rete come software eseguibile, e pertanto non è accessibile il codice con cui sono implementati gli algoritmi. Questo significa non avere pieno controllo né consapevolezza di quanto il software stia eseguendo. In particolare, non si ha accesso all'algoritmo per il calcolo della densità spettrale di potenza della HRV, da cui discendono i risultati discussi. Sebbene si basi su metodi classici come il metodo del periodogramma (o metodo di Welch), non sono completamente accessibili e impostabili dall'utente i parametri di questo metodo. Inoltre, non sono noti lavori scientifici che riportino prestazioni migliori (in termini di identificazione dei picchi R e di rimozione degli artefatti) di questo software rispetto ad altri (né in senso opposto, in verità). Potrebbe essere interessante testare anche altri software per l'estrazione del tacogramma, la rimozione degli artefatti e l'analisi dell'HRV, per confrontare i risultati con quelli qua ottenuti. Un'altra possibilità potrebbe essere quella di utilizzare il software ARTiiFACT o simili solo per l'estrazione del tacogramma dal segnale ECG e per la rimozione di artefatti da esso; quindi utilizzare Matlab per la stima della densità spettrale di potenza del tacogramma così ottenuto. In lavori futuri si potrebbero anche implementare in Matlab gli algoritmi di detezione e correzione dei picchi R, senza dunque ricorrere all'uso di altri software.

Per concludere, il lavoro si pone nell'ambito dell'analisi degli effetti di ambienti di realtà virtuale sulla variabilità della frequenza cardiaca, indicando che – nonostante l'assenza di risultati statisticamente significativi – l'immersione in ambienti di realtà virtuale tende ad alterare il bilancio simpato-vagale, anche in condizioni di relax e di ambienti che determinano un limitato coinvolgimento emotivo. L'analisi e la quantificazione di questi effetti è importante, non solo nell'ambito del progetto specifico in cui si colloca la tesi, ma più in generale, dal momento che l'utilizzo della realtà virtuale è in continua espansione, tra le altre cose per testare o classificare stati di stress, stati emotivi, carichi di lavoro [10,11,12].

Riferimenti

[1] - Shaffer F, McCraty R, Zerr CL (2014) "A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability", *Frontiers in Psychology*: volume 5, article 140, pp. 1-19;

[2] - Valderrama M, Navarro V, Le Van Quyen M (2010) "Heart rate variability as measurmnent of heart-brain interactions", *Epilepsies*: 22 (3), pp. 194-200;

[3] - Task Force (1996). "Heart rate variability Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use", *European Heart Journal* 17, pp. 354–381;

[4] – Dee U. Silverthorn, F. Vellea Sacchi "Fisiologia umana. Un approccio integrato", Sesta edizione;

[5]

- https://it.wikipedia.org/wiki/Q-Q_plot;
- https://it.wikipedia.org/wiki/Cave_Automatic_Virtual_Environment;
- https://it.wikipedia.org/wiki/Deviazione_media_assoluta;
- https://it.wikipedia.org/wiki/Scarto_quadratico_medio;
- https://it.wikipedia.org/wiki/Varianza;
- https://it.wikipedia.org/wiki/Curtosi;

[6] – Kaufmann T, Sütterlin S, Schulz SM, Vögeke C (2011) "ARTiiFACT: a tool for heart rate artifcat processing and heart rate variability analysis", *Behavior Research Methods*, 43(4), pp. 1161-1170.

[7] - Singh B, Bharti N (2015) 'Software tools for heart rate variability analysis', *International Journal of Recent Scientific Researc*: 6(4), pp. 3501-3506

[8] - Berntson GG, Quigley KS, Fang JY, Boysen S (1990) "An approach to artifact identification: Application to heart period data", *Psychophysiology*: 27(5), pp. 586-598;

[9] - Peltola MA (2012) 'Role of editing of R-R intervals in the analysis of heart rate variability', *Frontiers in Psychology*: vol. 3, article 148, pp. 1-10;

[10] - Jinsil Ham, Student Member, IEEE, Donghae Choi, Student Member, IEEE, Jooyoung Oh, Student Member, IEEE, and Boredom Lee*, Member, IEEE (2017) "Discrimination of multiple stress levels in virtual reality environments using heart rate variability", *39th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*;

[11] – Daniela Villani, Pietro Cipresso, Claudia Carissoli, Chiara Rotasperti, Stefano Triberti, Giuseppe Riva (2017) "Assessing the Emotional State of Job Applicants Through a Virtual Reality Simulation: A Psycho-Physiological Study", *Lecture Notes of the Istitute for Computer Sciences:* article 181, pp 119-126;

[12] – Cho D, Ham J, Oh J, Park J, Kim S, Lee N K, Lee B (2017) "Detection of Stress Levels from Biosignals Measured in Virtual Reality Environments Using a Kernel-Based Extreme Learning Machine", *Sensors (Basel, Switzerland):* 17(10), article 2435.