



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

FACOLTÀ DI INGEGNERIA

TESI DI LAUREA MAGISTRALE IN BIOINGEGNERIA

ANNO ACCADEMICO 2010-2011

STUDIO INTEGRATO
fMRI E GAIT ANALYSIS
IN PAZIENTI POST-ICTUS

Relatore:
Prof.ssa Alessandra BERTOLDO

Correlatore:
Ing. Zimi SAWACHA, PhD

Laureando:
Alberto RIGATO

Padova, 17 ottobre 2011

INDICE

SOMMARIO	1
INTRODUZIONE.....	5
1. STROKE E NEUROPLASTICITÀ	9
1.1 L'ictus	9
1.2 Definizione, eziologia, fattori di rischio e segni di ictus.....	11
1.3 Fasi e scopi della riabilitazione dopo ictus	14
1.4 Neuroplasticità e basi biologiche del recupero funzionale dopo ictus	17
1.5 Modalità di intervento riabilitativo per il recupero del cammino dopo ictus	21
1.5.1 Utilizzo del <i>biofeedback</i> per il recupero del cammino dopo ictus.....	25
2. ANALISI DEL MOVIMENTO	29
2.1 Introduzione	29
2.2 Sistemi di analisi del movimento	30
2.3 Stereofotogrammetria optoelettronica.....	32
2.3.1 Marker	32
2.3.2 Telecamere	33
2.3.3 Rilevazione dei <i>marker</i>	34
2.3.4 Calibrazione delle telecamere	34
2.3.5 Ricostruzione e <i>tracking</i>	37
2.3.6 Cinematica articolare.....	38
2.3.7 Errori in stereofotogrammetria.....	43
2.4 Protocolli per la <i>gait analysis</i>	44
2.4.1 Il protocollo Davis – Helen Heyes	44
2.4.2 Il protocollo C.A.S.T.	46
2.4.3 Il protocollo Leardini	48
2.4.4 Il protocollo SAFLo.....	49
2.4.5 Il protocollo LAMB.....	50
2.5 Piattaforme di forza	52
2.6 Elettromiografia.....	53
2.7 Analisi del ciclo del passo	54
3. fMRI.....	59
3.1 Introduzione	59
3.2 Il segnale BOLD e la risposta emodinamica (HDR)	61
3.3 Disegno sperimentale	68
3.4 <i>Preprocessing</i> dei dati fMRI	69
3.4.1 Slice acquisition time correction	70
3.4.2 Correction of head motion.....	71

3.4.3	Functional-structural coregistration.....	73
3.4.4	Spatial normalization	74
3.4.5	Temporal filtering	75
3.4.6	Spatial filtering	75
3.5	Analisi statistica.....	76
3.5.1	General Linear Model (GLM)	76
3.5.2	Data-driven analysis: ICA e cluster analysis.....	85
4.	MATERIALI.....	87
4.1	Soggetti	87
4.2	Strumentazione per il EMG BFB.....	88
4.3	Laboratorio di analisi del movimento.....	88
4.3.1	Sistema stereofotogrammetrico BTS SMART-D	88
4.3.2	Piattaforma di forza Kistler	89
4.3.3	Elettromiografo BTS FreeEMG	90
4.3.4	Software per l'analisi dei dati di <i>motion capture</i>	92
4.4	Immagini fMRI.....	94
4.4.1	Strumentazione per fMRI	94
4.4.2	Software per l'elaborazione dei dati fMRI	95
4.5	Software per la correlazione di dati di <i>gait analysis</i> e fMRI.....	96
5.	METODI.....	97
5.1	Protocollo sperimentale.....	97
5.1.1	Training con <i>biofeedback</i>	97
5.1.2	Disegno sperimentale delle acquisizioni di <i>gait analysis</i>	98
5.1.3	Disegno sperimentale delle acquisizioni fMRI.....	102
5.1.4	Elaborazione dei dati di <i>gait analysis</i>	103
5.1.4.1	Proposta di indici di valutazione della <i>gait analysis</i>	109
5.1.5	Elaborazione dei dati di fMRI.....	111
5.1.5.1	<i>Pre-processing</i>	112
5.1.5.2	Analisi statistica GLM	118
5.1.5.3	<i>Cluster analysis</i>	123
5.1.5.4	Proposta di indici di valutazione del segnale fMRI	124
5.1.6	Analisi di correlazione	127
6.	RISULTATI	129
6.1	Risultati di <i>gait analysis</i>	130
6.2	Risultati di fMRI	138
6.2.1	Risultati GLM	138
6.2.2	Risultati cluster analysis.....	142
6.3	Analisi di correlazione.....	146
6.3.1	Indici riassuntivi relativi alla valutazione tramite <i>gait analysis</i>	146
6.3.2	Indici riassuntivi relativi alla valutazione tramite fMRI	154
6.3.3	Risultati delle analisi di correlazione.....	164
	CONCLUSIONI	167
	BIBLIOGRAFIA.....	175

SOMMARIO

Background

L'ictus cerebrale rappresenta la prima causa di invalidità a livello mondiale. Le recenti evidenze in merito ai fenomeni di neuroplasticità e di riorganizzazione funzionale nel cervello dopo un danno cerebrale, sono state sfruttate per proporre strategie riabilitative neuro-motorie di pazienti che hanno subito un ictus. Quelle basate sul concetto di apprendimento motorio (*motor learning*), come l'utilizzo di *biofeedback* uditivo elettromiografico, sfruttando i fenomeni fisiologici propri del recupero intrinseco neuroplastico, educano il paziente a riottenere un controllo nervoso sugli arti paretici e all'adattamento ad uno specifico contesto ambientale, al fine di permettere il ripristino di una funzionalità il più possibile normale. In particolare, il recupero di una camminata più sicura, veloce e corretta è requisito essenziale per permettere al paziente di riacquistare autonomia nelle normali attività di vita quotidiana.

Questa Tesi si prefigge di correlare l'*outcome* motorio riabilitativo con eventuali cambiamenti a livello di attivazione neurale, indotti da un trattamento terapeutico basato sull'impiego di *biofeedback* uditivo elettromiografico. Per permettere il raggiungimento di questo obiettivo, si propongono delle metodologie di indagine e dei parametri che permettano di descrivere in modo quantitativo, oggettivo, accurato e robusto, sia l'attività neurologica, sia il comportamento motorio.

Materiali e Metodi

La ricerca è stata svolta in collaborazione con il Polo Tecnologico dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano, dove sono stati acquisiti sia i dati di *gait analysis* che le immagini di risonanza magnetica funzionale e dove ai tre soggetti con esiti stabilizzati di ictus, considerati in questo studio, è stata somministrata una terapia riabilitativa neuro-motoria basata sull'impiego di *biofeedback* uditivo elettromiografico.

Le *gait analysis* sono state realizzate utilizzando il sistema di stereofotogrammetria optoelettronica BTS SMART-D ad 8 telecamere, per rilevare la cinematica di marcatori posizionati in accordo con il protocollo LAMB, due pedane di forza piezoelettriche Kistler, per misurare le forze ed i momenti di reazione al suolo, ed un sistema elettromiografico wireless BTS FreeEMG, per misurare l'attività degli otto muscoli principali dell'arto inferiore paretico coinvolti nel cammino. È stato così possibile giungere ad una stima dei più significativi parametri cinematici e dinamici che caratterizzano il cammino patologico, a velocità normale e massimale, del soggetto studiato.

Per permettere un confronto diretto delle immagini funzionali con i risultati di *gait analysis*, in fMRI si è rilevato il reclutamento cerebrale causato dalla flessione-estensione della caviglia, che rappresenta il paradigma motorio caratterizzante la deambulazione.

Tramite uno scanner MRI Siemens Magnetom Avanto a 1,5T si è acquisita l'attività neurale determinata dall'esecuzione del *task* in modo attivo e passivo, sia con l'arto paretico che con quello sano, rispettando un protocollo a blocchi alternati di azione e riposo.

Dopo aver acquisito ed elaborato i dati di analisi del movimento (tramite software Matlab) si sono ottenuti i parametri cinematici e cinetici caratterizzanti la deambulazione, assieme ai parametri relativi l'attivazione muscolare.

Alle immagini ricostruite dai segnali BOLD rilevati dallo scanner di fMRI, sono state applicate delle procedure computazionali (tramite software SPM) per rimuovere dai dati la variabilità che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali e per rendere i dati utilizzabili in analisi statistiche. Pertanto, le immagini funzionali sono state riallineate per correggere i movimenti della testa, coregistrate all'immagine anatomica, normalizzate allo spazio MNI T1-pesato per consentire un confronto tra soggetti, e sottoposte a filtraggio spaziale. Si sono poi analizzate per stabilire quali aree cerebrali sono state coinvolte durante l'esecuzione del *task* in modo statisticamente significativo, sia impiegando il metodo GLM standard, sia una *cluster analysis*. Infine, è stata proposta una metodologia innovativa per permettere di indagare il segnale fMRI.

Sulla base dei parametri ricavati da entrambe le analisi, si sono proposti degli indici riassuntivi per poter quantificare l'eventuale miglioramento dell'*outcome* motorio e dell'attività neurale in modo robusto e standardizzabile, correlandoli (con l'utilizzo del software MATLAB) per valutare in modo completo la patologia ed il suo recupero.

Dal confronto tra le acquisizioni effettuate prima e dopo la terapia, è stato possibile uno studio longitudinale per quantificarne gli effetti sia a livello centrale, come risposta neurale, che a livello periferico, come pattern motorio.

Analisi di correlazione sono state effettuate anche per verificare la non ridondanza dei risultati ottenuti dalle diverse condizioni sperimentali testate, oltre che per stabilire se i diversi soggetti hanno manifestato una evoluzione simile in seguito alla terapia. Infine, si è stabilito se i miglioramenti dell'*outcome* motorio siano correlabili, o meno, con quelli relativi all'attivazione neurale.

Risultati

Dall'elaborazione delle acquisizioni di *gait analysis*, si sono ottenuti diversi parametri che permettono la descrizione della cinematica e della dinamica; di questi, si sono considerati solo quelli relativi al movimento dell'articolazione tibio-tarsica, in quando direttamente correlabili con il paradigma motorio proposto in fMRI. A partire da questi parametri, si è proposto il calcolo di tre indici. Il primo valuta la variazione nel tempo della distanza del valore di ciascun parametro da un riferimento di normalità, quindi l'eventuale recupero dell'*outcome*. Il secondo indice quantifica la diversa influenza della terapia sulla camminata naturale rispetto a quella a velocità massima. Il terzo indice vuole stabilire se l'eventuale recupero dell'*outcome* motorio sia determinato da un miglioramento della capacità di movimento dell'arto paretico o dall'azione compensatoria di quello sano.

I risultati delle *gait analysis* hanno mostrato, per tutti e tre i soggetti analizzati, una condizione patologica caratterizzata da una velocità di cammino inferiore a quella normale sia precedentemente che successivamente alla somministrazione del trattamento terapeutico. La terapia con EMG BFB ha indotto risultati eterogenei tra i soggetti dei parametri neuro-muscolari e coordinativi analizzati: il primo soggetto

sembra aver recuperato uno schema motorio più corretto rispetto a quello del secondo soggetto, anche se a discapito della performance motoria che invece pare maggiormente incrementata in quest'ultimo; il terzo soggetto, invece, non ha modificato la sua capacità di deambulazione. Dagli effetti sul primo soggetto si potrebbe supporre che la terapia con EMG BFB possa essere più determinante nel recupero e nel rafforzamento di una motricità di base, piuttosto che per migliorare performance massimali. Diversamente, per il secondo soggetto la terapia ha migliorato la capacità di cammino anche a velocità elevate, ma non ha indotto un ripristino dell'*outcome* normale, bensì ha stimolato l'instaurarsi di strategie compensative, modificando l'utilizzo dell'arto sano per sopperire le difficoltà di quello paretico. Restano da valutare i motivi per i quali il terzo soggetto non abbia tratto beneficio alcuno.

Considerate le immagini funzionali acquisite, per determinare le aree neurali coinvolte nell'esecuzione del *task* motorio il metodo basato sul GLM si è rivelato non essere applicabile in questo studio, a causa di motivi specifici della patologia. Per compiere il movimento di flessione-estensione dell'articolazione tibio-tarsica, i soggetti post-ictus spesso mettono in atto strategie compensatorie tramite altri distretti corporei e le relative attivazioni determinano un degradamento del segnale che non rispetta qualitativamente l'andamento atteso della risposta emodinamica ipotizzata a partire dal disegno sperimentale adottato, causando il fallimento dell'analisi statistica con GLM.

Per questi motivi si è testata l'applicazione diretta delle tecniche di *clustering* alle serie temporali di dati fMRI, che rappresenta un metodo immediato di analisi statistica che incorpora sia informazioni spaziali che temporali e non richiede l'esplicitazione dell'andamento atteso del segnale fMRI. Tuttavia non si è dimostrata una strategia adottabile in questo contesto, in quanto si è verificato che i cluster con le cinetiche più significative sono costituite da regioni non direttamente coinvolte nell'esecuzione del *task*, e di conseguenza non è possibile individuare un numero di cluster ottimale che permetta una dettagliata rilevazione delle regioni attivate in risposta allo stimolo motorio.

Visti i limiti di applicabilità del test basato su GLM e della *cluster analysis*, si è proposto un metodo innovativo di indagine a partire dal segnale grezzo, pre-elaborato solo per ottenere delle immagini confrontabili tra i diversi soggetti. Tale strategia di analisi si basa sul calcolo della media della differenza del segnale medio rilevato per ognuna delle 58 coppie di ROI (una per l'emisfero destro, una per quello sinistro) con le quali si è suddiviso il volume cerebrali. In particolare, si sono considerate le ROI individuanti l'area motoria principale, quella pre-motoria, quella somatosensoriale ed il cervelletto che, in soggetti normali, sono le zone più coinvolte con il movimento. Gli indici proposti hanno permesso di valutare le differenze di attivazione neurale che si evidenziano quando il soggetto muove, passivamente o attivamente, il piede sano o quello paretico. Il primo indice è calcolato come la variazione delle differenze degli emisferi rilevate prima e dopo il trattamento riabilitativo. Il secondo indice rappresenta l'evoluzione nel tempo della variazione delle differenze dei segnali dei due emisferi tra il movimento dell'arto paretico e quello dell'arto sano. Se si suppone che il cervello risponda in maniera simmetrica nel movimento dei due arti, un segno del recupero di un corretto pattern di attivazione neurale è rappresentato dalla tendenza ad annullare queste differenze. Il terzo indice è rappresentato dalla variazione della differenza del segnale tra gli emisferi, tra il movimento attivo e quello passivo e potrebbe permettere

di individuare quale ROI siano coinvolte nel movimento volontario del piede. Anche i risultati delle fMRI, come quelli di *gait analysis*, descrivono processi riabilitativi differenti tra i soggetti. Per il primo soggetto si rileva un recupero neurologico generalizzato, indicando un possibile *motor re-learning* della funzionalità compromessa dalla patologia, in linea con quanto manifestato dalle relative *gait analysis*. In particolare, le modifiche del suo pattern di attivazione possono indicare che la porzione sana di M1 si attiva durante l'esecuzione del movimento da parte di entrambi gli arti, assolvendo anche il compito precedentemente svolto dall'area lesionata. Per quanto riguarda il secondo soggetto, i risultati mostrano un quadro neurologico peggiorato dopo la terapia riabilitativa, nonostante i valori iniziali indicassero una situazione più vicina alla normalità di quanto lo fosse quella del primo soggetto. In particolare, il paziente coinvolge in modo molto più massiccio l'emisfero sano del cervello. Questo peggioramento può essere in linea con quanto esplicitato dagli indici di *gait analysis*, nel senso che il miglioramento dell'*outcome* motorio, reso possibile dall'intervento compensatorio dell'arto sano, può riflettersi nell'importante incremento di attivazioni dell'emisfero sano. Il terzo soggetto manifesta un sostanziale peggioramento dell'attività neurale, molto più diffusa e principalmente nell'emisfero sano. Questo peggioramento, però, non si riflette nell'*outcome* motorio che, tuttavia, è quello che, tra tutti i soggetti, si discosta maggiormente dai valori di normalità.

Anche l'analisi di correlazione ha evidenziato che la terapia induce delle variazioni diverse nei tre soggetti, sia per quanto riguarda l'*outcome* motorio che l'attivazione neurale. In particolare, i valori degli indici del terzo soggetto sono quasi-scorrelati, o debolmente correlati negativamente, con quelli osservati per i primi due soggetti, indicando che per esso la terapia non abbia determinato i miglioramenti osservati per i primi due.

L'analisi di correlazione dei valori degli indici di miglioramento riscontrati per le diverse condizioni sperimentali, ne giustificano l'acquisizione. Infatti i coefficienti di Pearson calcolati sono prossimi all'unità in pochi casi (ma non per tutti i soggetti), mentre tipicamente esprimono una correlazione debole se non nulla. Pertanto si dimostra che i diversi *task* acquisiti sono in grado di fornire delle indicazioni differenti riguardo il recupero motorio e neurale.

Le variazioni nel tempo degli indici di *gait analysis* e di fMRI sono risultati essere statisticamente simili per il secondo e per il terzo soggetto; al contrario, per il primo soggetto il test rileva un differente comportamento tra l'evoluzione degli esiti dei suoi esami, ovvero una diversa influenza della terapia a livello centrale e periferico. I risultati di questo test statistico, però, sono opposti rispetto a quanto osservato nelle considerazioni fatte precedentemente sulla base dei valori degli indici dei due esami. Test statistici più adeguati e raffinati saranno messi a punto solo disponendo di un campione di soggetti più ampio.

Conclusioni

Gli effetti della terapia riabilitativa con *biofeedback* sono molto quindi discordi all'interno del limitato campione di soggetti analizzati; in questa Tesi non è possibile definire univocamente questo aspetto e un'estensione di questo studio è necessaria. Al contrario, il metodo di indagine dei dati di *gait analysis* e di quelli di fMRI, proposto in questa Tesi, si è dimostrato robusto, standardizzabile, non sottoposto ai vincoli che limitano l'utilizzo di metodi di analisi classici; sembra essere molto promettente e per questo sarà approfondito per essere impiegato più estesamente nello studio.

INTRODUZIONE

L'ictus cerebrale rappresenta la prima causa di invalidità a livello mondiale, con un rilevante impatto individuale, familiare, sociosanitario ed economico. Nel corso degli anni si sono sviluppate, nell'ambito della riabilitazione neurologica, diverse proposte di trattamenti volte al ripristino delle capacità motorie dell'arto inferiore: il recupero di una camminata più sicura, veloce e corretta è requisito essenziale per permettere al paziente di riacquistare autonomia nelle normali attività di vita quotidiana.

L'accumularsi di evidenze in merito ai fenomeni di neuroplasticità e di riorganizzazione funzionale nel cervello adulto dopo un danno cerebrale, anche a lungo termine, hanno indotto lo studio di modi e mezzi per evocarla, migliorarla e guidarla, al fine di permettere una riabilitazione neuro-motoria dei pazienti che hanno subito un ictus. Le tecniche riabilitative basate sul concetto di apprendimento motorio (*motor learning*), come l'utilizzo del *biofeedback* elettromiografico considerato in questa Tesi, sfruttando i fenomeni fisiologici propri del recupero intrinseco neuroplastico, educano il paziente a riottenere un controllo nervoso sugli arti paretici e all'adattamento ad uno specifico contesto ambientale al fine di permettere il ripristino di una funzionalità il più possibile normale.

Negli ultimi anni, diversi studi hanno quantificato l'*outcome* motorio caratteristico di pazienti post-ictus attraverso l'esecuzione di gait *analysis* mediante l'utilizzo di sistemi di stereofotogrammetria optoelettronica. Parimenti, la tecnica di risonanza magnetica funzionale (fMRI) è diventata una delle metodologie più comuni per analizzare l'attività cerebrale relativa a processi somatosensoriali, motori e cognitivi, sia in soggetti sani che in soggetti affetti da danni neurologici.

Finora, però, non esistono studi che correlano l'*outcome* motorio riabilitativo con eventuali cambiamenti a livello di reclutamento delle aree cerebrali, ipotesi plausibile soprattutto nel caso di protocolli riabilitativi basati sul *motor learning*. In questo contesto si inserisce l'obiettivo della presente Tesi, che si prefigge di correlare le modifiche indotte, da una terapia basata sul *biofeedback* elettromiografico, sul pattern motorio e sull'attività neurale determinata dall'esecuzione di un *task* significativo della capacità di cammino.

Per permettere il raggiungimento di questo scopo finale è necessario suddividere lo studio in diverse fasi, ognuna delle quali caratterizzata da diverse finalità.

In primo luogo è necessario mettere a punto metodologie di indagine ed individuare dei parametri che permettano di descrivere in modo quantitativo, oggettivo, accurato e robusto, sia l'attività neurologica, sia il comportamento motorio e che siano significativi per il contesto studiato.

Prima del trattamento terapeutico si effettueranno delle analisi preliminari per permettere di quantificare il danno sia a livello neurologico, sia come *outcome* motorio. In particolare si intende:

- individuare, quantificare e studiare l'attivazione cerebrale (tramite fMRI) in pazienti con esiti stabilizzati di ictus durante l'esecuzione, passiva o attiva e sia da parte dell'arto paretico che di quello sano, di *task* significativamente correlati al cammino;
- quantificare e studiare il pattern motorio adottato (tramite *gait analysis*), sia relativo all'arto paretico che a quello sano, da pazienti con esiti stabilizzati di ictus durante l'azione di cammino sia a passo normale che a velocità massimale;
- mettere in relazione l'analisi dell'attività neurale, con quella del movimento;
- confrontare le analisi effettuate sul paziente, con quelle relative ad una popolazione di soggetti sani di controllo.

Dopo aver sottoposto il paziente a trattamento riabilitativo basato sull'impiego di *biofeedback* elettromiografico, si effettueranno nuovamente le stesse analisi di attivazione neurale e del pattern di cammino, con i medesimi obiettivi delle analisi pre-trattamento.

Inoltre, dal confronto tra le acquisizioni effettuate prima e quelle dopo la somministrazione del programma riabilitativo, si vuole realizzare uno studio longitudinale. In particolare, si è interessati a:

- quantificare le differenze pre-post terapia delle attivazioni neurali (tramite fMRI) in risposta alle diverse condizioni di esecuzione del *task* motorio e del pattern motorio (tramite *gait analysis*) adottato dal paziente durante il cammino alle diverse velocità;
- mettere in relazione le differenze pre-post terapia dell'analisi dell'attività neurale, con quella del movimento;

Si vuole quindi:

- verificare se vi sia una relazione tra l'eventuale recupero motorio e una variazione nell'attivazione delle aree cerebrali correlate con la funzionalità motoria in esame;
- verificare e quantificare le modifiche indotte dalla terapia con *biofeedback* elettromiografico proposta: se essa agisce a livello periferico, a livello di sistema nervoso centrale, o a entrambi i livelli e con che grado di correlazione.

Un'ultima acquisizione di follow-up avrà l'obiettivo di valutare come le variazioni (eventualmente il recupero) pre-post terapia si siano stabilizzate o meno nel tempo, sottendendo, o no, la capacità della terapia in studio di indurre nel paziente un *motor learning* indelebile nel tempo.

Di seguito, una rassegna del contenuto dei diversi capitoli della Tesi.

Il primo capitolo vuole fornire una panoramica riguardo la patologia dell'ictus, descrivendo in modo particolare il processo di recupero funzionale e le fondamentali biologiche di neuroplasticità sulle quali si basa. Sono poi esposte brevemente le diverse tecniche di intervento riabilitativo mirate al recupero del cammino dopo ictus, ponendo una più estesa attenzione alle metodiche che prevedono l'impiego di *biofeedback*.

Il secondo capitolo è dedicato ad una trattazione introduttiva all'analisi del movimento. In particolare si presentano le tecnologie adoperate per l'esecuzione di una *gait analysis*, esponendo con maggior dettaglio la strumentazione impiegata in stereofotogrammetria optoelettronica e le metodologie di analisi dei segnali derivanti da essa. Infine, si confrontano i principali protocolli di *gait analysis* proposti in letteratura.

Nel terzo capitolo si descrivono le basi fisiologiche sulle quali si fonda l'analisi di risonanza magnetica funzionale. Le immagini funzionali acquisite dalla strumentazione

di MRI devono essere sottoposte ad una serie di elaborazioni preliminari, al fine di rimuovere dai dati la variabilità che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali e di rendere le immagini utilizzabili per analisi statistiche; queste fasi di pre-processing, unitamente ad alcune delle principali strategie di analisi statistica, sono illustrate in questo capitolo.

Il quarto capitolo descrive le caratteristiche della popolazione di soggetti studiata, oltre all'apparato strumentale utilizzato per il trattamento riabilitativo con *biofeedback* elettromiografico, per le acquisizioni di *gait analysis* e di fMRI e per le elaborazioni effettuate sui relativi segnali.

Nel quinto capitolo si dettaglia il protocollo sperimentale adottato in questo studio, motivando le scelte che esso sottende. Si illustrano il trattamento terapeutico con *biofeedback* elettromiografico impiegato ed i disegni sperimentali delle sessioni di acquisizione di *gait analysis* e di fMRI; sono anche esposte le metodologie adottate per l'elaborazione dei dati acquisiti. In modo particolare, si propongono degli indici innovativi di valutazione dei segnali di fMRI e di *gait analysis*, per consentire un loro diretto confronto, in specifica relazione alla tipologia di patologia considerata.

Nel sesto capitolo si espongono e si interpretano i risultati ottenuti dalle indagini di *gait analysis*, da quelle di fMRI e dalle loro correlazioni.

Infine, si espongono le conclusioni del lavoro svolto e dei risultati a cui ha portato. Si stabilisce se gli indici proposti, per la valutazione tramite *gait analysis* e fMRI del recupero motorio e neurale, possono essere considerati validi ed applicabili su larga scala. A partire dalle considerazioni possibili sui risultati ottenuti, si evincono gli effetti che questo studio può attribuire alla terapia neuromotoria con *biofeedback* elettromiografico esaminata. Si propongono, poi, alcune possibilità di sviluppo futuro di questa ricerca.

1. STROKE E NEUROPLASTICITÀ

In questo capitolo si vuole fornire una panoramica riguardo la patologia ictale, descrivendo in modo particolare il processo di recupero funzionale e le fondamentali biologiche di neuroplasticità sulle quali si basa. Sono poi esposte brevemente le diverse tecniche di intervento riabilitativo mirate al recupero del cammino dopo ictus, ponendo una più estesa attenzione alle metodiche che prevedono l'impiego di biofeedback. [1-11]

1.1 L'ictus

L'ictus cerebrale rappresenta la seconda causa di morte a livello mondiale, la terza in Italia e negli altri Paesi industrializzati dopo le malattie cardiovascolari e le neoplasie, causando il 10-12% di tutti i decessi per anno ed è la seconda causa di morte tra la popolazione di età maggiore di 60 anni e la quinta se si considera la popolazione tra i 15 e i 59 anni.

Negli USA si registrano annualmente circa 795.000 casi di ictus (di cui 610.000 sono di primo attacco, il resto recidive), in media uno ogni 40 secondi; circa 200.000-500.000 sono, invece, i casi TIA all'anno. Nel 2007 una morte su 18 è stata causata da ictus (una ogni 4 minuti), con un tasso di mortalità di circa 44 su una popolazione di 100.000. Dati del 2005 rivelano che il 2.6% degli statunitensi di età maggiore di 18 anni hanno subito uno stroke.

In Cina e in Russia si rilevano i più alti tassi di mortalità causati da ictus: circa 360 su 100.000 abitanti; mentre in Italia (nel 2007) si attesta a 18.2 morti per 100.000 abitanti.

Ogni anno si verificano in Italia circa 196.000 ictus, di cui l'80% sono nuovi episodi e il 20% recidive, che colpiscono soggetti già precedentemente affetti. Il tasso di prevalenza di ictus, nella popolazione anziana (65-84 anni) italiana è del 6.5%, più alto negli uomini (7.4%) rispetto alle donne (5.9%). L'incidenza dell'ictus aumenta progressivamente con l'età raggiungendo il valore massimo degli ultra ottantacinquenni, mentre il numero di ictus in persone in età produttiva si aggira attorno ai 27.000 casi sui 196.000 annuali (circa il 20% del totale è costituito da recidive). Il 75% degli ictus si riscontra in soggetti di oltre 65 anni.

In Veneto, annualmente si registrano più di 9.000 eventi di ictus ospedalizzati. L'analisi dell'andamento temporale nel primo decennio degli anni 2000 rivela una sensibile riduzione del numero assoluto, che aveva raggiunto il valore massimo nell'anno 2002 (con disomogeneità nei tre sottotipi: tendenza alla riduzione per quanto riguarda l'ictus ischemico, aumento degli eventi di tipo emorragico). La distribuzione per sesso e classe di età conferma, anche per quanto riguarda il Veneto, come l'ictus sia una patologia frequente principalmente nelle età avanzate: oltre il 60% riguarda soggetti di età non inferiore a 75 anni (il 47% negli uomini ed il 71%

nelle donne). Il tasso osservato di ricovero per ictus è superiore nelle femmine rispetto ai maschi, a causa dell'età più elevata della popolazione femminile; ma parità di età, l'ictus si verifica con maggior frequenza nel sesso maschile.

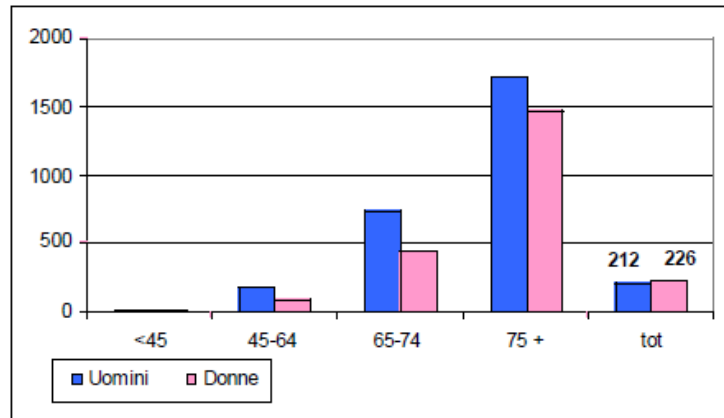


Figura 1.1 Incidenza dell'ictus in Veneto nel 2004 [5].

L'incidenza dello stroke è in diminuzione in molti Paesi sviluppati, principalmente per effetto di un miglior controllo della pressione sanguigna e della diminuzione del fumo (che sono i principali fattori di rischio: due quinti delle morti per ictus in soggetti di età inferiore ai 65 è direttamente causato dal fumo). Negli USA, dal 1997 al 2007, la mortalità per stroke è scesa (riduzione maggiore per gli uomini che per le donne) del 34.4%.

Tuttavia, in valore assoluto, il numero di casi di ictus aumenterà nel prossimo futuro a causa dell'invecchiamento della popolazione. L'aumento dei soggetti anziani e la persistenza dell'abitudine al fumo di sigaretta e di una dieta non adeguata, rendono ipotizzabile il duplicarsi della mortalità mondiale per ictus (attualmente a circa 6 milioni per anno) entro il 2020.

Dei 15 milioni di casi di ictus che si registrano annualmente su scala mondiale, circa 5 milioni hanno esito fatale, mentre altri 5 milioni determinano una disabilità permanente. L'importanza di questi numeri si rispecchia nel fatto che l'ictus è la prima causa di invalidità (35% dei pazienti ictati), con un rilevante impatto individuale, familiare, sociosanitario ed economico. La disabilità funzionale residua non è unicamente relativa alla motricità, ma anche a deficit come l'afasia, deficit di tipo visuospaziale, la disfagia, problemi di tipo pneumologico, la depressione e la demenza. Dati del 2005 relativi agli USA, mostrano che il 30.7% dei sopravvissuti ad ictus necessita di riabilitazione ambulatoriale. La durata della fase riabilitativa dipende dalla gravità della patologia. Il 50-70% dei sopravvissuti recupera un'indipendenza funzionale, ma il 15-30% rimane disabile ed il 20% richiede assistenza fino a 3 mesi dopo l'evento ictale. Tra i sopravvissuti di età superiore ai 65 anni a 6 mesi dall'ictus, il 50% dei casi ha emiparesi, il 30% non è in grado di camminare autonomamente senza assistenza, il 26% non è indipendente nelle ADLs (activities of daily living), il 19% soffre di afasia, il 35% manifesta sintomi depressivi ed il 26% è ricoverato in casa di cura. La disabilità in seguito a stroke sembra riguardare maggiormente le donne (33%) rispetto agli uomini (27%).

Dati sulla popolazione del 2011 mostrano che, in Italia, il numero di soggetti che hanno avuto un ictus e ne sono sopravvissuti, con esiti più o meno invalidanti, è di circa 913.000 unità. Ad 1 anno dall'evento acuto, un terzo circa dei soggetti sopravvissuti ad un ictus presenta un grado di disabilità elevato, che li rende totalmente dipendenti.

Dal punto di vista economico, l'ictus ha un impatto estremamente gravoso. Si possono individuare costi diretti, quali l'assistenza medica e terapeutica, ed indiretti, legati alla conseguente perdita di giorni lavorativi del paziente e dei familiari che assicurano un'assistenza. Tali costi causano una grossa spesa per il servizio sanitario nazionale e, secondariamente, un'importante perdita di produttività su scala nazionale.

La American Heart Association ha stimato, per il 2004, un costo dello stroke pari a 53,6 miliardi di US\$, di cui 33 miliardi di US\$ relativi a costi diretti e 20.6 miliardi di US\$ dovuti alla perdita di produttività risultante.

Nel 2001, la National Stroke Association ha calcolato un costo per paziente di 15000 US\$ nei primi 90 giorni dopo l'evento ictale, mentre nel 10% dei casi la spesa è stata superiore ai 35000 US\$.

Altri dati relativi agli USA, per il 2007, rilevano un costo diretto e indiretto di circa 41 miliardi di US\$, con una spesa per paziente di circa 8000 US\$.

In Gran Bretagna, relativamente all'anno 2000, più del 4 % della spesa del National Health Service ha riguardato servizi legati allo stroke.

Similmente, in Olanda, nel 2003, sono stati spesi in media 16000€ per paziente nei primi sei mesi dopo l'ictus. È stato stimato che lo stroke rappresenta il 3% della spesa sanitaria nazionale totale nel 1994, il 7% se si considera la popolazione di età superiore ai 75 anni, classificandosi al secondo posto tra le malattie più costose riguardanti la popolazione anziana (al primo posto la demenza), con costi che sono stimati crescere del 40% entro il 2015.

1.2 Definizione, eziologia, fattori di rischio e segni di ictus

Secondo la definizione dell'WHO/OMS (World Health Organization / Organizzazione Mondiale della Sanità) l'ictus è l'improvvisa comparsa di segni e/o sintomi riferibili a deficit focale e/o globale delle funzioni cerebrali, di durata superiore alle 24 ore o ad esito infausto, non attribuibile ad altra causa apparente se non a vasculopatia cerebrale. Con la cessazione dell'apporto ematico dovuto ad occlusione o ipoperfusione in un vaso cerebrale, si ha la morte delle cellule neuronali nel core dell'area infartuata entro pochi minuti. La zona attorno al core, chiamata penombra ischemica, presenta cellule funzionalmente coinvolte ma ancora vitali per la presenza di circoli collaterali. Questa area può trasformarsi in infarto per il secondario danno neuronale causato dalla cascata di eventi biochimici che si ha dopo l'ischemia che porta ad effetti citotossici ed eccitotossici.

Mentre i processi biochimici del danno ischemico cerebrale sono uniformi, si possono suddividere le tipologie di ictus in base all'eziologia. La definizione di ictus, infatti, comprende:

- l'ictus ischemico, che rappresenta la forma più frequente di ictus (87% negli USA, 80% in Italia, 78% nel Veneto) e colpisce soprattutto soggetti di età superiore ai 65

anni, più spesso uomini che donne; è una condizione caratterizzata dall'occlusione di un vaso (ischemia) a causa di una trombosi (responsabile di circa il 50% degli ictus) o di un'embolia (l'embolo, trasportato dal flusso sanguigno, è spesso formato a livello cardiaco) o, meno frequentemente, da un'improvvisa e grave riduzione della pressione di perfusione del circolo ematico (causata, ad esempio, da fibrillazione atriale, da infarto, o da anomalie valvolari).

- ictus ischemico con infarcimento emorragico, detto infarto rosso, che si ha quando l'ictus ischemico presenta emorragie dovute alla lesione dei vasi secondaria all'ischemia.

- l'ictus emorragico (emorragia intracerebrale primaria), che rappresenta il 15-20% dei casi in Italia (10% negli USA, 17% nel Veneto) e colpisce soggetti leggermente meno anziani, sempre con lieve prevalenza per il sesso maschile e possiede un alto tasso di mortalità acuta; è una condizione determinata dalla presenza di un'emorragia intracerebrale non traumatica (spesso causata dall'ipertensione).

- l'emorragia subaracnoidea (ESA), circa il 3% dei casi con maggior prevalenza in soggetti femminili di circa 50 anni, è una condizione in cui si verifica la presenza di sangue nello spazio subaracnoideo.

- se la durata dell'evento è inferiore alle 24 ore (tipicamente pochi minuti), si parla di TIA (Transient Ischemic Attack) o minor stroke, ovvero attacco ischemico transitorio. Gli episodi ischemici cerebrali transitori si manifestano in circa un terzo dei soggetti che in seguito presentano un ictus ischemico definitivo e rappresentano perciò un importante fattore di individuazione dei soggetti a rischio di malattia cerebrovascolare grave. I pazienti con ictus ischemico lieve hanno una prognosi a lungo termine simile a quella dei pazienti con TIA, perciò molti ritengono che non vi sia una specifica utilità nel trattarli in modo separato.

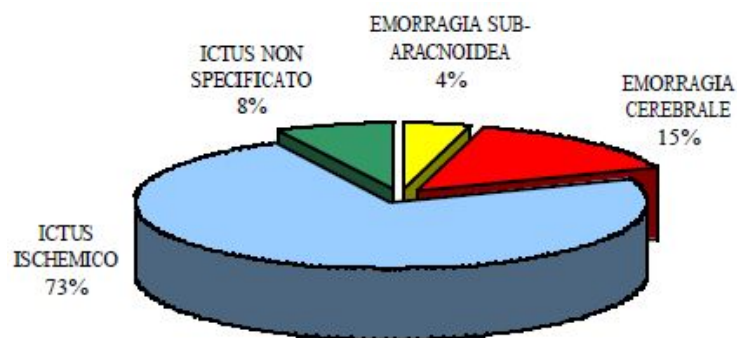


Figura 1.2 Tipologie di ictus in Veneto nel 2004 [5].

Numerosi studi epidemiologici hanno individuato molteplici fattori che aumentano il rischio di ictus, dei quali un importante riferimento nella letteratura scientifica è costituito, dal 1971, dai Conference Proceedings della American Heart Association (AHA), che racchiudono in esse revisioni dell'American Stroke Association (ASA) e del Journal of the American Medical Association (JAMA). I fattori di rischio possono essere distinti in:

- fattori demografici (età, sesso, razza) che non possono essere modificati, ma costituiscono importanti indicatori per definire le classi di rischio;

- caratteristiche fisiologiche (pressione arteriosa, colesterolemia, glicemia) che possono richiedere un trattamento farmacologico oltre che misure preventive;
- abitudini comportamentali (fumo, consumo di alcool, dieta, esercizio fisico) che possono avvalersi di modificazioni dello stile di vita.

Gli attacchi ischemici transitori costituiscono un fattore di rischio significativo per l'ictus cerebrale ischemico.

Fattori di rischio modificabili ben documentati sono, dunque: ipertensione arteriosa, alcune cardiopatie (in particolare fibrillazione atriale), diabete mellito, iperomocisteinemia, ipertrofia ventricolare sinistra, stenosi carotidea, fumo di sigaretta, eccessivo consumo di alcol, ridotta attività fisica, dieta.

Sono stati descritti altri fattori che probabilmente aumentano il rischio di ictus, ma che al momento non appaiono completamente documentati; fra questi: ipercolesterolemia (che è il più importante fattore di rischio modificabile per la malattia coronarica), dislipidemia, alcune cardiopatie (forame ovale pervio, aneurisma settale), placche dell'arco aortico, uso di contraccettivi orali, terapia ormonale sostitutiva, sindrome metabolica ed obesità, emicrania, anticorpi antifosfolipidi, fattori dell'emostasi, infezioni, uso di droghe, inquinamento atmosferico.

Come già descritto in precedenza, l'età è il maggiore fattore di rischio per l'ictus: l'incidenza di ictus aumenta con l'età e, a partire dai 55 anni, raddoppia per ogni decade; la maggior parte degli ictus si verifica dopo i 65 anni.

È possibile che venga ereditata una predisposizione ad essere colpiti da ictus, ma il ruolo dei fattori genetici nella determinazione del rischio di ictus non è tuttora definito.

La prevenzione primaria è considerata la misura più importante per ridurre il peso sociale dell'ictus. È riconosciuto che la prevenzione dell'ictus comincia con il controllo e trattamento dei fattori di rischio sia mediante un "approccio di massa", con l'obiettivo di promuovere stili di vita più corretti e mirati alla riduzione del livello medio dei fattori di rischio principali nell'intera popolazione, sia tramite una strategia individuale, con il monitoraggio e la cura di soggetti per i quali è riconosciuto un'alta probabilità di sviluppo di ictus.

È provato come la cessazione del fumo di sigaretta e una costante attività fisica siano in grado di ridurre notevolmente l'incidenza dell'ictus. Inoltre, la dieta deve evitare eccessi di sodio, alcol e grassi saturi, nutrienti associati ad un aumento del rischio di ictus; viceversa un'azione protettiva è stata associata all'assunzione di grassi polinsaturi, fibra alimentare, potassio e calcio, antiossidanti, folati e vitamina B₆ e B₁₂.

La fibrillazione atriale, il diabete mellito, l'ipertrofia ventricolare sinistra e l'ipertensione arteriosa (sia sistolica che diastolica) vanno trattate farmacologicamente, permettendo di ridurre notevolmente i rischi di ictus.

Durante l'evento ictale compaiono, in modo improvviso e in varie combinazioni, questi segni:

- difficoltà verbale: non trovare le parole o non comprendere bene quanto viene detto (afasia); pronunciare in modo sbagliato (disartria);
- perdita di forza in un lato del corpo: emiplegia o emiparesi;
- formicolii e perdita di sensibilità in un lato del corpo (parestesia) e diminuita risposta relativa a stimolo (emiipoestesia);
- difficoltà alla vista in metà campo visivo (emianopsia);
- vertigini, perdita di equilibrio;

- improvvisa e molto intensa cefalea, nel caso di emorragie più gravi, soprattutto nel caso di emorragia subaracnoidea.

L'ictus è un'urgenza medica che richiede un ricovero immediato in ospedale. Il paziente con ictus va sempre ricoverato, perché è solo con gli accertamenti eseguibili in regime di ricovero che si può rapidamente diagnosticare sede, natura ed origine del danno cerebrale, oltre che evidenziare e curare eventuali complicanze cardiache, respiratorie e metaboliche.

L'approccio clinico (con esami strumentali e di laboratorio) al paziente con sospetto ictus cerebrale che arriva in ospedale, deve essere immediato e deve comprendere un esame obiettivo generale, un inquadramento neurologico precoce e dettagliato ed una valutazione cardioangiologica approfondita, al fine di garantire una corretta e qualitativamente avanzata cura del paziente.

Per un'assistenza all'ammalato con ictus, che sia più efficace ed efficiente, è preferibile che sia effettuata da una stroke unit (o almeno da uno stroke team), ovvero da strutture e personale dedicato alla cura dell'ictus, dove i pazienti possono essere seguiti da un'équipe multidisciplinare (infermieri, fisiatristi, neurologi, fisioterapisti, terapisti occupazionali, riabilitatori delle funzioni superiori e del linguaggio) competente dedicata alle malattie cerebrovascolari, che garantisca multiprofessionalità, un approccio integrato medico e riabilitativo e fornisca istruzione adeguate ai pazienti ed ai familiari.

1.3 Fasi e scopi della riabilitazione dopo ictus

Scopo dell'intervento riabilitativo è quello di promuovere nel paziente un apprendimento di competenze, sfruttando tutti i sistemi funzionali rimasti integri, sviluppando nuove abilità al fine di garantire il raggiungimento del miglior controllo possibile della propria persona e dell'ambiente circostante, riducendo la percezione di malessere derivante dalle limitazioni imposte dal danno biologico.

Il compito della riabilitazione post-ictus è, quindi, quello di favorire il recupero, almeno parziale, delle funzioni perse. I pazienti possono presentare altri disturbi oltre ai postumi dell'evento cerebrovascolare, come patologie croniche, comorbidità preesistenti o complicazioni dell'evento ictale stesso (spasticità, depressione, malnutrizione, patologie articolari e/o dolorose, cadute ...). Tali disturbi devono essere adeguatamente valutati e trattati, in quanto altrimenti possono condizionare negativamente il processo riabilitativo.

Secondo la guida del Ministero della Sanità per le attività di riabilitazione [12] le varie fasi dell'assistenza a fini riabilitativi sono caratterizzate da interventi che si distinguono in relazione alla loro complessità ed alla quantità di risorse assorbite e si distinguono in:

- attività di riabilitazione intensiva, che richiedono un elevato impegno professionale ed una durata globale dell'intervento assistenziale a fini riabilitativi di almeno tre ore al giorno;

- attività di riabilitazione estensiva o intermedia, caratterizzate da un impegno riabilitativo di durata compresa fra una e tre ore giornaliere ed un forte impegno assistenziale.

Il miglior risultato riabilitativo si può ottenere solo garantendo una proficua ed intensa interazione tra il paziente, la sua famiglia ed uno stroke team interprofessionale coordinato da un esperto nella riabilitazione dell'ictus, assicurando un'intensità ed estensività adeguata nell'assistenza.

È opinione diffusa che la realizzazione di un trattamento rieducativo della intensità massima tollerata dal paziente migliori l'esito finale. La durata di tale approccio è variabile nelle diverse condizioni: da 20-40 minuti al giorno, fino ai 45 minuti di rieducazione motoria e 40 minuti di terapia occupazionale al giorno, proposti in media a pazienti di stroke unit. La durata del trattamento riabilitativo non appare rilevante in fase acuta, quando, piuttosto, risulta cruciale l'organizzazione e la collaborazione infermiere-terapista che amplifica l'assistenza in ottica riabilitativa, estendendolo a tutta la giornata.

Numerose ricerche hanno prodotto risultati molto contrastanti riguardo la richiesta di intensità nella riabilitazione. Tuttavia, recentemente si concorda nel ritenere necessaria un'attività riabilitativa che sia precoce ed intensiva, senza giungere ad una quantificazione in merito. Nonostante il dibattito sia tuttora aperto e non si conosca la soglia minima di trattamento al di sotto del quale l'approccio riabilitativo non offre apprezzabili benefici, le linee guida del Royal College of Physicians of London [13] sottolineano la necessità di offrire al paziente quanta più terapia egli possa tollerare, che questa sia orientata verso abilità a contenuto pratico e che, comunque, i pazienti, sottoposti a trattamento riabilitativo intensivo, siano trattati con assiduità ed incontrino i fisioterapisti tutti i giorni lavorativi.

La scarsa resistenza del paziente, oltre a motivi organizzativi, fanno che si che siano rari i casi in cui la fisioterapia si prolunghi per più di due ore al giorno nella fase più precoce della riabilitazione.

Il percorso riabilitativo è caratterizzato da obiettivi diversi in base alla diversa fase clinica nella quale il paziente può trovarsi. In linea generale, suddividendo su base temporale rispetto all'evento ictale, si individuano:

- fase di acuzie: ha inizio dopo una approfondita diagnosi e l'avvio dell'adeguata terapia farmacologica che prevede, nel caso di ictus ischemico, lo scioglimento del coagulo (trombolisi) entro le prime tre ore (golden hours) dall'evento e l'impedimento della formazione di ulteriori trombi attraverso farmaci antiaggreganti. Tale periodo assistenziale viene definito come "fase di prevenzione del danno secondario", infatti nelle prime 48 ore dall'esordio dell'ictus vengono sorvegliate le funzioni vitali (ritmo cardiaco e frequenza cardiaca, pressione arteriosa, saturazione dell'ossigeno nel sangue e temperatura) e lo stato neurologico. Si monitorizza costantemente l'evoluzione del paziente, ponendo attenzione alle possibili complicazioni al fine di:
 - minimizzare il rischio di morte del paziente per cause cerebrali, cardiocircolatorie, respiratorie, infettive, metaboliche;
 - contenere gli esiti della malattia limitando il danno cerebrale e le sue conseguenze;
 - evitare le recidive di danno vascolare dell'encefalo;
 - limitare la comorbidità conseguente al danno neurologico, alle condizioni cardiocircolatorie ed all'immobilità;

- favorire il recupero delle abilità compromesse dall'ictus allo scopo di promuovere il reinserimento sociale e di utilizzare le capacità operative residue.

Già nel periodo di acuzie, come si analizzerà in seguito, è necessario perseguire obiettivi correlati alla riabilitazione, ovvero la prevenzione della disabilità (mobilitazione ed interventi riabilitativi precoci), integrati con il programma diagnostico ed il trattamento di emergenza.

La fase di acuzie comprende anche il periodo di stabilizzazione clinica, durante il quale al paziente non possono essere richieste prestazioni di particolare impegno;

- fase immediatamente successiva all'acuzie, quando il quadro clinico è stabilizzato e l'intervento riabilitativo può positivamente influenzare i processi biologici alla base del recupero, nel momento in cui la disabilità è maggiormente modificabile. Tale condizione, definita "fase riabilitativa", può prevedere una modalità intensiva o estensiva a seconda del fabbisogno riabilitativo ed assistenziale, e richiede la disponibilità delle risorse, individuali e contestuali, che garantiscono il massimo impegno nell'attività a fini riabilitativi e può ripetersi in caso di riacutizzazioni o recidive dell'evento patologico;

- fase di completamento del processo di recupero previsto dal progetto riabilitativo, che in genere è caratterizzata da interventi riabilitativi di tipo estensivo;

- fase del mantenimento e/o di prevenzione della progressione della disabilità, che si protrae per tutta la sopravvivenza residua ed è finalizzata al mantenimento delle prestazioni acquisite, al controllo periodico dei fattori di rischio di ulteriori eventi disabilitanti, alla prevenzione delle compromissioni funzionali favorite dall'invecchiamento ed alla organizzazione dell'attività quotidiana in maniera adeguata alle caratteristiche individuali ed ambientali.

Per quanto riguarda più in dettaglio la tipologia dell'intervento terapeutico riabilitativo motorio, esso si differenzia a seconda degli obiettivi perseguiti nella varie fasi del trattamento. Si possono individuare sette fasi del comportamento motorio degli arti plegici in seguito ad evento ictale:

- I fase: flaccidità, nessun movimento è possibile.

- II fase: iniziale sviluppo della spasticità e delle sinergie di base degli arti o alcune loro componenti possono comparire come reazioni associate; possibile presenza di movimenti volontari accennati.

- III fase: acquisizione del controllo volontario delle sinergie di base anche se realizzate parzialmente; la spasticità diventa marcata.

- IV fase: possibilità di realizzare alcune combinazioni di movimenti che non seguono gli schemi delle sinergie di base (inizialmente con difficoltà poi con maggiore facilità); la spasticità inizia a diminuire.

- V fase: si apprendono combinazioni di movimenti più vari e più difficili dato che le sinergie di base perdono la loro dominanza sulle attività motorie; la spasticità continua a diminuire.

- VI fase: scomparsa della spasticità e diventano possibili movimenti articolari isolati e la coordinazione si avvicina alla normalità.

- VII fase: funzione motoria normale.

In fase acuta l'obiettivo è la prevenzione della disabilità motoria secondaria e terziaria (intesi come menomazioni strutturali o funzionali che compromettono le possibilità di recupero) post-ictale che viene ottenuta principalmente mediante:

- la mobilizzazione precoce (igiene articolare), importante per il contenimento della rigidità articolare indotto dalle condizioni di immobilità e dalle limitazioni funzionali tipiche di questa fase post-ictale. Il contenimento della rigidità articolare avviene tramite mobilizzazione passiva degli arti paretici o plegici secondo tutto il range di movimento delle articolazioni per almeno 3-4 volte al giorno, già nelle prime ore dopo l'ictus;
 - prevenire patologie articolari (la più frequente è la spalla dolorosa), mediante un corretto posizionamento del paziente ed una adeguata gestione dei suoi trasferimenti posturali.
 - evitare il fenomeno del "learning non use", eventualmente tramite l'impegno dell'arto paretico in attività bimanuali; Taub et al. [14] hanno dimostrato che il recupero motorio in pazienti con emiparesi può essere limitato dalla mancanza di esercizio dell'arto affetto, a causa del "learned disuse" per cui è importante prevenire, nella prima fase seguente l'evento ictale, lo sviluppo di forti ed efficienti compensazioni.
 - la verticalizzazione precoce viene suggerita da alcuni clinici già nelle prime 24 ore, o comunque entro il terzo giorno, indipendentemente dall'eziologia ischemica o emorragica dell'ictus. Ciò non vale nel caso di condizioni cardiocircolatorie (tipicamente in seguito a lesioni di grandi vasi) per le quali la verticalizzazione può determinare una significativa riduzione del flusso cerebrale.
- È durante la fase post-acuta che si attuano i programmi rieducativi più complessi di apprendimento di nuove strategie per l'ottenimento dei più significativi *outcomes* di recupero delle funzioni compromesse dal danno cerebrale; essi devono essere caratterizzati da:
- intervento nell'ambito della "zona di sviluppo potenziale";
 - apprendimento graduale, per livelli progressivi di complessità, sufficientemente lento da garantire correttezza e sicurezza, gratificante nel raggiungere obiettivi prefissati;
 - istruzioni formulate mediante messaggi efficaci;
 - rinforzo del comportamento appreso (feed-back fornito dalla conoscenza della performance e del risultato);
 - compiti congruenti alle abilità che si intendono recuperare;
 - recupero di abilità e conoscenze che influenzino positivamente l'attività abituale del paziente;
 - ripetizione autonoma delle prestazioni apprese;
 - descrizione delle sensazioni percepite dal paziente durante il trattamento (che cosa sente e che cosa prova durante l'esercizio, in particolare l'esercizio di riconoscimento);
 - incoraggiamento ed esaltazione della partecipazione all'attività fisica e ai programmi assistenziali in modo attivo.

1.4 Neuroplasticità e basi biologiche del recupero funzionale dopo ictus

Per neuroplasticità s'intende la capacità del Central Nervous System (CNS) di modificarsi strutturalmente e funzionalmente in seguito ad eventi fisiologici (durante lo sviluppo del CNS la plasticità è massima), a stimoli ambientali (ad esempio

l'apprendimento) e ad eventi patologici. Nei pazienti con lesioni del CNS i fenomeni di neuroplasticità rappresentano i meccanismi alla base del recupero spontaneo e, se ben interpretati, possono costituire un potente strumento razionale per promuovere approcci riabilitativi mirati fornendo adeguati stimoli.

La sfida delle neuroscienze sta nel capire pienamente i processi di neuroplasticità e di riorganizzazione funzionale dopo un danno cerebrale, presupposto indispensabile al fine di prevederli e porli in relazione con la riabilitazione motoria, con lo scopo di scoprire modi e mezzi per "evocarla, migliorarla e guidarla".

Fino a non molto tempo fa, gli esperti di neuroscienze erano scettici circa l'eventualità che l'esperienza potesse modificare il cervello. Gli studi di Merzenich e Kaas [15-16], però, hanno dimostrato per la prima volta che l'esercizio pratico può portare a cambiamenti nelle rappresentazioni corticali corrispondenti ai distretti più attivi. Molti altri studi hanno avvalorato l'idea di un cervello plastico anche in età avanzata. Ma è con i lavori di Nudo et al. [17] che si prova che dopo un danno cerebrale è possibile indurre dei cambiamenti morfologici capaci di migliorare la performance. Il risultato di questi studi suggerisce che il training dopo una lesione può stimolare la plasticità neurale ed il recupero funzionale dell'arto. La terapia riabilitativa, infatti, evita un'ulteriore perdita della rappresentazione del corpo nella corteccia intatta e ne induce un'espansione nella corteccia adiacente, in associazione con il recupero dell'abilità nei movimenti.

La possibilità di una riorganizzazione corticale dopo una lesione è stata universalmente riconosciuta dal mondo scientifico in seguito alla pubblicazione del lavoro di Liepert, Taub e coll. [18] che conferma non solo il fatto che il cervello umano è biologicamente sensibile all'esperienza, ma soprattutto che questa plasticità si mantiene nei casi di lesione. Questa è la prima dimostrazione, nell'essere umano, di un'alterazione a lungo termine nella funzione cerebrale associata ad un miglioramento indotto dalla riabilitazione dopo un danno neurologico.

L'apprendimento di nuove abilità motorie con un CNS intatto e il recupero di abilità precedentemente apprese e perse dopo un danno al CNS, sembrano essere simili nei vari aspetti.

Il cervello ha, dunque, la possibilità di compensare le lesioni cerebrali con meccanismi specifici e la "neuroplasticità" è il substrato biologico più idoneo a spiegare il recupero sfruttando le potenzialità fisiologiche. Tale fenomeno poggia fondamentalmente su due processi: la riorganizzazione funzionale dei circuiti neuronali e il riarrangiamento strutturale dei circuiti stessi.

Nel caso della riorganizzazione funzionale il recupero è da attribuire a strutture integre che assolvono nuove funzioni normalmente non di loro pertinenza, senza che per questo esse siano costrette ad abbandonare le funzioni che fino a quel momento avevano normalmente svolto. Infatti, secondo il concetto di ridondanza, il nostro cervello ha molti più neuroni di quanti ne usa effettivamente, per cui se una parte va distrutta, altre ne vicariano le funzioni.

Il riarrangiamento strutturale consiste, invece, nei processi di ricostituzione anatomica dei circuiti stessi nei punti in cui essi erano stati interrotti dalla causa lesiva. Tali meccanismi si identificano in una serie di processi essenzialmente a carico delle cellule nervose integre situate in aree topograficamente adiacenti all'area cerebrale lesa. La rigenerazione vera e propria degli assoni lesi è stata osservata solo sporadicamente, mentre un ruolo fondamentale è da attribuire alla neoformazione di connessioni sinaptiche (sinaptogenesi) per effetto di uno sprouting assonale (si verifica anche

durante il normale sviluppo), che tende ad occupare i siti rimasti vacanti [19]. Con lo sprouting i neuroni perilesionali sopravvissuti alla lesione iniziano ad emettere dei "germogli"; esso può essere: terminale, se avviene a livello della terminazione assonale, collaterale, se l'assone della cellula nervosa integra emette prima della sua terminazione un nuovo ramo collaterale dotato di sue proprie terminazioni sinaitiche. In tal modo si determina una sorta di espansione territoriale di innervazione dal neurone di origine grazie alla crescita di fibre nervose che raggiungono nuove terminazioni cellulari. Il risultato è la chiusura del circuito rimasto momentaneamente aperto.

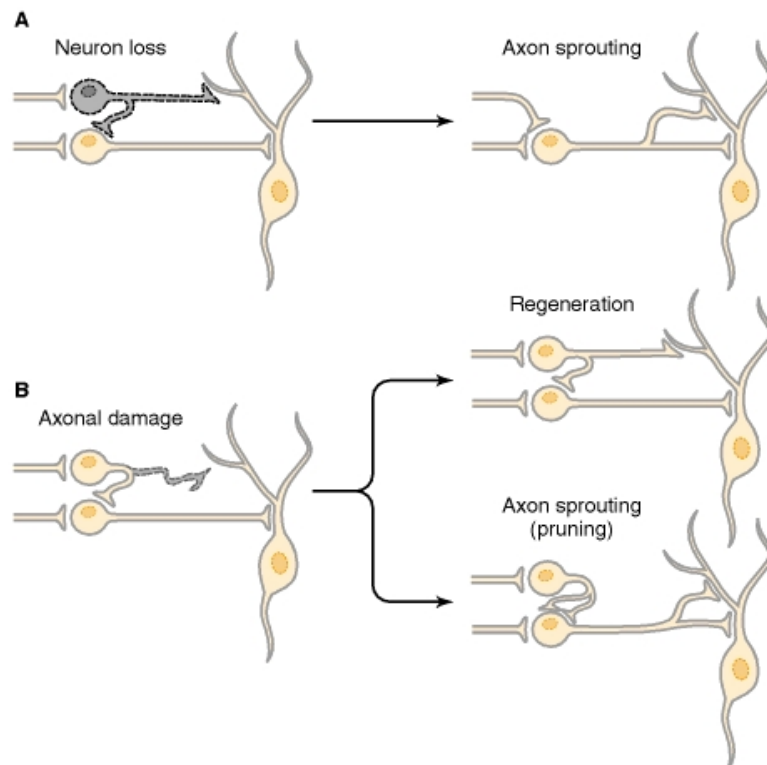


Figura 1.3 *Sprouting* assonale in seguito a degenerazione del neurone (A) o a danno dell'assone (B).

Nel corso di lesioni cerebrali circoscritte è dimostrata una riduzione funzionale acuta e reversibile determinata da una diminuzione del metabolismo energetico e della funzionalità di aree cerebrali distanti dall'area lesa, ma connesse ad essa. Tale fenomeno sarebbe dovuto ad un'improvvisa interruzione del flusso di segnali dalla zona lesa alle zone lontane e questa interruzione di afferenze produce, nelle aree che le ricevono, una temporanea situazione di shock, con conseguente ipometabolismo e ridotta funzionalità, denominata "diaschisi" (o "sindrome da disconnessione").

Quando sono danneggiate larghe aree della corteccia il tessuto sopravvissuto intorno al punto colpito può essere insufficiente a permettere una riorganizzazione somatotopica. In queste situazioni è più probabile che le rappresentazioni si "spostino" verso aree che sono strettamente legate funzionalmente (non per forza in prossimità fisiche vicine), proponendo l'esistenza di "meccanismi di processi paralleli" che si assumono la responsabilità delle funzioni delle aree danneggiate.

La riorganizzazione su larga scala del sistema di connessioni neuronali è stata osservata, ad esempio, in uno studio [20] che ha evidenziato come i pazienti avevano recuperato la funzionalità della mano, nonostante il danno cerebrale nelle aree di controllo del movimento, grazie all'attivazione di aree dei centri motori che normalmente davano istruzioni a parti del corpo diverse, in alcuni casi addirittura di aree al di fuori di quelle motorie, pure nell'emisfero danneggiato oltre che in quello sano. Ad esempio, in uno studio con indagini PET e fMRI, Romy-Brami [21] ha osservato che, in pazienti post-stroke, la riorganizzazione neuroplastica dinamica è biemisferica. L'uso della mano paretica porta al reclutamento di aree non attivate con i movimenti della mano non paretica. Queste aree inizialmente reclutate, possono persistere nel corso delle diverse sessioni, cioè anche per mesi soprattutto in caso di lesione della M1, per ogni livello di recupero funzionale. In alcuni pazienti il reclutamento tende a diminuire con il tempo, fino ad interessare solamente la SMC contro laterale. Tuttavia, il recupero funzionale non dipende dalla tipologia di plasticità, ovvero se essa determina solo un reclutamento o anche una successiva focalizzazione.

Nei primi giorni dopo un ictus si assiste ad un buon recupero dovuto a fattori come il riassorbimento dell'edema (che si verifica dopo quattro-sei ore e fino a quattro-sette giorni) e del tessuto necrotico, del sangue, e fattori dipendenti dalle condizioni di equilibrio metabolico dell'area perilesionale. Le modificazioni corticali che avvengono nelle prime ore sono troppo rapide per essere spiegate dalla formazione di nuove connessioni, piuttosto sono basate su preesistenti circuiti, sfruttando potenzialità fisiologiche come l'aumento di potenza sinaptica, per esempio da aumentata attività o da un meccanismo come la LTP (long term potentiation), o per l'attivazione di sinapsi presenti anatomicamente, ma non attivate [19]. I cambiamenti che si sviluppano più lentamente coinvolgono, invece, sinaptogenesi e sprouting assionali.

Il recupero della funzionalità motoria dipende dalla quantità di fibre intatte nel tratto corticospinale danneggiato: se sono rimaste in un numero insufficiente, la plasticità corticale rimarrà comunque inefficace [22].

A livello comportamentale, il recupero funzionale del paziente ictato può essere intrinseco e/o compensatorio.

Già nella prima fase seguente l'ictus, il recupero intrinseco si realizza inizialmente spontaneamente in assenza di un trattamento rieducativo, sfruttando i fenomeni neuroplastici di riorganizzazione funzionale e di riarrangiamento strutturale appena descritti. Rappresenta il primo step del recupero funzionale consentendo di realizzare il ripristino di modalità funzionali sovrapponibili a quelle premorbose, ma non è sufficiente e, se non adeguatamente indirizzato, può portare a modifiche del CNS nella direzione opposta a quella desiderata.

Le tecniche riabilitative basate sul concetto di apprendimento motorio (*motor learning*) (ovvero sul re-apprendimento motorio - *motor re-learning*), sfruttando proprio i fenomeni fisiologici del recupero intrinseco, educano il paziente a riottenere un controllo nervoso sugli arti paralizzati e all'adattamento ad uno specifico contesto ambientale al fine di permettere il ripristino di una funzionalità normale.

Al contrario, le tecniche di recupero compensatorio, mirando al recupero delle abilità compromesse consentendo autonomia al paziente nelle attività complesse della vita quotidiana (ADL), impongono l'apprendimento di strategie differenti da quelle normali, anche con l'uso di ausili ed ortesi; esempi sono l'imparare a scrivere con la mano

sinistra in un emiparetico destro, vestirsi con una sola mano, deambulare utilizzando schemi patologici o con l'utilizzo di ausili.

Anche se non è l'età ad influenzare di per sé il recupero funzionale, bensì le caratteristiche del danno neurologico, nei pazienti di età superiore ai 65 anni si osserva una prevalenza di recupero compensatorio, mentre si ha una maggiore probabilità di recupero intrinseco nei soggetti di età inferiore.

Esiste un'ampia documentazione sulla finestra temporale utile a promuovere il recupero funzionale intrinseco dopo ictus, che documenta come il deficit motorio selettivo subisca un'evoluzione favorevole che raggiunge un plateau, in media, entro i primi 3 mesi dall'evento. Alcune menomazioni, come la disfagia, hanno storia più breve, andando incontro, in media, a risoluzione spontanea, generalmente entro le prime 2-3 settimane dall'esordio. Superato questo termine, risultati funzionali significativi possono essere ottenuti sfruttando strategie compensatorie, piuttosto che "ristorative" di apprendimento motorio.

Per ottenere un immediato miglioramento funzionale, possono essere incoraggiati movimenti compensatori che, tuttavia, a lungo termine portano a risultati molto inferiori a quelli ottenibili recuperando i patterns motori normali. Studi di Nudo su umani [17] e su scimmie [23] dopo ictus hanno dimostrato che il recupero funzionale e la neuroplasticità dopo una lesione corticale dipendono dall'intensità della terapia senso-motoria e che l'uso di movimenti compensatori può incrementare la funzionalità motoria, anche se rimane povera e limitata rispetto al recupero di patterns motori normali.

Il compito della riabilitazione neurologica è quello di indirizzare il CNS verso un recupero delle funzioni che produca l'*outcome* desiderato, sfruttando, ottimizzando e potenziando i meccanismi fisiologici, come il recupero intrinseco neuroplastico.

1.5 Modalità di intervento riabilitativo per il recupero del cammino dopo ictus

Uno scopo fondamentale della riabilitazione dopo stroke è il recupero di una camminata sicura, più veloce e corretta. Tale obiettivo è importante soprattutto per i pazienti in fase cronica che spesso continuano a soffrire di limitazioni nelle loro attività quotidiane a causa di un'insicurezza nel loro cammino. La velocità del cammino è considerato un parametro significativo, sensibile e affidabile della gravità del deficit funzionale. In pazienti cronici con emiparesi dopo ictus, si misura una velocità del passo di circa 0.53 m/s, rispetto ad una velocità di circa 1.34 m/s di soggetti sani [24]. In più, mentre persone sane, anche se anziane, sono in grado di variare la propria velocità fino anche a correre, nei pazienti ictati è, generalmente, molto più limitata tale capacità di variazione della velocità.

In [25] si sono analizzati, tramite *gait analysis*, i parametri cinematici e dinamici che rappresentano alterazioni del comportamento biomeccanico associati al cambiamento di velocità del cammino, da naturale a veloce. Infatti la velocità può essere incrementata aumentando la stride length e/o la cadenza, in ogni caso sempre in associazione a cambiamenti nel lavoro meccanico prodotto alle articolazioni prossimali

e/o distali, che possono essere differenti da quelli messi in atto da soggetti sani. Tutti i soggetti emiparetici coinvolti nello studio hanno mostrato, nel cammino a velocità libera, una cadenza superiore e una stride length inferiore rispetto a quelli di controllo a pari velocità, con una differenza tanto minore quanto più la velocità del cammino libero si avvicinava a quella non patologica. Allo stesso modo la potenza prodotta dai muscoli plantar-flessori della caviglia è ridotta notevolmente. Nel cammino veloce, invece, mentre la cadenza e la stride length si sono mostrate essere in linea con valori non patologici, il lavoro prodotto dalla caviglia si è rivelato essere ancora inferiore a valori di normalità. Al contrario del lavoro compiuto dalla caviglia, quello espresso dall'anca è rientrato in un range di valori normali nel caso di camminata libera, mentre è incrementato spropositatamente con l'aumentare della velocità. Ciò indica che, per incrementare la velocità, la maggior parte dei pazienti ha adottato strategie differenti da quelle di soggetti sani: il limite nella capacità di esprimere potenza alla caviglia è stato sopperito con un anormale aumento del lavoro da parte dell'anca che rappresenta, quindi, un importante risorsa per controllare e modulare la velocità in pazienti emiparetici. Negli emiparetici si è anche osservata una difficoltà nel modulare correttamente la potenza alla caviglia alle diverse velocità; infatti, se nella camminata libera il timing del picco di potenza alla caviglia è all'interno di un range di valori non patologici, all'aumentare della velocità più della metà mostra un avanzamento nel tempo dell'onset maggiore del normale, mentre per il 10% è scarso.

Nel corso degli anni si sono sviluppate nell'ambito della riabilitazione neurologica diverse proposte di trattamenti volte al recupero motorio dell'arto inferiore. La dimensione del problema del ripristino delle funzionalità di deambulazione in pazienti che hanno subito un ictus giustifica questa attenzione particolare, considerando il fatto che circa il 35% dei pazienti ictati non recupera un uso funzionale corretto dell'arto inferiore ed il 20-25% è incapace di camminare senza aiuto. Non esiste, però, un protocollo riabilitativo ben definito volto al raggiungimento di tale scopo e per tale motivo risulta sempre difficile individuare, da parte del terapeuta, il trattamento fisico ottimale da applicare al fine di migliorare la performance. Tale problema è difficilmente risolvibile, principalmente perché non esiste un "standard stroke pattern" della performance motoria di un emiparetico post-ictus. Tale pazienti sono, dal punto di vista delle capacità motorie residue, funzionalmente differenti, per cui il trattamento riabilitativo deve essere individualizzato.

Come precedentemente descritto, la riabilitazione in fase acuta tende a focalizzare l'attenzione sul recupero precoce del controllo posturale, del cammino e della mobilità generale. Recentemente si sta ponendo sempre più attenzione agli studi sulla riorganizzazione corticale post-lesionale che indicano come necessario un addestramento motorio ripetitivo e intensivo dell'arto paretico.

Nella prospettiva di rendere praticabile un motor re-learning fin dalla fase subacuta, anche in soggetti con grave deficit di controllo del movimento, sono pertanto state messe a punto soluzioni diverse, la cui eterogeneità riflette l'incompleta definizione dei meccanismi alla base della neuroplasticità post-lesionale e le cui reali efficacie sono ancora da definire in modo assoluto. Nel corso dei decenni le proposte di trattamenti riabilitativi dedicati al recupero post-ictus si sono moltiplicate. Generalmente, la riabilitazione neurologica ha visto il succedersi di tecniche ispirate a presupposti teorici differenti. Il primo modello di rieducazione proposto è stato quello "ortopedico", basato sull'allenamento muscolare; recentemente si è enfatizzato il ruolo del rinforzo

muscolare isolato e dell'esercizio aerobico e si è proposto l'esercizio terapeutico in acqua, come generatore di apprendimenti stabili ed efficaci, caratterizzati da un livello di complessità superiore agli adattamenti spontanei generabili in ambiente gravitazionale. Negli anni '50-'60 si è passati alle proposte di Rood e Kabat che, basandosi sui principi neurofisiologici della facilitazione neuromuscolare, applicavano tecniche mirate a stimolare e rinforzare il movimento volontario. Nel 1969 i coniugi Bobath presentarono un intervento riabilitativo che presupponeva la conoscenza dei meccanismi riflessi delle risposte posturali e della loro evoluzione biologica, ottenendo un successo riconosciuto nella gestione dell'emiparesi spastica conseguente ad ictus, ma recentemente messo in discussione. È nel 1982 che viene introdotta una tecnica di apprendimento motorio chiamata "*task-oriented*", ispirata ad una teoria di controllo centrale del movimento secondo la quale tutti i sistemi senso-motori cooperano per raggiungere uno specifico compito e ciò è vincolante ai fini del recupero motorio. L'accumularsi di evidenze in merito ai fenomeni di neuroplasticità nel cervello adulto lesa e alla rilevanza delle afferenze sensoriali nel promuovere la riorganizzazione di aree corticali ha quindi prodotto la proposta di protocolli terapeutici basati su varie tecniche. La riabilitazione "*task-oriented*" rappresenta, ora, la forma principale di trattamento manuale, con rapporto 1-1 tra paziente e terapista. Consiste nell'eseguire ripetitivamente *task* funzionalmente associati con il movimento da re-apprendere, piuttosto che nel tentativo di correggere specifiche limitazioni o componenti del gesto complessivo. In [26] si rileva che tali trattamenti riabilitativi portano ad un incremento della velocità del passo di circa 0.04-0.20 m/s, statisticamente significativo, ma non capace di riportare la velocità a valori non patologici.

Principalmente volti al recupero della funzionalità dell'arto superiore paretico, alcuni approcci focalizzano la strategia terapeutica sull'attivazione intensiva dell'arto paretico, contemporaneamente alla restrizione dell'arto sano, chiamata "constraint-induced movement therapy and forced use" (CIM), ipotizzando che l'uso preferenziale dell'arto sano in modalità compensatoria possa inibire i processi di riorganizzazione corticale deputati al recupero dell'arto paretico. Altri, invece, promuovono lo sviluppo di tecniche intese a favorire l'addestramento dell'arto paretico mediante la ripetizione bilaterale di atti motori, sostenendo che sia la pianificazione quanto l'esecuzione di movimenti bilaterali realizzino un impatto favorevole sui processi di plasticità corticale, ovvero sul recupero implicito.

Per promuovere il recupero intrinseco, gli approcci terapeutici adottano anche strategie di integrazione sensori motoria, in quanto alcuni studi hanno associato il potenziamento della stimolazione afferente con ampliamento della rappresentazione corticale dell'arto paretico, correlabile a fenomeni di neuro plasticità. Tali approcci prevedono l'utilizzo di feedback elettromiografico, stimolazione elettrica funzionale e stimolazione neuromuscolare indotta dalla registrazione elettromiografica. L'elettrostimolazione si basa essenzialmente su tecniche di stimolazione elettrica funzionale (functional electric stimulation - FES), che produce contrazione muscolare in maniera programmabile, al fine di promuovere il recupero, ridurre la spasticità o favorire l'allineamento dei capi articolari, e di stimolazione elettrica transcutanea (transcutaneous electric stimulation - TENS), o elettroanalgesia, che stimola a bassa intensità ed elevata frequenza i nervi cutanei, al fine di determinare interferenza con le afferenze nocicettive, senza produrre contrazione muscolare. Esiste infine una forma intermedia di TENS ad alta intensità, che associa teoricamente i benefici delle due predette tecniche. I [26] risultati migliori, nell'applicazione della FES al recupero del

cammino, si sono osservati in pazienti in fase sub-acuta, piuttosto che in quelli in fase cronica. Le linee guida AHA raccomandano di utilizzare la FES solo in un intervallo limitato di tempo dopo l'ictus, sottolineando l'insufficienza di evidenza dei benefici effetti della FES: al contrario, linee guida olandesi e canadesi, supportano un utilizzo più esteso della FES. Diversi studi mostrano che la velocità del cammino è aumentata, in seguito a trattamento con FES, solo per pazienti in fase sub-acuta con disabilità iniziale grave; minimi effetti si sono riscontrati, in ogni caso, applicando la TENS.

Studi della seconda metà del secolo scorso suggerivano la possibilità di un miglioramento della performance motoria in seguito all'esecuzione mentale del compito. Approcci proposti inizialmente a soggetti sportivi ed in psicologia, sono stati, dopo diversi anni, adattati ai pazienti con lesioni del sistema nervoso in virtù della dimostrazione sperimentale che l'immaginazione del movimento determina un'attivazione delle stesse aree corticali motorie coinvolte nell'esecuzione del movimento. Esiste una certa evidenza che la tecnica del motor imagery (immaginazione motoria), o "mental practice" (pratica mentale), sia efficace sul recupero dopo ictus, come terapia addizionale a quella convenzionale. In [26] si riportano studi riguardanti terapie di motor imagery practice compiute da casa per il recupero del cammino: i risultati mostrano un incremento di circa 0.15m/s nella velocità.

Tra gli approcci più innovativi in riabilitazione neurologica emerge la realtà virtuale, che talvolta integra o si combina con la mental practice. La scoperta del sistema dei "mirror neurons", i quali si attivano sia durante l'esecuzione che durante l'osservazione di un movimento, ha rappresentato la base neurofisiologica per l'introduzione del concetto di osservazione del gesto come terapia. Generalmente i pazienti vengono posti di fronte allo schermo di un PC o indossano occhiali modificati con i quali osservano movimenti di varia complessità.

Già in fase acuta è possibile dare avvio ad un programma di addestramento della deambulazione, ma solo nel caso in cui il paziente manifesti un adeguato controllo del tronco e posturale, di una sufficiente capacità aerobica e la capacità di supportare il peso del corpo durante la realizzazione del passo. Per ovviare a tali vincoli, che possono privare il paziente di una fase cruciale del percorso riabilitativo, è stata proposta una rieducazione su treadmill associata all'utilizzo di un dispositivo di sospensione parziale e scarico del peso corporeo. Si è osservato come i soggetti capaci di deambulazione autonoma sembrano ottenere maggior beneficio in termini di velocità del cammino mediante il training su treadmill con il supporto del peso, benché il vantaggio non sia molto significativo. Per ottenere i benefici maggiori dall'esercizio con treadmill, questo deve essere impostato ad una velocità maggiore di quella adottata nel cammino libero su terreno; in ogni caso, maggiore è la velocità, maggiori sono i risultati terapeutici osservati. Si riporta la superiorità del training su treadmill associato ad esercizi *task-oriented* (overground walking o programma di allenamento aerobico) rispetto ad un allenamento aspecifico di bassa intensità.

Nell'ultimo decennio, infine, è nato un crescente interesse verso la creazione ed il controllo di apparecchi robotici per la riabilitazione seguente il danno neurologico. Le terapie fisiche tradizionali possono migliorare il recupero funzionale post-stroke, ma sono costose, richiedono molta forza lavoro e devono essere durature. Per questo, l'utilizzo dei robot è benefico, in quanto richiede una forza lavoro minore, permette una terapia più duratura, più intensa, rende possibile una valutazione oggettiva e quantitativa della disabilità del paziente e della sua evoluzione ed è in grado di fornire

stimoli multisensoriali anche modificati. Un dispositivo robotico può essere considerato come un'estensione della virtual-reality in quanto, oltre a permettere tutti i vantaggi da essa offerti, è caratterizzato da un'interazione di forza con il paziente guidandolo nel movimento e fornendogli feedback propriocettivi. Due robots disponibili in commercio sono il Lokomat Driven Gait Orthosis e il Mechanized Gait Trainer [27]. Ad esempio, per quanto riguarda il Lokomat [28], si sono riportati benefici nel recupero della deambulazione per pazienti in fase cronica, ma risultati migliori si sono ottenuti applicando il robot a pazienti in fase sub-acuta.

1.5.1 Utilizzo del *biofeedback* per il recupero del cammino dopo ictus

Le tecniche di *biofeedback* (BFB), in generale, consistono nel fornire ad un soggetto, tramite un'apposita apparecchiatura elettronica per l'amplificazione di segnali bioelettrici, un'informazione sensorialmente percettibile, continua ed immediata sull'andamento di una sua funzione fisiologica, con lo scopo di operare una modificazione della funzione stessa. Le tecniche storicamente più utilizzate in medicina sono il BFB elettroencefalogramma (BFB EEG), il BFB della temperatura cutanea (Thermal BFB), della pressione (Pulse Wave Velocity BFB) e del ritmo cardiaco (Heart Rate BFB), dell'attività elettrodermica (GSR) e soprattutto il BFB elettromiografico (BFB EMG). Il BFB EMG, utilizzato nelle lesioni nervose sia centrali che periferiche, ha come obiettivo primario l'acquisizione del controllo volontario della muscolatura striata attraverso l'utilizzo di apparecchiature elettromiografiche che forniscono al paziente informazioni di facile comprensione sullo stato di tensione muscolare. Sono stati introdotti altri dispositivi di BFB nella rieducazione delle neuro lesioni, ad esempio: apparecchiature di BFB goniometrico-posizionale, che monitorano gli angoli articolari nell'attivazione motoria; BFB di pressione-forza, costituite o da semplici sensori di carico da posizionare in uno o più punti della pianta del piede, o più complesse piattaforme di forza in grado di rilevare le reazioni vincolari del terreno.

In campo fisiatrico il BFB è stato impiegato per fornire, sotto forma di segnali acustici o visivi, l'entità di una contrazione muscolare e/o della relativa forza, la posizione di una articolazione, la direzione in cui si sta muovendo, la correttezza del risultato ottenuto rispetto ad un compito prefissato, selezionando, amplificando e semplificando l'informazione di ritorno in modo da facilitare l'acquisizione e il consolidamento di un migliore comportamento motorio-funzionale del soggetto disabile.

Pazienti icati tipicamente necessitano di re-apprendere ad eseguire attività motorie. L'apprendimento richiede la pratica, ed il *feedback* è essenziale al fine di rendere tale pratica efficiente. Il *feedback* è normalmente presente nei programmi di recupero da *stroke*, ma non è ancora pienamente compreso quale sia il metodo migliore per implementarlo. Durante le terapie, i pazienti ricevono un *feedback* biologico intrinseco attraverso i sistemi sensoriali, ed il terapeuta normalmente fornisce un *feedback* estrinseco che può riguardare sia informazioni circa il risultato dell'azione motoria (cioè informazioni riguardo l'accuratezza del movimento, o la sua precisione), sia informazioni riguardo la performance (cioè indicazioni sul modo con cui si è prodotto il movimento). Il *biofeedback* può essere fornito tramite tecnologie in grado di sfruttare diversi sensi. come quello visivo, uditivo e tattile, e può riportare informazioni circa la cinematica, la dinamica, o l'attività elettromiografia (EMG). Il principale vantaggio dell'utilizzo di BFB, rispetto a quello fornito dal terapeuta, è che può essere garantito in

modo continuo e con un'accuratezza e precisioni maggiori, fondamentali per migliorare l'*outcome* terapeutico. In più, si è osservato che durante una terapia manuale, il contenuto di *feedback* trasmesso dal terapeuta al paziente è principalmente di natura motivazionale, più che informativa. Mentre è dimostrato come sia importante che il contenuto del *feedback* riguardi, più che spinte motivazionali, indicazioni specifiche sulle strategie da adottare per migliorare l'esercizio nelle future ripetizioni. Inoltre, gli strumenti di BFB permettono di fornire al medico e al fisioterapista informazioni utili e spesso indispensabili al fine di effettuare una attenta valutazione su specifiche componenti del comportamento motorio e conseguentemente permette di realizzare specifici programmi terapeutici, selezionare esercizi utili e condurli in modo tale da averne la massima efficacia.

Fondamentale per l'utilizzo del BFB è il possedere da parte del paziente alcuni requisiti, quali la possibilità di utilizzare canali afferenziali integri, essere in grado di decodificare i segnali, oltre che una buona collaborazione e una adeguata motivazione a superare i propri disturbi.

L'utilizzo del BFB nella riabilitazione dopo ictus è noto da decenni, utilizzato per la prima volta nel 1975 da Basmajian et al. [29]. La tecnica del *biofeedback* (BFB) è stata usata estensivamente in varie aree della riabilitazione e numerosi studi hanno utilizzato il BFB, ottenendo risultati incoraggianti per quanto riguarda il miglioramento di diversi aspetti del cammino in pazienti cronici post ictus [30-31].

Tuttavia, non è comunemente utilizzato nonostante il suo costo relativamente basso; perché sia implementato estesamente nella pratica clinica, devono essere chiaramente determinati i suoi effetti come forma di *augmented feedback* per rafforzare l'apprendimento di motor skill.

Una recente systematic review [32] ha concluso che è possibile affermare che il BFB ha un effetto moderatamente migliore nel favorire attività degli arti inferiori (come l'alzarsi in piedi o il mantenere la posizione eretta ed il cammino) rispetto alle terapie manuale usuali e/o terapie placebo. Tali benefici sono evidenti soprattutto nel breve periodo, mentre nel lungo sembrano diminuire. La caratteristica di oggettività, continuità e contemporaneità con l'azione del BFB permette, in soggetti sani, di migliorare la loro performance, ma sfavorisce l'apprendimento. Questa review, invece, osserva che in tutti gli studi analizzati tale tipologia di *biofeedback* ha permesso, in pazienti post-ictus, non solo il miglioramento della performance, ma soprattutto l'apprendimento, in quanto i movimenti degli arti inferiori sono risultati essere permanentemente migliorati.

In soggetti sani, la flessione plantare della caviglia produce circa l'80% del totale dell'energia necessaria durante il passo. [33] e tale lavoro è principalmente usato per permettere il movimento avanzante durante il cammino, per questo ha un ruolo fondamentale nel determinare la velocità del passo. Pazienti con emiparesi tendono ad avere una riduzione della potenza della caviglia nella fase di push-off e una riduzione della velocità del cammino [34].

In [35] si è osservato come lo stesso protocollo riabilitativo con EMG-BFB adottato poi anche per i soggetti considerati in questa Tesi sia stato in grado di aumentare la produzione di potenza dei flessori plantari. L'aumento del picco di potenza prodotta è stato accompagnato con un importante aumento della velocità del cammino, della lunghezza e della frequenza del passo. Tale risultato è in linea con quanto esposto da Colborne et col. [30] che nei loro esperimenti hanno verificato un aumento dell'impulso di push-off contemporaneo a modifiche della velocità del passo e della

stride length. Si è inoltre osservato che l'istante in cui si manifesta il picco di potenza di push-off si ritarda nel tempo con il trattamento, mentre il picco di potenza si anticipa relativamente all'heel-strike dell'arto non paretico, indicando che gran parte della potenza prodotta dai flessori plantari può essere stata effettivamente utilizzata per l'avanzamento del corpo, determinando una camminata più veloce e un'ampiezza del passo maggiore.

Lo scopo diretto del BFB utilizzato è quello di aumentare la potenza di push-off, ma i cambiamenti nella lunghezza del passo del lato paretico (che, come detto, avvengono parallelamente) indicano un più generico beneficio determinato dal trattamento con BFB. Ciò può essere dovuto ad un miglioramento globale dell'equilibrio e della forza.

Il *feedback* fornito continuamente durante il cammino normale (prima fase del protocollo riabilitativo) può aver rafforzato il pattern spazio-temporale fondamentale per il cammino. Il *feedback* proposto, invece, in condizioni ambientali variabili (differente superficie e richiesta di determinate velocità e lunghezza del passo) tipiche delle fasi più avanzate del protocollo, può essere stato allenante per i processi responsabili della capacità di modulare le proprie azioni per rispondere in maniera idonea ai mutamenti del mondo esterno.

È su queste evidenze che si basa lo studio presentato con questa Tesi.

2. ANALISI DEL MOVIMENTO

Questo capitolo è dedicato ad una trattazione introduttiva all'analisi del movimento [36]. In particolare si presentano le tecnologie adoperate per l'esecuzione di una *gait analysis*, esponendo con maggior dettaglio la strumentazione impiegata in stereofotogrammetria optoelettronica e le metodologie di analisi dei segnali derivanti da essa. Infine, si confrontano i principali protocolli di *gait analysis* proposti in letteratura.

2.1 Introduzione

La capacità di movimento si è rivelata essenziale per l'evoluzione dell'essere umano, non meno importate dello sviluppo delle capacità intellettuali ed emotive. Il movimento è uno degli aspetti cruciali della vita, senza il movimento non ci si può cibare, non ci si può riprodurre, non si può sopravvivere.

Lo studio del processo di movimento e del suo controllo tramite l'uso di metodi scientifici, necessita di individuare quali siano le informazioni di interesse. Ci sono, quindi, vari modi di considerare il fenomeno, ovvero differenti livelli di astrazione nell'analisi del movimento. Si può analizzare come le singole cellule si comportano ed evolvono dal punto di vista fisiologico e/o metabolico, o come gruppi di cellule, ad esempio muscoli, nervi, o strutture più o meno complesse si comportano nella loro funzione più globale. In questo contesto, l'attenzione è posta sulla natura biomeccanica delle interazioni fra segmenti corporei durante il movimento, osservando "dall'esterno" il movimento realizzato, per scoparne i *pattern* caratteristici di determinate azioni, di particolari gruppi di soggetti, in diverse condizioni ambientali.

L'analisi del movimento umano qui considerata, quindi, ha lo scopo di raccogliere informazioni oggettive e quantitative relative alla cinematica, alla cinetica e alla meccanica del sistema muscolo-scheletrico durante l'esecuzione di un atto motorio. L'informazione che si ricava riguarda il movimento assoluto del centro di massa del corpo, il movimento assoluto dei segmenti ossei, il movimento relativo tra ossa adiacenti (cinematica articolare), le forze e le coppie scambiate con l'ambiente, i carichi trasmessi attraverso le articolazioni, le variazioni di energia, il lavoro e la potenza muscolari (cinetica). Le grandezze che forniscono queste informazioni possono essere misurate o stimate mediante modelli matematici morfo-funzionali dei tessuti, degli apparati o dei sistemi coinvolti nell'analisi.

Le variabili cinematiche (posizione, velocità, accelerazione del corpo nello spazio) sono ottenute mediante i sistemi di analisi del movimento (o di *motion capture*), mentre le variabili dinamiche (forze e momenti che generano il movimento) si ottengono indirettamente tramite la misura delle forze esterne agenti sul soggetto. Oltre a queste variabili, possono essere acquisiti segnali elettromiografici (EMG) relativi all'attivazione dei muscoli coinvolti nel movimento, elettrocardiografici (ECG), di pressione arteriosa, flussi respiratori e quant'altro possa essere correlato con l'atto motorio.

È così possibile ottenere descrizioni quantitative delle funzioni che coinvolgono l'apparato locomotore sia in condizioni normali che patologiche. L'obiettivo primario dunque è quello di descrivere il movimento umano attraverso precise regole matematiche, al fine di capirne i meccanismi sui quali è fondato e di usare queste conoscenze per migliorare la qualità della vita dell'uomo.

L'analisi del movimento umano e della postura costituiscono una branca dell'ingegneria biomedica in forte espansione, di grande interesse soprattutto dal punto di vista clinico, in quanto permette di studiare l'interazione di tre principali sistemi fisiologici: il sistema nervoso, il sistema muscolo-scheletrico ed il sistema sensoriale. La valutazione delle caratteristiche del movimento, individuate tramite metodologie ad-hoc relative alla patologia, fornisce al clinico informazioni quantitative fondamentali per la valutazione delle limitazioni funzionali, per pianificare e controllare l'effetto di specifici trattamenti riabilitativi ed anche per prevenire l'insorgenza di patologie o disturbi secondari associati ad esse.

Oltre all'applicazione clinica, l'analisi del movimento è estesamente applicata in ambito sportivo, per valutare la performance, programmare un training ottimale, migliorare il design degli attrezzature, e in cinematografia, per sviluppare animazioni.

Il più nobile e benefico fine dello studio del movimento è quindi la sua applicazione in campo clinico, ad esempio, per permettere di capire come un danno neurologico, come un ictus, influisce sulla capacità di movimento, per poter poi progettare una struttura riabilitativa ad - hoc che sia efficiente, efficace, mirata e non dispersiva e che si adatti al livello di danno del paziente.

2.2 Sistemi di analisi del movimento

Lo studio del movimento umano prevede la misura di variabili che descrivono al cinematica e la dinamica dei segmenti anatomici. Per la misura delle grandezze cinematiche sono disponibili sistemi commerciali caratterizzati da tecnologie eterogenee e differenti gradi di invasività.

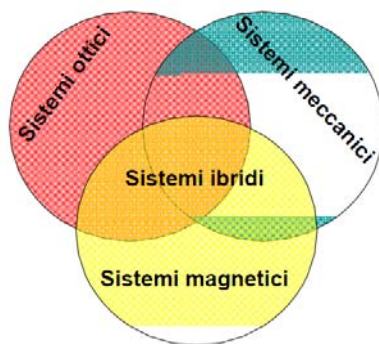


Figura 2.1 Tipologie di sistemi di *Motion Capture* (MoCap).

In particolare, i sistemi di motion capture (MoCap) si possono classificare in cinque classi:

- sistemi meccanici, ai quali appartengono: gli elettrogoniometri, che sono sensori in grado di misurare l'angolo tra i due segmenti ai quali sono applicati; i sensori inerziali, costituiti dagli accelerometri, che misurano l'accelerazione del corpo, e dai giroscopi, che forniscono in maniera affidabile un riferimento per una direzione prestabilita; le fibre ottiche, che in base alla loro curvatura flessibile rilevano l'orientazione e lo spostamento

dei segmenti. I principali vantaggi dei sistemi meccanici sono la loro portabilità, versatilità, applicabilità in contesti e situazioni ambientali molto diverse tra loro, la loro facilità di utilizzo, la loro robustezza ed il loro basso costo (i sistemi a fibra ottica, invece, sono costosi e vengono utilizzati quasi esclusivamente in campo cinematografico). Questi sistemi, però, sono caratterizzati da una scarsa accuratezza, che rappresenta il più importante vincolo alla loro applicabilità. Possono, inoltre, risultare ingombranti (anche se le tecnologie MEMS e wireless hanno posto parzialmente rimedio), riducendo la naturalità del movimento analizzato.

- sistemi elettromagnetici: forniscono misure dirette della cinematica sfruttando un generatore esterno di campo magnetico ed una serie di sensori elettromagnetici che, posizionati sulla superficie di segmenti anatomici, misurano l'intensità e l'orientamento del campo magnetico, permettendo il calcolo dei 6 gradi di libertà (tre rotazione e un vettore di traslazione) che ne descrivono posizione e orientamento. Il principale vantaggio del loro utilizzo risiede nel fatto che tali sistemi presentano un'accuratezza costante, a differenza dei sistemi meccanici per i quali l'accuratezza diminuisce con il tempo di acquisizione, e dei sistemi ottici in cui *marker* possono non sempre essere visibili. Tuttavia, l'elevata sensibilità all'accuratezza della localizzazione 3D a interferenze di oggetti ferromagnetici nell'ambiente, rende tali sistemi poco adatti e affidabili. Sono utilizzabili sono in laboratorio per il tracking di corpi piccoli in ambienti controllati di volume ridotto.

- sistemi ibridi: integrano set di accelerometri e giroscopi con un sistema magnetico portatile che sfrutta il campo magnetico terrestre; potenzialmente possono integrare i vantaggi dei diversi approcci con un costo contenuto, tuttavia il loro utilizzo è ancora in fase di validazione.

- sistemi basati su sensori acustici: costituiti da ricevitori di onde acustiche solidali con il laboratorio e sorgenti poste sul soggetto, forniscono una stima indiretta delle variabili cinematiche: data la velocità nota del suono nell'aria, il sistema è in grado di localizzare con sufficiente accuratezza la posizione di ciascuna sorgente posta sul segmento anatomico. Tuttavia, problemi di interferenza, incostanza della velocità del suono in aria ed eco difficilmente eliminabili, rendono tali sistemi poco impiegabili.

- sistemi ottici: possono essere:

- sistemi cinematografici 2D, costituiti da telecamere commerciali che permettono una visione stroboscopica attraverso la concatenazione di fotogrammi mediante il *matching* dello sfondo. La scala dimensionale è definita su un oggetto di dimensioni note posto nel piano del movimento. Si possono analizzare qualitativamente le traiettorie di *marker* virtuali individuati nell'immagine, calcolando gli angoli tra segmenti e stimando velocità lineari ed angolari.

Sono disponibili anche sistemi cinematografici 3D basati sullo stesso principio della cinematografia 2D, ma le coordinate sono ricavate nelle tre dimensioni grazie alla triangolazione di telecamere commerciali non allineate nello spazio.

Entrambi hanno il vantaggio di consentire una rilevazione non invasiva e non limitata al laboratorio, ma su campo. Rispetto ai sistemi optoelettronici, però, hanno un'accuratezza minore ed una frequenza di acquisizione limitata.

- sistemi optoelettronici: costituiti da illuminatori infrarossi coassiali con telecamere IR che rilevano le onde riflesse da *marker* posti sul soggetto all'interno del volume illuminato. Sono attualmente i sistemi più utilizzati in laboratorio, che permettono accuratissime e frequenze di acquisizione più elevate. Questa tipologia di sistema è stata utilizzata in questa Tesi, per questo nel prossimo paragrafo sarà descritta con più dettaglio.

2.3 Stereofotogrammetria optoelettronica

I sistemi di stereofotogrammetria optoelettronica permettono l'acquisizione di caratteristiche cinematiche del movimento in modo non invasivo. Un sistema optoelettronico multi-camera per la stima del movimento umano prevede l'utilizzo di telecamere, marcatori (passivo o attivi), illuminatori (se si utilizzano marcatori passivi) e un software di elaborazione. Sono i sistemi di analisi del movimento che permettono accuratissime misurazioni e frequenze di acquisizione più elevate. Tuttavia, non forniscono una misura diretta delle variabili cinematiche, ma una stima. Sfruttano caratteristiche geometriche (punti, linee, aree) localizzate sulla superficie corporea del soggetto e le immagini acquisite da più telecamere sono ricostruite tridimensionalmente.

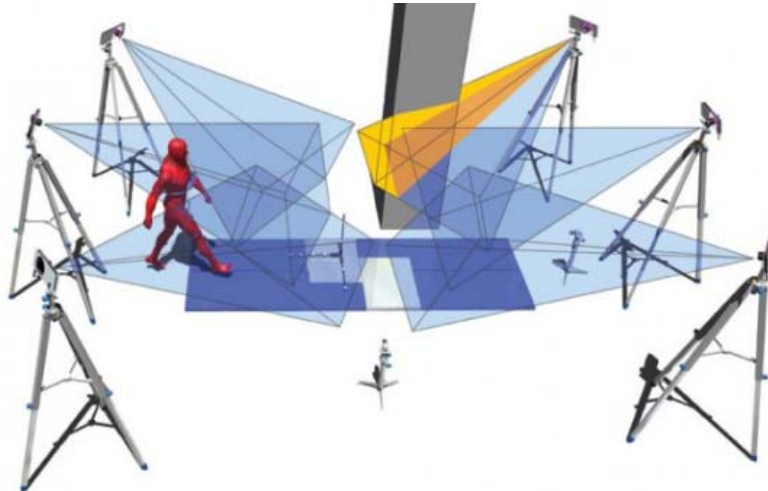


Figura 2.2 Rappresentazione schematica di un laboratorio di *gait analysis* impiegante un sistema di stereofotogrammetria optoelettronica.

2.3.1 Marker

I *marker* utilizzati in stereofotogrammetria possono essere attivi o passivi. Tale scelta implica una specifica architettura del sistema e procedure di elaborazione dati dedicate. I marcatori passivi sono costituiti da supporti in materiale plastico ricoperti da una pellicola catarifrangente, che riflette luce nell'intorno di lunghezze d'onda specifiche (780-820nm) emesse da un dispositivo di illuminazione dedicato. Tali emettitori sono coassiali alle telecamere che, dotate di opportuni filtri ottici, sono in grado di riconoscere immediatamente i *marker* rispetto alla scena. Questi marcatori sono di forma sferica, miglior geometria possibile per la riflessione.



Figura 2.3 Marker di tipo passivo.

I marcatori attivi, costituiti da LED (*light-emitting diodes*), generano autonomamente il segnale luminoso e quindi hanno il vantaggio di non richiedere la presenza del dispositivo di illuminazione esterno. Inoltre non è necessario il complesso sistema di elaborazione per riconoscere e tracciare i *marker* necessario nel caso in cui si impieghino marcatori passivi, in quanto quelli attivi sono facilmente rilevabili una volta automatizzato il sistema di controllo della temporizzazione dei segnali emessi dei LED. Tuttavia i *marker* attivi

necessitano di alimentazione e sincronizzazione via cavo che ne limita l'applicabilità. In più essi presentano angoli di emissione inferiori agli angoli di riflessione dei marcatori passivi, rendendo difficoltoso il *setup* delle telecamere per movimenti complessi.

2.3.2 Telecamere

La soluzione tecnologica più diffusa per la stima del movimento umano è costituita dai sistemi optoelettronici che utilizzano telecamere operanti nella gamma del visibile o del vicino infrarosso. Le videocamere utilizzate sono dotate di dispositivi per la rilevazione del segnale luminoso e la trasduzione in segnale elettrico, quali i sensori CCD (*charge coupled device*), CMOS (*complementary metal oxide semiconductor*) o diodi ad effetto foto-laterale. Nei sensori CCD, costituiti da *array* lineari o matrici di pixel, la carica di ciascun pixel è trasferita attraverso un numero limitato (spesso uno) di nodi di uscita verso l'esterno del chip in forma analogica. Normalmente tutta l'area del sensore può essere destinata alla cattura della luce e in questo caso *filling factor* (fattore determinante per la qualità dell'immagine risultante) è elevato, caratteristica necessaria per rendere il CCD impiegabile in sistemi di analisi del movimento. Il sensore CCD è, in particolare, indirizzabile, poiché ogni elemento sensibile della matrice di acquisizione corrisponde ad una coppia di numeri che rappresentano le coordinate rispetto al sistema di riferimento bidimensionale del piano immagine. Le relazioni spaziali tra pixel sono trasformate in relazioni temporali; ciò è possibile grazie al fatto che la procedura di scansione del CCD è tale da ottenere un segnale estratto in forma monodimensionale ordinata. Per ricostruire l'immagine acquisita, il segnale, che spesso è convertito in forma digitale dalla telecamera, deve essere decodificato. Fin dal 1980 i sensori CCD sono stati i sensori a stato-solido dominanti.

Nei sensori CMOS ogni pixel possiede il proprio sistema di conversione della carica in tensione e spesso è associato ad un circuito di digitalizzazione per fornire in uscita un segnale digitale. Tali funzionalità aggiuntive, se da un lato permettono di limitare la richiesta di circuiteria esterna per le operazioni di base, hanno l'effetto svantaggioso di ridurre l'area sensibile totale per la cattura della luce e dunque *filling factor* risulta essere inferiore.

Ad oggi i sensori CMOS sono quelli utilizzati nei sistemi automatici di acquisizione del movimento umano. Grazie al recente incremento del fattore di integrazione dei circuiti su wafer di silicio, i CMOS sono diventati commercialmente convenienti e di prestazioni paragonabili ai CCD.



Figura 2.4 Telecamera (ed emettitore) infrarosso con sensore CCD del sistema BTS SMART. [54]

2.3.3 Rilevazione dei *marker*

In un sistema optoelettronico multi-telecamera per la stima del movimento umano a marcatori passivi, lo stadio iniziale dell'elaborazione del segnale acquisito consiste nella rilevazione dei *marker*, che può essere effettuata tramite:

- *soglia*: prevede che l'istogramma (ottenuto filtrando l'immagine acquisita da possibili gradienti di illuminazione, per migliorare l'accuratezza dell'algoritmo) definendo una soglia ottima che distingua se ogni pixel dell'immagine appartiene al *marker* o allo sfondo. Il problema è affrontato mediante un test statistico delle ipotesi, approssimando l'istogramma delle intensità di grigio con due gaussiane. Il valore di soglia ottimo è poi determinato minimizzando l'errore di I° e II° tipo. Il centro del *marker* è poi stimato calcolando il baricentro dei pixel sopra soglia o, in caso di buone condizioni di visibilità, utilizzando il "*circle fitting*".
- *blob analysis*: sulla base delle conoscenze a priori riguardanti la forma e la dimensione dei *marker* e calcolando il baricentro, la forma e le dimensioni reali, tale approccio estrae dall'immagine le caratteristiche dei *marker* di interesse, eliminando le false misure dovute soprattutto ai riflessi.
- *cross-correlazione*: è una metodologia alternativa per il calcolo del baricentro dei marcatori, che mappa la forma attesa del *marker*, tramite maschera bidimensionale, con l'effettiva caratteristica sull'immagine ottenuta calcolando il grado di correlazione tra le due.

L'accuratezza della rilevazione, di fondamentale importanza per l'ottenimento di dati validi come uscita dal sistema di acquisizione, è funzione della risoluzione spaziale con cui viene visto un *marker* nel piano immagine della telecamera, che dipende dalla sua distanza da essa. È per questo che bisogna adeguatamente selezionare il volume necessario all'acquisizione, riducendolo al minimo in modo da avvicinare le telecamere, ben fisse, alla scena.

2.3.4 Calibrazione delle telecamere

Dopo la fase di rilevazione dei *marker*, il *setup* di un sistema per l'analisi del movimento prevede la calibrazione delle telecamere, ossia la determinazione dei loro parametri geometrici per la ricostruzione 3D. In particolare si distinguono parametri:

- interni, come la lunghezza focale, le coordinate del punto principale e i coefficienti di distorsione, che variano solo se si modifica l'ottica e l'assemblaggio;
- esterni, ovvero la posizione del sistema di riferimento della telecamera rispetto al sistema di riferimento assoluto, che variano solo spostando la telecamera.

I parametri di calibrazione definiscono una trasformazione di coordinate dal sistema assoluto al sistema di coordinate della telecamera, posto nel suo centro di prospettiva, una trasformazione prospettica dallo spazio 3D allo spazio 2D della telecamera e una trasformazione 2D dal sistema di coordinate del piano immagine al sistema di riferimento del sensore.

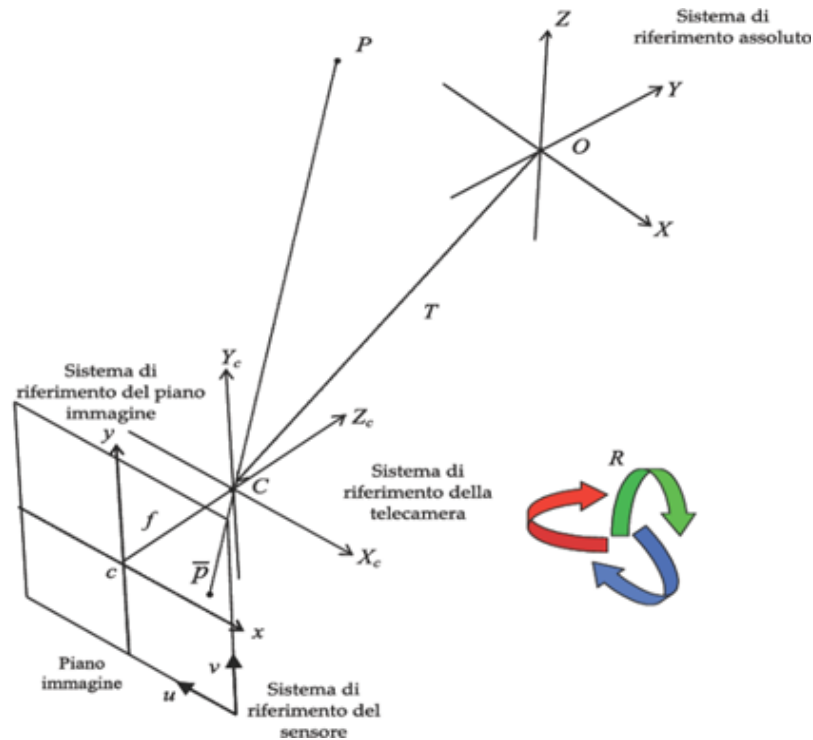


Figura 2.5 Proiezione sul piano immagine di un punto P nello spazio 3D: 1) trasformazione rigida (T, R) dal riferimento assoluto di coordinate (O, X, Y, Z) al sistema di coordinate della telecamera (C, X_c, Y_c, Z_c) ; 2) trasformazione prospettica dal sistema di riferimento della telecamera al sistema di riferimento del piano immagine (c, x, y) ; 3) trasformazione affine 2D dal sistema di riferimento del piano immagine al sistema di riferimento (u, v) del sensore. Il vettore T e la matrice di rotazione R esprimono rispettivamente la traslazione e l'orientamento del sistema di riferimento della camera rispetto al sistema di riferimento assoluto [36].

La maggior parte delle tecniche di calibrazione si basano su un modello matematico della telecamera a foro stenopeico (*pin-hole*), permettendo di trascurare l'ottica che viene modellata come un foro di diametro infinitesimo posto nel centro di prospettiva. La limitazione principale di una telecamera *pin-hole* è che l'intensità della luce che attraversa il foro e che giunge sugli elementi fotosensibili del piano immagine è troppo piccola per essere rilevata, per cui è necessario allargare il diaframma e ricorrere ad un'ottica per mettere a fuoco l'immagine. L'ottica, però, deforma l'immagine introducendo deformazioni cromatiche, che degradano la qualità o il dettaglio dell'immagine, e geometriche, che causano lo spostamento del contenuto dell'immagine. Diversi metodi sono stati sviluppati per la stima delle distorsioni e la loro correzione.

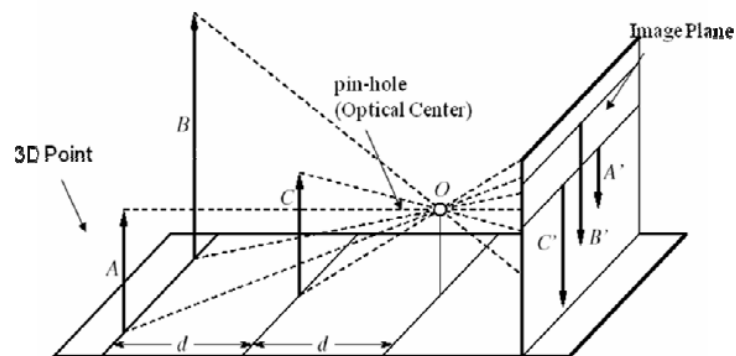


Figura 2.6 Modello a foro stenopeico[36].

La calibrazione del sistema implica l'utilizzo di un insieme di punti di controllo distribuiti internamente al volume di calibrazione secondo:

- metodi di soluzione in forma chiusa delle equazioni di collinearità come la DLT (*direct linear transformation*), basata sulla soluzione di un sistema lineare, assumono che le coordinate dei punti di controllo siano note e possono essere estese per includere e stimare i parametri di distorsione;
- il metodo "*bundle adjustment*" utilizza punti di controllo di coordinate non note che vengono stimate iterativamente, a partire da un loro valore iniziale approssimato e utilizzando i parametri di calibrazione e di distorsione, minimizzando una funzione costo rappresentata dalla distanza tra i punti misurati sulle telecamere e i corrispondenti predetti dal modello delle camere.
- metodi basati sulla geometria epipolare che non richiedono la conoscenza delle coordinate nello spazio 3D dei punti di controllo e utilizzano soluzioni lineari.

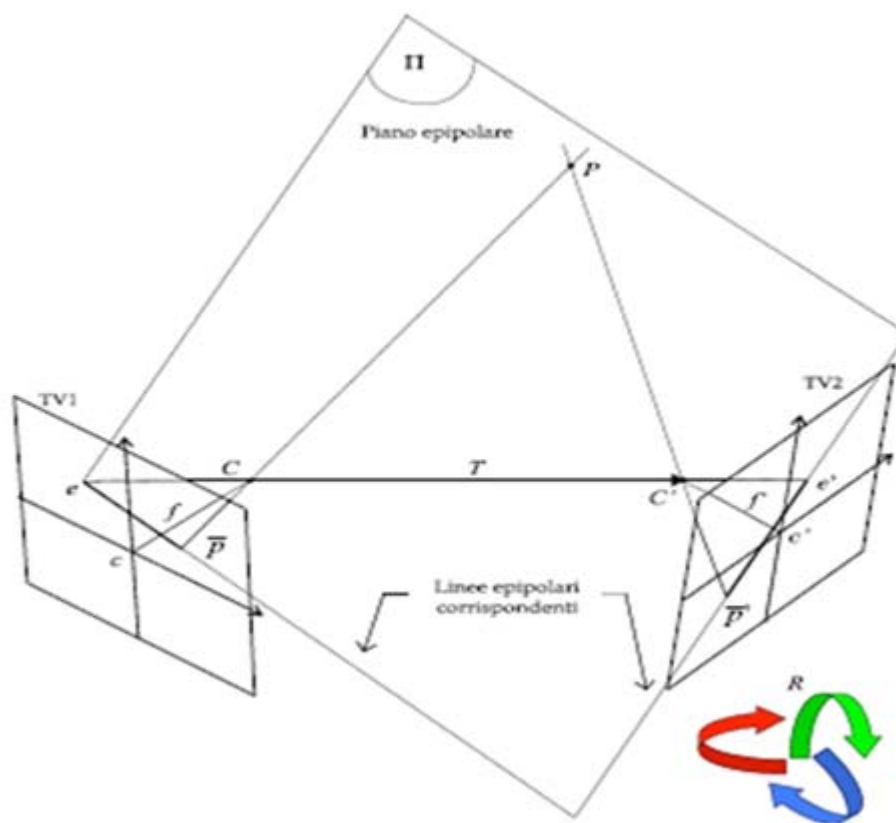


Figura 2.7 Geometria epipolare per due telecamere. Il vettore T e la matrice di rotazione R rappresentano la traslazione e l'orientamento relativo tra il sistema di riferimento della camera 2 e quello della camera 1. I punti e e e' rappresentano gli epipoli delle due telecamere[36].

Il metodo utilizzato nel sistema BTS (denominato BTS THOR2) utilizzato in questa Tesi, appartiene a quest'ultima categoria. In particolare, nella fase di calibrazione delle telecamere, si acquisiscono dei movimenti compiuti all'interno del volume di interesse con una barra (wand) sulla quale sono posti due *marker* a distanza nota. Ottimizzando l'accuratezza della rilevazione della distanza di questi 2 *marker* in tutto il volume, il metodo THOR2 risolve la geometria epipolare ricavando i parametri di calibrazione delle telecamere. Inoltre, tale metodo prevede la definizione, in fase di calibrazione, del

sistema di riferimento assoluto (di laboratorio), della sua origine e della scala dimensionale; ciò è permesso acquisendo la posizione di una terna costituita da tre barre perpendicolari tra loro, ognuna delle quali contiene 2 *marker* posti a distanza nota.

2.3.5 Ricostruzione e *tracking*

Se le telecamere sono state calibrate è possibile ricostruire la posizione dei marcatori nello spazio. Per la sua ricostruzione 3D, un punto deve essere visto contemporaneamente da almeno due telecamere non allineate (cioè è necessario disporre di almeno due punti 2D); è per questo motivo che si effettua l'acquisizione con un numero cospicuo di telecamere: in tal modo si minimizza la possibilità che un'ostruzione, un'occlusione o una angolazione sfavorevole impedisca la rilevazione e di conseguenza la ricostruzione di un qualsiasi punto.

Le coordinate del *marker* nello spazio 3D sono calcolate a partire dalle coordinate delle proiezioni nei sistemi di riferimento del piano immagine; a causa del rumore, le rette sono sghembe e quindi la posizione del punto si ottiene per la soluzione ai minimi quadrati del sistema di equazioni che descrivono la posizione rispetto ciascuna telecamera.

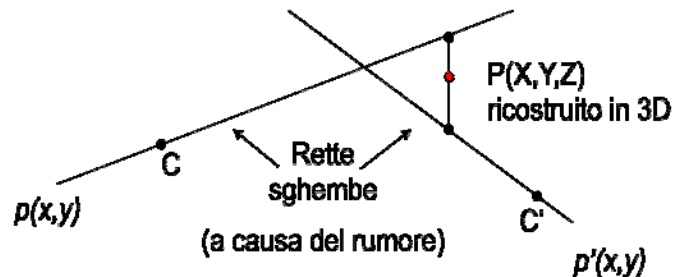


Figura 2.8 Ricostruzione 3D di un punto tramite triangolazione [36].

Dopo aver ricostruito in ogni istante di tempo la posizione 3D di ciascun *marker*, si passa alla fase di calcolo delle traiettorie (*tracking*), che rappresenta uno dei problemi più complessi di tutta l'analisi del movimento. Le informazioni che si possono usare per risolverlo sono sostanzialmente di due tipi: la regolarità delle traiettorie e le informazioni a priori sulla forma e sul tipo di moto del soggetto.

La regolarità delle traiettorie è sfruttata da stimatori ricorsivi dello stato di sistemi dinamici (come il filtro di Kalman): in fase di predizione l'algoritmo calcola la posizione attesa del marcatore in base alle precedenti, al modello dinamico ed alla varianza della predizione; in fase di aggiornamento la posizione del marcatore viene aggiornata dall'algoritmo. Essendo computazionalmente pesante, spesso si ricorre a soluzioni sub ottime dello stimatore. Nel caso, ad esempio, di urti, temporanee occlusioni, sovrapposizione di *marker*, lo stimatore può tracciare non correttamente i *marker*, ad esempio invertendoli. Per correggere gli eventuali errori, si procede (ad esempio tramite il software BTS Tracker) analizzando frame per frame le acquisizioni.

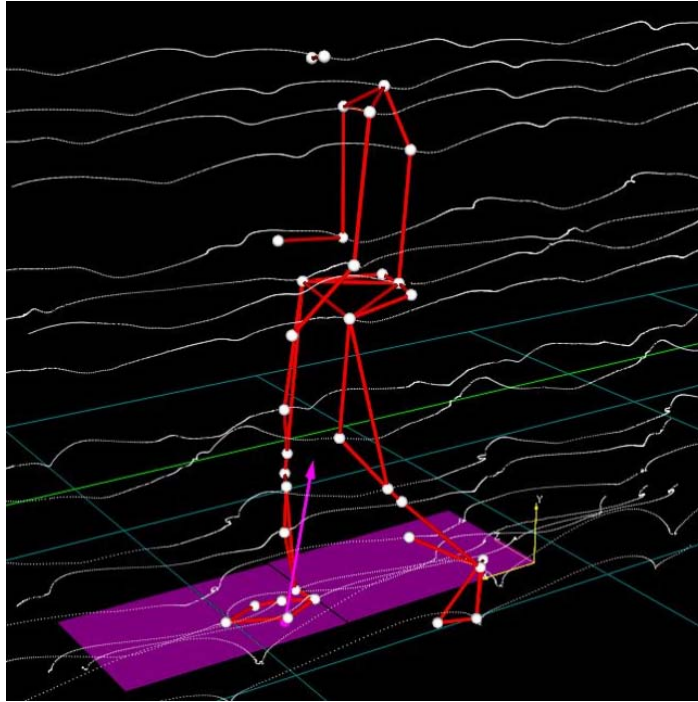


Figura 2.9 *Tracking* effettuato tramite il software BTS Tracker. Le linee bianche, associate a ciascun marcatore rilevato, rappresentano la sua traiettoria 3D.

L'informazione a priori sulla forma può essere sfruttata definendola statisticamente tramite la densità di probabilità congiunta della posizione relativa dei marcatori e della loro velocità. Problemi importanti riguardano, però, la complessità, che cresce esponenzialmente con il numero di *marker* e l'apprendimento automatico della forma. Per rendere il problema trattabile si sfrutta il fatto che si può considerare il corpo umano come una catena cinematica che presenta un certo grado di indipendenza nel moto dei vari punti non adiacenti.

Sono stati proposti, più recentemente, metodi che utilizzano modelli biomeccanici e filtri di Kalman estesi. Il principale vantaggio è che con tali metodi è possibile prevedere e stimare le auto-occlusioni dei *marker* (dalle informazioni provenienti dalle altre telecamere e dal modello); in più, le variabili cinematiche possono essere stimate direttamente senza richiedere la ricostruzione 3D dei *marker*.

Note le coordinate 3D dei *marker* e il loro *tracking*, è possibile ricostruire i sistemi di riferimento relativi ai diversi segmenti corporei, per calcolare le grandezze che descrivono la loro cinematica.

2.3.6 Cinematica articolare

Con "cinematica articolare" ci si riferisce alla descrizione del moto relativo fra due segmenti corporei adiacenti, ovvero al moto relativo delle loro ossa. I metodi sperimentali ed analitici, utilizzati nella descrizione dei movimenti articolari, devono fornire risultati ripetibili, confrontabili e coerenti con la terminologia clinica.

Il corpo viene tipicamente descritto come una catena cinematica di segmenti materiali, ciascuno dei quali rappresenta un segmento corporeo costituito da una parte ossea (segmento osseo) e dai tessuti molli che la circondano. Alla base della descrizione cinematica utilizzata vi è la modellizzazione dei segmenti ossei come corpi rigidi, quindi

ignorando la presenza di tessuti molli, senza considerare le deformazioni dei segmenti ossei, le cause che le determinano, gli effetti sul modellamento e rimodellamento e separando il problema della descrizione del movimento dall'analisi degli sforzi e delle deformazioni. Come si accennerà in seguito, tale semplificazione comporta approssimazioni ed errori spesso non trascurabili; per tale motivi in recenti modelli si considerano la intrinseca deformabilità dei tessuti.

Per descrivere la cinematica di un corpo è necessario associare ad esso la descrizione della sua morfologia, che può essere ricavata ricorrendo a tecniche per bioimmagini, come la tomografia computerizzata e la risonanza magnetica, oppure utilizzare la stereofotogrammetria. Attraverso quest'ultima tecnica, tuttavia, si ottiene una ricostruzione meno accurata, in quanto si sfruttano le informazioni relative a punti superficiali detti punti di repere anatomico individuati attraverso palpazione. Le tecniche per bioimmagini, però, spesso non sono disponibili nel contesto del laboratorio di analisi del movimento e sono costose e invasive nei confronti del soggetto.

I sistemi di riferimento coinvolti nel calcolo della cinematica articolare sono fondamentalmente di tre tipi:

- il sistema di riferimento globale, che è un sistema di assi rispetto al quale il sistema fotogrammetrico fornisce le coordinate ricostruite dei marcatori, esso è arbitrariamente definito nello spazio del laboratorio;
- il sistema di riferimento locale (o tecnico), che è un sistema arbitrario rigidamente associato ad un segmento osseo, che viene ricostruito utilizzando la posizione istantanea di marcatori non allineati collocati sul segmento d'interesse (affinché il problema sia determinato i marcatori devono essere almeno tre);
- il sistema di riferimento anatomico, che è un sistema i cui piani approssimano i piani anatomici e viene determinato utilizzando i relativi punti di repere anatomico identificabili per palpazione (è un quindi un sistema introdotto per soddisfare requisiti di ripetibilità intra - e inter - soggettiva).

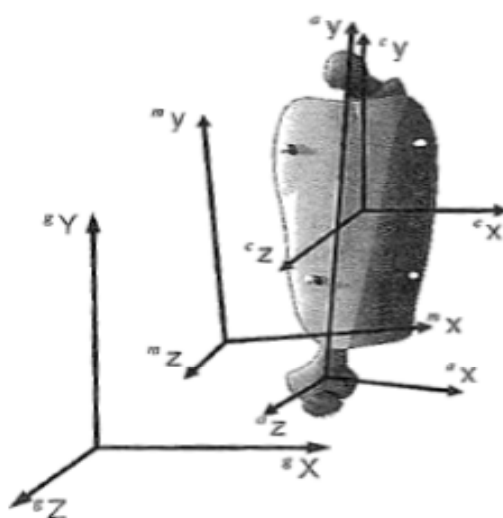


Figura 2.10 Sistema di riferimento globale (g), del cluster dei marcatori (c), morfologico (m), anatomico (a) [36].

Esistono diverse descrizioni possibili per la cinematica articolare che determinano risultati diversi fra loro.

Con delle semplici trasformazioni rigide di punti, in ogni istante di tempo è possibile descrivere un sistema di riferimento globale, assunto fisso (ad esempio il sistema di riferimento del laboratorio definito durante la calibrazione delle telecamere), la posizione e l'orientamento di un sistema di riferimento ortogonale solidale all'osso mediante la trasformazione ortogonale:

$${}^g_1p = {}^gR_l {}^l_1p + {}^gO_l$$

con g_1p e l_1p vettori posizione del punto p visti rispettivamente nel sistema globale ed il quello locale solidale all'osso, messi in relazione dalla matrice di rotazione rigida

$${}^gR_l = \begin{bmatrix} \cos\theta_{x_gx_l} & \cos\theta_{x_gy_l} & \cos\theta_{x_gz_l} \\ \cos\theta_{y_gx_l} & \cos\theta_{y_gy_l} & \cos\theta_{y_gz_l} \\ \cos\theta_{z_gx_l} & \cos\theta_{z_gy_l} & \cos\theta_{z_gz_l} \end{bmatrix}$$

e dal vettore di traslazione rigida

$${}^gO_l = [{}^gO_{lx}, {}^gO_{ly}, {}^gO_{lz}].$$

Attraverso questa relazione si può descrivere la traiettoria di un qualsiasi punto di repere osseo nel sistema di riferimento assoluto.

I vettori g_1p implicitamente contengono due tipi di informazione: una relativa alla morfologia e l'altra alla posa dell'osso, ovvero alla sua collocazione rispetto ad un sistema di riferimento. Vista l'ipotesi di rigidità, la morfologia dell'osso è data inizialmente ed è invariante, mentre l'informazione relativa alla posa è fornita sostituendo l'osso con un oggetto 3D standard, rigidamente associato ad esso.

Il movimento relativo tra due segmenti ossei adiacenti viene descritto attraverso il movimento relativo di due sistemi di riferimento locali, ognuno associato ad un segmento osseo. Questi due sistemi vengono chiamati sistema prossimale e sistema distale.

Se per entrambi questi sistemi sono note le matrici di orientamento R_p e R_d e i vettori posizione gO_p e gO_d , applicando l'equazione precedente per ciascun segmento, con riferimento ad un medesimo punto p nel sistema di riferimento globale, è possibile scrivere la relazione tra i due sistemi di riferimento, prossimale e distale:

$${}^p_1p = R_j {}^d_1p + o_j$$

$$\text{dove } R_j = R_p^T R_d \text{ e } o_j = R_p^T ({}^gO_d - {}^gO_p)$$

La matrice R_j ed il vettore o_j sono, rispettivamente, la matrice di orientazione ed il vettore posizione del sistema di riferimento distale rispetto a quello prossimale, considerato come sistema di riferimento fisso e permettono di descrivere in modo completo la cinematica articolare.

L'orientamento del sistema distale (o locale) rispetto a quello prossimale (o globale) è univocamente descritto dagli angoli che ogni asse del primo sistema forma con i tre assi del secondo. Questi nove angoli non sono indipendenti, in quanto gli assi dei sistemi di riferimento sono ortogonali. Ne risulta che le coordinate indipendenti sono tre.

Le tre componenti indipendenti che descrivono la rotazione, si aggiungono alle altre tre componenti del vettore o_j , per un totale di sei coordinate indipendenti. Queste sei coordinate scalari rappresentanti i GDL, possono essere rappresentate in vario modo a seconda della convenzione scelta, che può prevedere:

- tre spostamenti lineari ed un'unica rotazione attorno ad un asse (tale rappresentazione è detta asse-angolo): la cinematica articolare è descritta da una singola rotazione, in senso anti-orario, attorno ad un asse definito da un versore, quindi l'orientamento del sistema distale rispetto a quello prossimale viene descritto come un vettore

orientamento, le cui componenti non corrispondono fisicamente a rotazioni anatomiche, ma sono una loro rappresentazione algebrica. Questa rappresentazione permette di risolvere il problema della singolarità per rotazioni infinitesime ed è robusta, i risultati sono meno sensibili al rumore. Tuttavia non viene utilizzata, in quanto non ha un'immediata interpretazione funzionale.

- assi di rototraslazione per spostamenti rigidi di ampiezza finita (*Finite Helical Axes*): la cinematica articolare viene descritta mediante l'identificazione degli assi di rototraslazione relativi a spostamenti rigidi di ampiezza finita; il moto rigido è quindi descritto tramite una rotazione finita attorno al FHA e una traslazione finita lungo il FHA. Per pura traslazione si ha condizione di singolarità e tale rappresentazione presenta elevata sensibilità del FHA agli errori di misura in presenza di rotazioni finite ma piccole. Questa rappresentazione non ha un'immediata interpretazione funzionale, per cui non è una buona rappresentazione per la cinematica articolare.

- tre spostamenti lineari e una sequenza ordinata di tre rotazioni attorno ad assi coordinati: le tre traslazioni sono indipendenti dall'ordine con cui gli spostamenti lineari vengono effettuati, mentre le tre rotazioni elementari successive, attorno a due o tre assi del sistema di riferimento fisso o del proprio, quindi mobili, sono tipicamente dipendenti dall'ordine con cui vengono eseguite. Esistono, perciò, diverse convenzioni articolari; ad esempio:

- *angoli di Eulero*: sequenza ordinata di tre rotazioni attorno a due assi distinti (uno dei quali è utilizzato come primo e terzo asse); tipicamente non vengono usati in biomeccanica perché difficilmente ad essi è possibile assegnare un significato funzionale e perché per rotazioni di 180° , ovvero per posizioni neutre tipicamente assunte durante i movimenti, presenta singolarità.

$${}^gR_j = R_z(\alpha)R_x(\beta)R_z(\gamma)$$

- *angoli di Cardano/Bryant*: si ottengono come sequenza ordinata di tre rotazioni elementari attorno a tre assi mobili. In biomeccanica tipicamente si utilizza la *convenzione di Grood and Suntay* :

$${}^gR_j = R_z(\alpha)R_x(\beta)R_y(\gamma)$$

Secondo la *convenzione di Grood and Suntay*, l'orientamento è descritto come:

- rotazione elementare α attorno all'asse Z del sistema di riferimento prossimale (all'inizio coincidente con l'asse z del sistema distale)

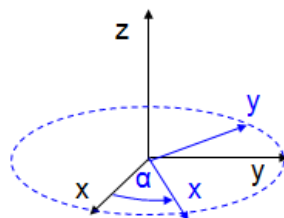


Figura 2.11 Rotazione elementare α attorno all'asse Z del sistema di riferimento prossimale

- rotazione elementare β attorno all'asse x del sistema di riferimento distale, dopo che la prima rotazione è stata eseguita (asse flottante)

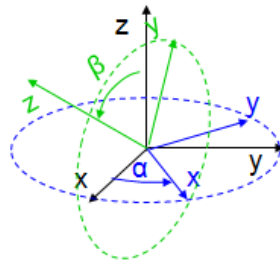


Figura 2.12 Rotazione elementare β attorno all'asse x del sistema di riferimento distale

- rotazione elementare γ attorno all'asse y del sistema di riferimento distale, dopo che le prime due rotazioni sono state eseguite

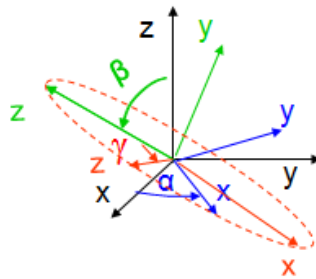


Figura 2.13 Rotazione elementare γ attorno all'asse y del sistema di riferimento distale

La matrice di rotazione che si ottiene, presenta *gimbal-lock* per angoli $\beta = k\pi/2$. Utilizzando angoli di *Cardano/Bryant*, inoltre, si ha una forte dipendenza degli angoli articolari dalla sequenza di rotazioni scelta: la rotazione di maggior intensità è meno sensibile all'ordine delle rotazioni scelta, mentre i valori degli altri due angoli ne dipendono fortemente.

Con la *convenzione di Grood and Suntay* [37] è possibile evitare il *gimbal-lock* scegliendo in modo opportuno l'asse flottante a seconda del movimento che si vuole descrivere e dell'articolazione di interesse: l'asse flottante va fatto coincidere con un asse articolare attorno al quale corrispondono rotazioni minime. I versori degli assi articolari, però, costituiscono un sistema di coordinate non ortogonali. Tuttavia la *convenzione cardanica di Grood and Suntay* è la più usata in biomeccanica per gli importanti vantaggi che il suo uso comporta: gli assi di rotazione corrispondono agli assi articolari e il *gimbal-lock* può essere evitato.

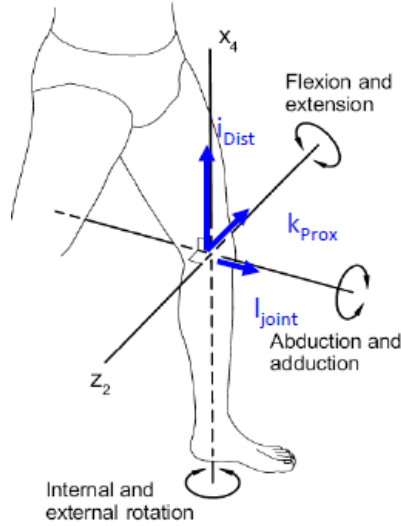


Figura 2.14 Esempio di applicazione della convenzione di *Grood & Suntay* per la descrizione della intra-extra rotazione del ginocchio.

Riassumendo, la stima della cinematica articolare può essere scomposta nei seguenti passi:

1- note le posizioni dei *marker* nel sistema globale del laboratorio:

$${}^gP_i(t) = [{}^gP_{xi}(t) {}^gP_{yi}(t) {}^gP_{zi}(t)]$$

si ricostruisce un sistema tecnico per ogni segmento corporeo

$$[{}^gR_{tec}(t), {}^gT_{tec}(t)] = f({}^gP_{1,2,...,m}(t))$$

2- si determinano le coordinate dei punti di repere anatomico rispetto al sistema tecnico del segmento corrispondente:

$${}^{tec}a_j(t) = {}^{tec}[x_j(t), y_j(t), z_j(t)] \text{ con } j = 1 \dots N$$

3- si calcolano le coordinate dei punti di repere anatomico rispetto al sistema di riferimento del laboratorio:

$${}^ga_j(t) = {}^gR_{tec}(t)a_j(t) + {}^gT_{tec}(t) \text{ con } j = 1 \dots N$$

4- si ricostruisce la posizione ed orientamento di ciascun sistema di riferimento anatomico rispetto al sistema globale:

$$[{}^gR_{ana}(t), {}^gT_{ana}(t)] = f({}^ga_{1,2,...,m}(t))$$

5- si calcola, per ogni articolazione, la posizione ed l'orientamento relativo dei sistemi di riferimento anatomico dei due segmenti adiacenti rispetto ad una convenzione opportuna:

$$[{}^gR(t), {}^{dp}T(t)] = f({}^gR_{ana}(t)_{prox}, {}^gT_{ana}(t)_{prox}, {}^gR_{ana}(t)_{dist}, {}^gT_{ana}(t)_{dist})$$

2.3.7 Errori in stereofotogrammetria

L'accuratezza della cinematica articolare ricostruita è di fondamentale importanza per l'utilizzo dei risultati in condizioni operative come nel processo di decisione clinica.

Diverse sono le tipologie di errore che possono intervenire ad inficiare tale accuratezza:

- errori strumentali: tali errori possono essere di due tipi, sistematici o casuali, i primi sono associati ad un modello del sistema di validità limitata, i secondi possono essere

causati dal rumore elettronico (*flickering*) legato all'imprecisione con cui l'immagine dei *marker* è convertita in punto immagine;

- errori nella determinazione delle coordinate locali dei punti di repere anatomico: tali errori consistono nella dislocazione dei punti di repere anatomico e si propagano al calcolo della posa dei sistemi di riferimento anatomico e quindi agli angoli articolari;
- errori derivanti da Artefatti da Tessuto Molle (ATM): la cute, l'adipe e i muscoli, interposti tra i cluster dei marcatori e i segmenti ossei corrispondenti fanno sì che durante l'esecuzione del compito motorio, si verifichi un movimento relativo tra queste due entità.

Mentre gli errori strumentali possono essere quantificati ed eventualmente compensati tramite tecniche di filtraggio, gli altri due tipi di errori sono sistematici, pertanto risulta più difficile quantificarli e limitarli.

2.4 Protocolli per la *gait analysis*

I protocolli in *gait analysis* sono utilizzati per rendere clinicamente interpretabili i parametri cinematici e dinamici acquisiti. Un protocollo definisce un modello biomeccanico e le procedure per acquisire i dati, elaborarli, analizzarli ed ottenere da essi dei risultati.

I diversi protocolli si distinguono, oltre che per il diverso *marker-set* adottato e le differenti procedure di acquisizione, anche nel modello biomeccanico, che include le variabili misurate, i gradi di libertà assegnati alle articolazioni, i riferimenti anatomici e tecnici, le convenzioni di rotazione delle articolazione e la terminologia. Tali differenze metodologiche rendono difficile il confronto clinico di risultati ottenuti con diversi protocolli; d'altro canto una standardizzazione è di difficile attuazione in quanto il protocollo utilizzato dipende dalla tecnologia utilizzata e dall'obiettivo clinico specifico. Alcuni studi mirano al confronto dei risultati ottenuti utilizzando diversi protocolli. Ad esempio, in [38] si è osservata un'alta correlazione tra protocolli che utilizzano un modello biomeccanico simile, mentre solo una debole influenza è sembrata essere dovuta al *marker-set* implementato.

2.4.1 Il protocollo Davis – Helen Heyes

Il protocollo di *Davis et al.* [39] rappresenta uno standard di riferimento, sviluppato presso il *Newington Children's Hospital* con particolare riguardo alle applicazioni relative alla paralisi cerebrale infantile.

Tale protocollo precede che, durante una prima fase, vengano rilevati alcuni parametri antropometrici del soggetto, quali il peso corporeo, l'altezza, la lunghezza della tibia, la distanza tra i condili femorali o diametro del ginocchio, la distanza tra la spina iliaca superiore anteriore (ASIS) destra e sinistra e la distanza verticale nel piano sagittale del soggetto supino tra la ASIS e il gran trocantere.



Figura 2.15 Misure antropometriche previste nel protocollo Davis-Helen Heyes [39].

Nel *marker-set* proposto, tutti i marcatori sono posti sui lati esterni dei segmenti corporei, risultando ben visibili; tuttavia nel caso di acquisizioni di movimenti rapidi le bacchette possono essere soggette a vibrazioni. In particolare, il *marker-set* prevede il posizionamento dei marcatori in:

- tronco: due *marker* sono posizionati sulle giunzioni sterno-clavicolari destra e sinistra ed uno su di una *wand* cervicale posizionata sul soggetto in modo tale che la linea passante nell'articolazione sterno-clavicolare e nella vertebra C7 sia parallela al piano costituito dai *marker*.
- bacino: nelle due ASIS e in una *wand* puntata sul sacro in modo che il *marker* al suo estremo siano nello stesso piano contenente le ASIS e PSIS;
- coscia: un dispositivo di allineamento è posto sopra gli epicondili mediale e laterale in modo tale da essere in linea con l'asse epicondiloideo nel quale è posto un terzo *marker*. Questi tre marcatori formano un piano contenente l'asse e orientato in modo tale da contenere l'asse longitudinale della coscia. Questi tre *marker* sono fissati tra loro in modo relativamente rigido formando un cluster e posti sul soggetto più distalmente possibile per minimizzare gli artefatti da tessuto molle.
- gamba: tre *marker* sono posizionati formando un piano contenente l'asse epicondiloideo e l'asse longitudinale della gamba. Uno di questi è posto a livello del malleolo laterale. Anche questi tre *marker* sono fissati per formare un cluster, posto più distalmente possibile.
- piede: testa metatarsale del quinto dito e calcagno. Quest'ultimo è usato solo durante l'acquisizione statica ed è posizionato in modo tale che il vettore calcagno-dito è parallelo alla pianta del piede e allineato con la direzione individuata dal centro della caviglia e dallo spazio tra le teste del secondo e terzo metatarso.

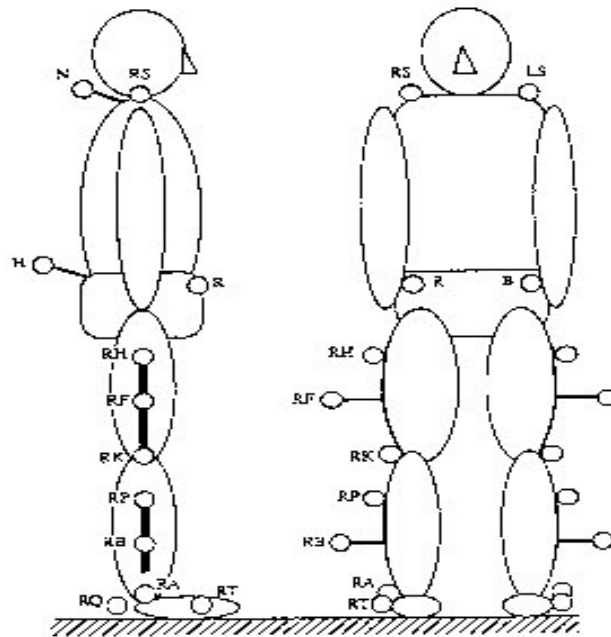


Figura 2.16 Marker-set proposto nel protocollo Davis-Helen Heyes [39].

Il protocollo prevede poi una breve acquisizione statica (posizione di riferimento degli angoli relativi a due segmenti contigui) del soggetto in posizione eretta. In questo modo si acquisisce la posizione iniziale dei *marker* rispetto al corpo che, integrata con calcoli eseguiti a partire dalle misure antropometriche, consente la stima dei centri di rotazione articolari. Dalle misure antropometriche si ottengono anche le masse dei segmenti e i momenti d'inerzia; dalle traiettorie dei *marker*, invece, lo spostamento relativo dei segmenti corporei, gli angoli articolari, le velocità e le accelerazioni dei segmenti corporei.

2.4.2 Il protocollo C.A.S.T.

Il C.A.S.T. – *Calibrated Anatomical System Technique* [40-41] è stato sviluppato per essere un protocollo sperimentale legato alla stima dei sistemi di riferimento anatomici solidali con i segmenti ossei adiacenti. Per la ricostruzione della cinematica articolare è infatti necessario innanzitutto definire un sistema di riferimento tecnico per ogni segmento corporeo a partire dalle coordinate dei *marker* nel sistema di riferimento del laboratorio. Tale sistema di riferimento può coincidere con il sistema di riferimento anatomico e può essere determinato a partire dalla posizione di tre *marker* non allineati, appartenenti ad un *cluster*, posti sulla superficie del segmento osseo sotto analisi.

La minimizzazione degli artefatti di pelle è stato il criterio sul quale si è fondato lo sviluppo del CAST, che si basa sull'approccio di "*anatomical calibration*". In particolare questo protocollo prevede di posizionare i marcatori del cluster in zone dove è meno ampio lo slittamento dei tessuti rispetto all'osso, al fine di minimizzare gli artefatti da tessuto molle. L'individuazione dei punti di repere anatomico è ottenuta senza applicare i marcatori su di essi, ma ricostruendo la loro posizione nel tempo rispetto ai sistemi tecnici in precedenza definiti. Tale "calibrazione anatomica" può essere condotta in due differenti modi:

- 1) si colloca un *marker* sulla prominenza ossea d'interesse (punto di repere anatomico) e si determinano le sue coordinate nel sistema di riferimento tecnico, sfruttando le coordinate dei marcatori che identificano il cluster sul segmento osseo sotto analisi. Al

soggetto viene poi chiesto di assumere una posizione che permetta, sia ai *marker* del sistema tecnico che al *marker* sul punto di repere anatomico, di essere visti da almeno due telecamere. La procedura viene quindi ripetuta per ogni punto di repere anatomico. I *marker* utilizzati per l'identificazione dei punti di repere vengono poi rimossi prima che venga effettuato l'atto motorio

2) Si utilizza una bacchetta recante due *marker* sferici a una nota distanza dalla punta, la quale viene indirizzata sulla prominenza ossea di interesse. Sfruttando la distanza tra i *marker* della bacchetta e la sue estremità, viene ricostruita la posizione del punto di repere anatomico nel sistema di riferimento tecnico. Anche in questo caso sia i *marker* appartenenti alla bacchetta sia quelli appartenenti al cluster devono essere visibili ad almeno due telecamere. La procedura viene ripetuta per tutti i punti di repere anatomico. Questo metodo è solitamente più fattibile rispetto al precedente, soprattutto quando il punto di repere anatomico è in una posizione scomoda.

Questo protocollo sperimentale (C.A.S.T.) non è definitivamente standardizzato, ma vuole rappresentare una guida ed una metodologia di approccio nel definire metodi di acquisizione specifici. I punti di riferimento indicati si suddividono in base alla loro funzione, in particolare:

- alcuni sono utilizzati nella definizione dei sistemi di riferimento anatomici, ovvero: ASIS, PSIS, testa del femore, epicondili mediale e laterale, tuberosità tibiale, testa della fibula, malleoli mediale e laterale, calcagno, faccia dorsale della testa del primo, secondo e terzo metatarso del piede.
- altri possono essere utilizzati per determinare la posizione di altri punti facente parti della categoria precedente, o per migliorarne la stima, ovvero: centro dell'acetabolo, condilo distale femorale mediale e laterale, apici anteromediale ed anterolaterale della superficie patellare, cresta mediale e laterale del piatto tibiale.- altri possono essere utilizzati per rappresentazioni più realistiche delle ossa e/o per modelli geometrici dei muscoli e legamenti, ovvero: gran trocantere, condilo distale femorale mediale e laterale, apici anteromediale ed anterolaterale della superficie patellare, eminenza intercondiloidea, cresta mediale e laterale del piatto tibiale.

La calibrazione anatomica consente di risolvere il problema dell'inaffidabilità del posizionamento delle bacchette laterali previsto nel Davis, come pure aumenta l'accuratezza eliminando la variabilità nell'applicazione delle bacchette e dell'effetto pelle presente nei *marker* direttamente applicati sulla cute.

Tuttavia le numerose calibrazioni necessarie rendono la preparazione del paziente più lunga, anche se non richiede misure antropometriche. In più, l'utilizzo di *clusters* rigidi determina un ingombro e quindi una limitazione al movimento.

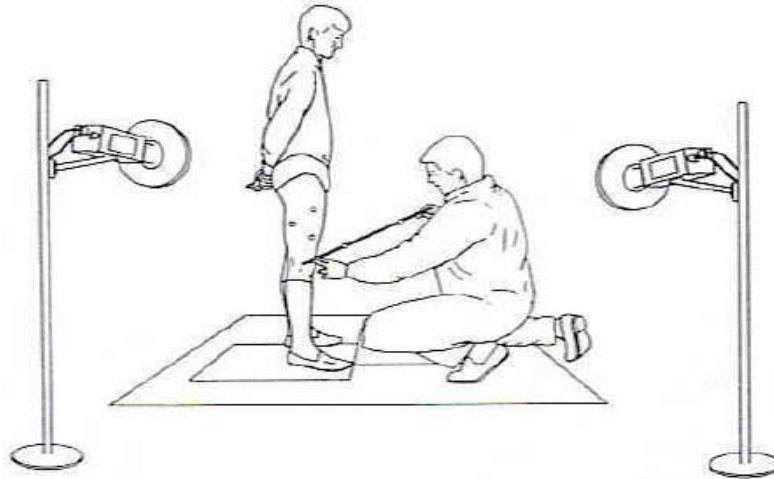


Figura 2.17 Calibrazione anatomica tramite *wand* [40].

2.4.3 Il protocollo Leardini

Il protocollo Leardini sviluppato presso l'istituto Ortopedico Rizzoli [42] vuole essere un compromesso tra la necessità di:

- utilizzare sistemi di riferimento e assi definiti su base anatomica, per consentire confronti intra- e inter-individuale dei pattern motori e una significatività clinica delle variabili; una precisa identificazione anatomica, nel tipico caso in cui non siano disponibili immagini di MRI, è possibile solo acquisendo un'estesa collezione di dati.
- di minimizzare il disturbo arrecato al paziente durante la fase di preparazione, in quanto spesso non è in grado di rimanere fermo per lunghi periodi, soprattutto se in piedi e indossando numerosi *marker*, magari dovendo compiere movimenti aggiuntivi per la calibrazione. Per ridurre al minimo il tempo di "vestizione" del soggetto, bisogna ridurre al minimo il *marker-set* (posizionando i *marker*, in numero limitato, in punti di repere di facile accessibilità), la calibrazione anatomica e le misure antropometriche.

Il *marker-set* prevede applicazione di *marker* per:

- il bacino, in: spine iliache superiori anteriori e posteriori;
- il femore, in: gran trocantere ed epicondilo femorale laterale;
- la gamba, in: apice esterno della testa della fibula, tuberosità tibiale e malleolo laterale;
- il piede, in: calcagno, quinta e prima testa metatarsale.

La calibrazione anatomica è prevista per l'epicondilo mediale e malleolo mediale.

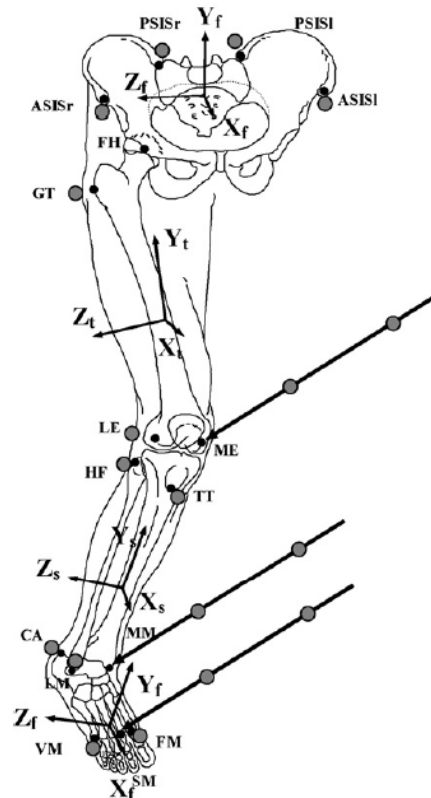


Figura 2.18 Anatomical landmarks (piccoli punti neri) e *marker* (punti grigi) posti anche sul puntatore utilizzato per le tre calibrazioni previste per ogni lato, e l'orientamento dei sistemi di riferimento anatomici per il bacino (p), per la coscia (t), per la gamba (s) e per il piede (s) [42].

Questo protocollo tridimensionale utilizza marcatori tipicamente visibili durante il movimento, propone una definizione affidabile dei piani anatomici, considera punti di repere facilmente identificabile e i *marker* sono applicati in punti accessibili. Il tempo necessario alla preparazione del paziente è bassa e l'accuratezza delle misure è buona, limitata a causa dell'applicazione dei marcatori direttamente sulla pelle. Anche l'ingombro è limitato, non richiedendo *cluster* o *wand*. Se si calibrano le ASIS e PSIS e se il training dell'operatore è omogeneo, tale protocollo garantisce una bassa variabilità dei risultati inter- ed intra-operatore e intra-soggetto.

2.4.4 Il protocollo SAFLo

Il protocollo SAFLo (Servizio di Analisi della Funzionalità Locomotoria) [43-44], è stato sviluppato presso il Centro di Bioingegneria di Milano per consentire misure della cinematica total body, stime dei momenti articolari e delle potenze, durante la postura eretta ed il cammino di soggetti patologici.

Il modello total body SAFLo include la testa, i due arti superiori, la colonna vertebrale, il bacino e i due arti inferiori. Le diverse porzioni del corpo, che possono essere analizzate separatamente, sono considerate come moduli differenti ordinati gerarchicamente. Il primo è il modulo che include le pelvi e gli arti inferiori, il secondo è la colonna, il terzo è la testa, il quarto è costituito dagli arti superiori. Nel modello dell'arto inferiore, gamba, coscia e segmenti del piede sono considerati come corpi rigidi, connessi tra loro tramite cardini ideali per permettere, oltre alle misure cinematiche, anche il calcolo dei momenti e delle potenze articolari dalle misure delle forze di reazione al terreno.

Il SAFLo è un protocollo anatomico, in quanto prevede che i *marker* vengano posizionati sulla cute del soggetto in corrispondenza dei punti di repere, quali la prominenza inferiore del sacro, le spine iliache posteriori superiori, i condili laterali femorali, i malleoli laterali, le teste metatarsali del quinto dito. Inoltre, tre *marker* aggiuntivi (detti "*extended marker*") sono stati posti su ognuna delle bacchette (*wands*) rigidamente fissate ad ogni arto inferiore, in corrispondenza dei condili laterali femorali, della faccia anteriore tibiale e dell'area metatarsale dell'avampiede.

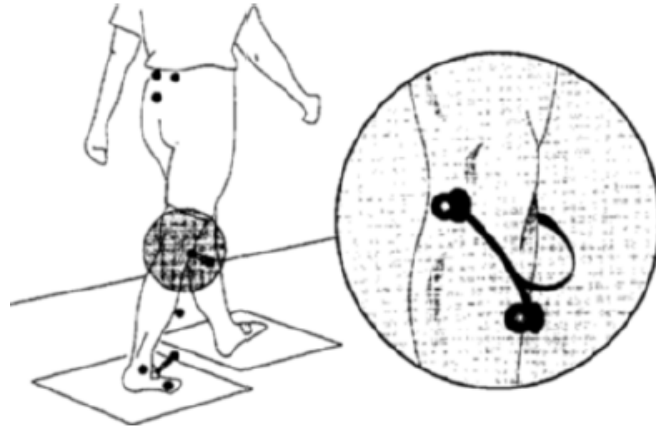


Figura 2.19 Posizionamento dei *marker* su punti di repere (sacro, PSIS, condili femorali laterale, malleoli laterali, quinta testa metatarsale). Ulteriori 3 *marker* sono vincolati per ognuna delle bacchette rigide fissate in corrispondenza dei condili laterali, del piatto tibiale anteriore e del collo del piede [43].

Prima del posizionamento dei *marker*, il modello SAFLo richiede, per la ricostruzione tridimensionale del modello biomeccanico, la misura di diverse grandezze antropometriche, quali l'altezza, il peso corporeo, la lunghezza del femore (distanza tra il gran trocantere e l'epicondilo femorale laterale), la lunghezza della gamba (distanza tra l'epicondilo femorale laterale ed il malleolo laterale), la lunghezza del piede (distanza tra calcagno e alluce), larghezza delle pelvi (distanza tra la cresta iliaca superiore destra e sinistra), l'altezza delle pelvi (distanza tra la cresta iliaca superiore e l'ischio), la distanza verticale tra la spina iliaca posteriore e la cresta iliaca superiore, la distanza intracondilea al ginocchio, la distanza intramalleolare alla caviglia e la distanza tra la prima e la quinta testa metatarsale.

La preparazione del paziente richiede, in totale, circa 15 minuti; è importante tenere in considerazione questa caratteristica, in quanto maggiore è il tempo richiesto, maggiore è il disturbo arrecato ai pazienti, spesso non in grado di mantenere una posizione a lungo e facilmente affaticabili.

Tale protocollo si è mostrato essere utilizzabile in un ambiente clinico, in quanto è stato estesamente applicato con successo a pazienti neurologici e ortopedici, molti dei quali incapaci di camminare senza assistenza esterna.

2.4.5 Il protocollo LAMB

Il protocollo LAMB (Laboratorio per l'Analisi del Movimento nel Bambino) [45] è stato sviluppato nel 2004, presso l'Istituto di fisiologia umana dell'Università di Milano, per essere specificatamente applicato per l'acquisizione di dati cinematici del cammino di

bambini in età pediatrica, anche con patologie neurologiche. Nel suo sviluppo si sono voluti includere i vantaggi degli approcci anatomico, funzionale e di calibrazione, minimizzando i vincoli operativi che possono essere derivanti dalle dimensioni antropometriche dei bambini ed allo stesso tempo garantendo, come risultato, un insieme di parametri cinematici clinicamente significativi. Il protocollo è stato poi estesamente utilizzato nell'analisi cinematica di soggetti adulti, confermando le sue caratteristiche.

Il corpo è modellato come un complesso di 16 segmenti, 7 dei quali appartengono al sistema locomotore (pelvi, cosce, gambe e piedi) e sono identificati da almeno tre punti ciascuno (il terzo punto considerato per la coscia è il centro articolare dell'anca, stimato dalle pelvi).

L'utilizzo di modelli matematici, indipendenti dal sistema di riferimento assoluto, permette la ricostruzione dei punti calibrati, l'identificazione del sistema di riferimento delle pelvi, la stima del centro articolare dell'anca, l'identificazione del sistema di riferimento degli arti inferiori e dei centri articolari, il calcolo degli angoli e delle dinamiche articolari, della geometria muscolare, della cinematica del COM e dei lavori compiuti; permette, in oltre, l'utilizzo di pedane di forza fissate a terra secondo una direzione preferita.

Il *marker-set*, tale da consentire un'analisi cinematica tridimensionale, non richiede l'utilizzo di dispositivi esterni, come *wand* o *plate*, riducendo l'ingombro per il soggetto. Il posizionamento dei *marker* in punti di repere limita il rischio di artefatti da effetto pelle ed evita la necessità di ricorrere a misure antropometriche. In più, la calibrazione anatomica applicata a otto punti, accorcia la fase di preparazione del soggetto.



Figura 2.20 Posizionamento dei *marker* in accordo con il protocollo LAMB [45].

In dettaglio, il *marker-set* del protocollo è caratterizzato dalla presenza di *marker* anatomici in: processo zigomatico dell'osso temporale, processo spinato delle vertebre C7 e T10, acromion scapolare, epicondilo omerale laterale, tuberosità ulnare distale, PSIS mediale, ASIS, gran trocantere, condili mediale e laterale femorale, testa della fibula, malleoli mediale e laterale, 1^a e 5^a testa metatarsale, inserzione distale del tendine d'Achille, aspetto dorsale del primo dito.

Rispetto al protocollo LAMB originale, quello utilizzato in questa Tesi è una versione modificata che, per descrivere meglio il piede e la gamba dell'arto paretico, necessita del posizionamento di altri *marker* (nel solo lato plegico) in corrispondenza dell'osso

navicolare e cuboide, oltre che della tuberosità tibiale. Oltre a questi *marker* posti in punti di repere, altri quattro sono posti, due per lato, in corrispondenza del punto mediale della tibia e del femore. Il *marker-set*, in totale, è costituito da 40 *marker*. Nei casi in cui, a causa di limitazioni funzionali del soggetto (che con l'arto superiore paretico oscurava le ASIS) o problematiche soggetto-specifiche, si sono aggiunti dei *marker* utili all'identificazione del sistema di riferimento delle pelvi in corrispondenza delle PSIS e del sacro. Dopo un'acquisizione statica di calibrazione si sono tolti alcuni *marker* che possono ostacolare il cammino del soggetto, ovvero quelli posti in corrispondenza di: gran trocantere, condilo mediale, prima testa metatarsale, malleolo mediale.

2.5 Piattaforme di forza

L'analisi del movimento umano lo scopo di raccogliere informazioni oggettive e quantitative relative, oltre che alla cinematica, anche alla cinetica. Il corpo si muove sotto l'azione di forze interne, determinate dall'azione dei muscoli nel rispetto dei vincoli articolari, e forse esterne scambiate dal corpo con l'ambiente.

Per la misura delle forze esterne, la soluzione preferibile è la strumentazione dell'ambiente, in quanto semplifica la misurazione e non disturba l'esecuzione dell'atto motorio da parte del soggetto. Per quanto riguarda l'applicazione all'analisi del cammino, se la rilevazione avviene "su campo", ovvero nell'ambiente normale di esecuzione del gesto, si possono utilizzare solette di pressione. Nel caso di acquisizione in laboratorio, invece, si usano tipicamente pedane di forza e pressione.

I trasduttori di forza sono impiegati nella rilevazione dei carichi di reazione del suolo. Ogni sistema di forze può essere sostituito con una forza e una coppia equivalente, quindi per conoscere interamente la forza applicata su una struttura è necessario conoscere le tre componenti di forza e le tre componenti della coppia, per un totale di sei componenti. I trasduttori utilizzati per misurare le forze possono essere a sei o a tre componenti.

I trasduttori di forza si basano sugli effetti della deformazione meccanica subita, direttamente proporzionale all'intensità delle forze agenti e da misurare, sulla variazione delle proprietà elettriche del sensore stesso. I valori di pressione possono poi essere calcolati nota l'area sulla quale la forza misurata agisce.

La qualità della misura del sensore è influenzata principalmente dalla risposta elastica del trasduttore, che idealmente deve essere lineare e senza distorsioni in fase in tutto il campo di ampiezze e velocità; non-linearità possono, eventualmente, essere corrette per via numerica tramite calibrazione. In fase di progettazione si deve stabilire un compromesso tra flessibilità e rigidità dell'elemento sensibile, che sono direttamente proporzionali rispettivamente alla sensibilità ed alla massima frequenza di risposta. Ulteriore importante caratteristica è l'eventuale presenza di isteresi, ovvero la dipendenza della sua risposta dalla precedente storia di carico; l'isteresi limita in maniera sostanziale l'accuratezza della misura.

Le tecnologie più usate per la realizzazione dei trasduttori di forza si basano su estensimetri e cristalli piezoelettrici.

Un estensimetro (*strain gauge*) converte una variazione di lunghezza in un segnale elettrico mediante la variazione della sua resistenza elettrica. La sensibilità di questo sensore è massima lungo la sua direzione principale, quindi per poter misurare la forza lungo direzioni diverse è necessario, in una stessa piattaforma, utilizzare trasduttori posizionati in modo diverso. Normalmente per ogni canale di misura sono posti quattro

estensimetri (con la stessa resistenza nominale) in configurazione a *ponte di Wheatstone* di massima sensibilità, che permette anche di minimizzare gli effetti termici.

I trasduttori piezoelettrici sfruttano la proprietà di alcuni cristalli (il più comune è il quarzo tagliato in dischi per aumentare la sensibilità) di generare una tensione quando vengono sottoposti a sollecitazioni meccaniche. Sono estremamente sensibili, però non risultano adatti a misurare carichi statici in quanto la carica accumulata a causa della sollecitazione si disperde nel tempo. Rispetto ai trasduttori estensi metrici, però, presentano il vantaggio di avere una risposta in frequenza migliore.

Piattaforme di forza basate su trasduttori estensimetrici sono prodotte prevalentemente da *Bertec* e *AMTI*, mentre *Kistler* è il maggior produttore di quelle che sfruttano tecnologie piezoelettriche.



Figura 2.21 Esempio di pedana di forza [55].

Con le pedane di forza si possono, quindi, misurare le tre componenti della forza e della coppia risultanti della reazione del suolo durante il cammino. Noto il vettore del carico è possibile calcolare le coordinate del punto di applicazione della forza, nel quale si annullano i momenti orizzontali. Il momento verticale rimanente è detto momento libero. Le componenti della forza più il momento libero sono le sollecitazioni che il suolo trasmette al corpo umano. Il punto di applicazione della forza è detto centro di pressione e rappresenta il centroide della distribuzione di pressione su tutta la superficie di appoggio del piede, importante per calcolare i momenti che si sviluppano alle articolazioni.

2.6 Elettromiografia

L'elettromiografia (EMG) è la misura dei segnali elettrici del muscolo; permette di indagare: i meccanismi di produzione dello stimolo contrattile e di generazione delle forze, i meccanismi di affaticamento, le strategie motorie.

L'elettromiografo è uno strumento necessario per la misurazione dei potenziali elettrici che si formano in un muscolo durante la sua contrazione, detti potenziali d'azione. Questi potenziali sono generati dalla depolarizzazione elettrica delle fibre muscolari in risposta all'arrivo di un impulso elettrico alla sinapsi neuromuscolare.

Esistono due tipi di elettromiografi: interstiziale o di superficie.

L'EMG interstiziale, che utilizza elettrodi ad inserzione ad ago o a filo, permette frequenze di acquisizione elevate e l'indagine di muscoli sia superficiali che profondi.

L'EMG ad ago utilizza aghi più o meno lunghi inseriti nei muscoli da studiare per registrarne l'attività sia a muscolo rilassato sia durante la contrazione. Si utilizzano principalmente elettrodi ad ago concentrico in configurazione bipolare: due fili isolati inseriti in una cannula, il polo di riferimento è all'esterno, mentre la parte centrale a contatto con il muscolo è il polo attivo. La piccola area di rilevazione permette di indagare i potenziali di azione delle singole unità motorie. La forma ad ago permette, inoltre, di studiare muscoli profondi.

L'elettrodo a filo, a forma di laccio, robusto ma sottile, può essere fissato all'interno del muscolo senza che l'ago debba rimanere conficcato: è, dunque, meno invasivo e meno fastidioso dell'elettrodo ad ago. Un doppio filo isolato viene inserito nella cannula di un ago, lasciando scoperte le parti in prossimità della punta; è poi ripiegato all'indietro formando un gancio. L'ago, inserito nel muscolo, è poi estratto lasciando il cavo inserito nel muscolo; in tal modo non è necessaria l'anestesia. Le principali problematiche di questa tecnologia sono la scarsa ripetibilità delle misure ottenute in inserzioni successive e la possibilità che l'elettrodo migri rispetto alla posizione originaria.

L'EMG di superficie (SEMG) è una tecnologia non invasiva, più economica e di facile applicazione. Rispetto all'EMG interstiziale è, però, caratterizzata da una banda limitata (20-500 Hz), permette la rilevazione dei soli muscoli superficiali e rende necessaria la preparazione della cute. Con il SEMG non è possibile individuare l'attività della singola unità motoria, ma il segnale che viene misurato è dato dall'attività di un gruppo di MU (*motor unit*). Gli elettrodi impiegati possono essere: singoli, ad *array*, a matrice. Gli elettrodi singoli sono tipicamente impiegati in configurazione bipolare: due elettrodi a contatto con il muscolo, un terzo posto come riferimento; migliorano la risoluzione spaziale e permettono la reiezione dei disturbi, al contrario della configurazione unipolare. Gli elettrodi ad *array* ed a matrice permettono di ottenere mappe di EMG, ovvero la distribuzione del potenziale lungo tutto il fascio, rendendo possibile l'identificazione della zona di innervazione.

2.7 Analisi del ciclo del passo

In questa Tesi verrà posta particolare attenzione all'analisi cinematica del cammino [46], valutando quantitativamente alcuni aspetti della deambulazione, fondamentali nell'analisi della limitazione funzionale del soggetto conseguente alla patologia e agli effetti dell'intervento riabilitativo.

Il cammino è caratterizzato da un pattern di attività motoria ciclica e la sua valutazione clinica consente di analizzare il comportamento dei diversi distretti articolari e/o segmenti durante le singole fasi del ciclo del passo (*gait cycle*).

Il ciclo del passo, o semplicemente passo, rappresenta l'unità funzionale di riferimento nell'analisi del cammino. Esso è definito dall'intervallo di tempo tra due contatti iniziali successivi dello stesso piede e rappresenta il riferimento temporale in cui vengono descritti tutti gli altri eventi biomeccanici e di attività muscolare. Ogni passo comprende due semipassi, ognuno dei quali si riferisce ad uno dei due arti ed è l'intervallo compreso tra il contatto iniziale dei due piedi.

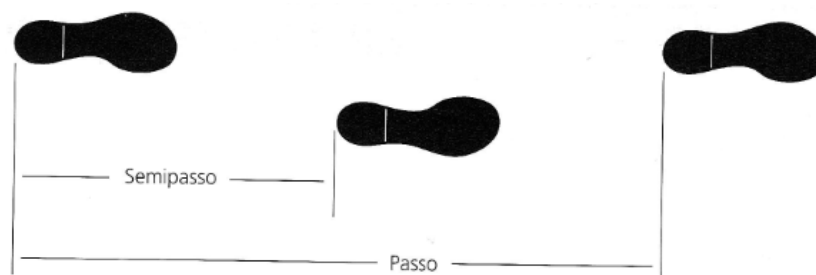


Figura 2.22 Passo (*gait*) e semipasso (*stride*) [46].

Ogni ciclo del cammino è suddiviso in due periodi principali, detti fasi del passo: l'appoggio, o stance, e l'oscillazione, o swing. La prima rappresenta l'intervallo di tempo durante il quale il piede rimane in contatto con il terreno (normalmente rappresenta il 60\% del ciclo ed inizia con il contatto iniziale). La seconda rappresenta l'intervallo di tempo durante il quale l'arto è sospeso e si produce la progressione in avanti dell'arto (in una camminata normale circa il 40\% del ciclo ed inizia quando il piede si distacca dal suolo, "toe off").

Ogni passo è contraddistinto da due fasi di doppio appoggio, ognuna della durata di circa il 10% del passo e una di appoggio singolo, che rappresenta il 40\% del ciclo. La presenza di una fase di doppio appoggio distingue la camminata dalla corsa. L'appoggio singolo su un arto equivale all'oscillazione dell'altro arto, in quanto avvengono contemporaneamente. Sia la durata della fase di appoggio che la durata di quella di oscillazione, sono inversamente proporzionali alla velocità del cammino: aumenta la durata al diminuire della velocità.

In passato, nell'analisi del cammino, si utilizzavano i normali eventi del passo per distinguere le varie fasi; tuttavia tale metodologie è di difficile applicazione nell'analisi di soggetti patologici, (ad esempio, in un paziente affetto da paralisi, potrebbe non verificarsi mai il contatto del tallone, che identifica l'inizio dell'appoggio).

Attualmente si adotta una suddivisione del ciclo del passo in otto fasi, ognuna delle quale ha un preciso obiettivo funzionale ed è caratterizzata da uno schema di movimento sinergico delle diverse articolazioni. Questo approccio permette di interpretare gli effetti funzionali della disabilità, analizzando sia gli angoli articolari, sia i parametri temporali (una postura appropriata in una fase, può determinare una disfunzione in un altro momento del passo).

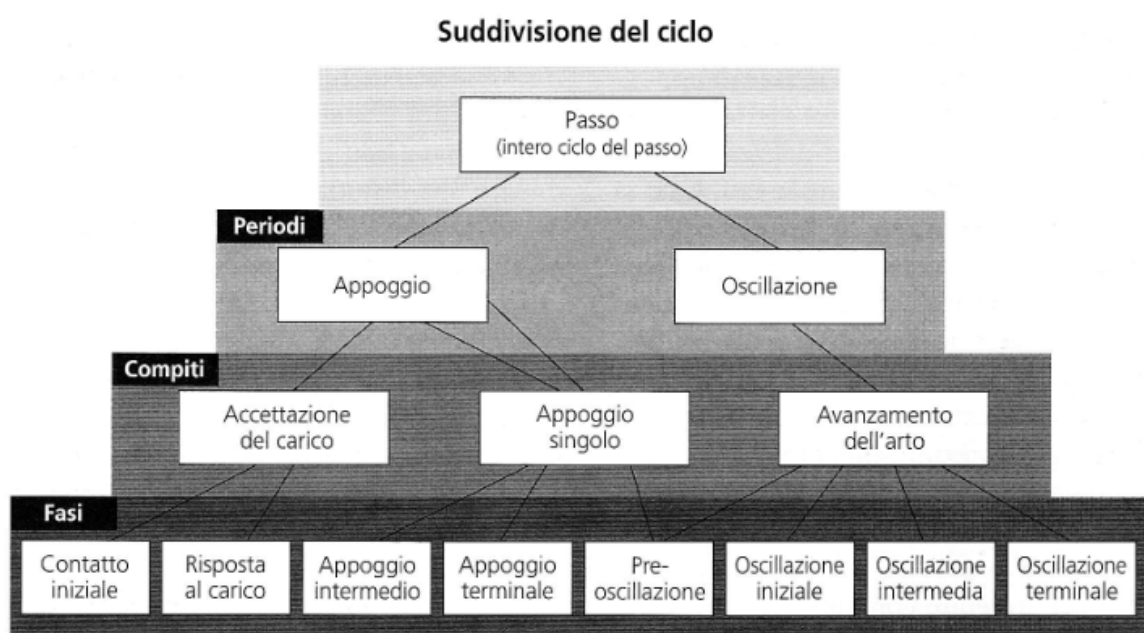


Figura 2.23 Suddivisione del ciclo del passo in periodi, compiti e fasi [46].

La sequenza di queste otto fasi permette all'arto di effettuare i tre compiti base: l'accettazione del carico, l'appoggio singolo e l'avanzamento dell'arto.

Le prime due fasi sono coinvolte nell'accettazione del carico, compito caratterizzato dalle più elevate richieste funzionali, in quanto la difficoltà è rappresentata dall'immediato trasferimento del peso del corpo su un arto che ha appena terminato l'oscillazione ed è quindi in configurazione instabile.

1 - contatto iniziale, o *initial contact* (0 – 2 \% del ciclo del passo): comprende il momento in cui il piede, normalmente il tallone, viene a contatto con il suolo, permettendo l'inizio dell'appoggio con il rotolamento del calcagno.

2 - risposta al carico, o *loading response* (0 – 10\%): periodo iniziale di doppio appoggio, dal contatto iniziale al suolo continua finché l'altro piede viene sollevato per l'oscillazione. È una fase di decelerazione durante la quale il piede si appoggia per intero al terreno e la caviglia ha una leggera flessione dorsale in risposta al carico sull'arto del peso del corpo; in tal modo si conserva la progressione, garantendo l'assorbimento dell'impatto e la stabilità sotto carico.

La fase 3 e 4 contraddistinguono l'appoggio singolo, intervallo nel quale un arto sostiene tutto il peso del corpo sia sul piano sagittale sia su quello frontale, permettendo la contemporanea progressione.

3. appoggio intermedio, o *mid – stance* (10 – 30\%): inizia con lo stacco del piede contro laterale (termina la fase di doppio supporto) e termina quando il piede è interamente supportato dal calcagno, dalle teste metatarsali e dalle dita. Il ginocchio è mantenuto in estensione dalla contrazione del quadricipite, mentre la caviglia si flette per azione del tibiale anteriore;

4. appoggio terminale o *terminal stance* (30 – 50\%): questa fase conclude l'appoggio singolo, infatti inizia con il sollevamento del tallone e termina quando l'arto controlaterale tocca il suolo. Il peso del corpo viene trasferito oltre l'avampiede: l'arto ha superato la verticale e il corpo comincia a cadere in avanti, il ginocchio si flette lievemente sotto il suo peso e il centro di gravità si abbassa;

Le ultime quattro fasi sono proprie dell'avanzamento dell'arto, che successivamente oscilla attraverso tre differenti momenti di sollevamento, avanzamento e preparazione per il successivo appoggio.

5. preoscillazione o *pre swing* (50 – 60\%): è l'ultimo periodo della fase di *stance*, corrisponde al secondo doppio supporto. Incomincia con il contatto iniziale del piede opposto e termina con il distacco delle dita dell'arto in appoggio (*toe – off*). In questa fase si ha il rapido scarico del peso corporeo dall'arto che ora non fornisce alcun contributo attivo, preparandolo all'oscillazione;

6. oscillazione iniziale o *initial swing* (60 – 73\%): è il primo periodo (circa un terzo) della fase di *swing*; il piede è sollevato dal terreno, l'arto si muove in avanti con una leggera dorsiflessione del piede. Il periodo termina quando l'arto oscillante è parallelo al piede in appoggio;

7. oscillazione intermedia o *mid swing* (73 – 87\%): è la seconda fase del periodo di oscillazione e comprende l'avanzamento dell'arto dal momento in cui l'arto oscillante è opposto all'arto in carico, fino al momento nel quale l'arto in oscillazione avanza e la tibia risulta verticale. La caviglia si flette per azione del tibiale anteriore e recupera l'estensione che aveva spinto il corpo in avanti alla fine dell'appoggio. Quindi l'arto avanza e il piede si solleva dal suolo;

8. oscillazione terminale o *terminal swing* (87 – 100\%): l'arto decelera per un corretto preposizionamento che lo prepara alla successiva fase di appoggio. È la fase finale dell'oscillazione, inizia con la tibia verticale e termina quando il tallone in esame tocca il

suolo. L'avanzamento dell'arto è completo quando la gamba si trova davanti alla coscia.

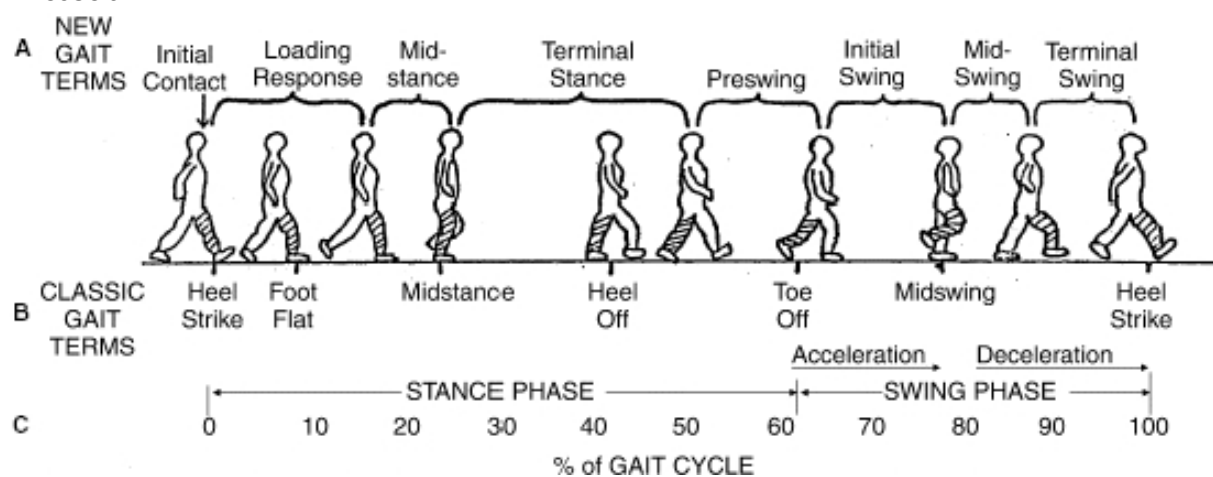


Figura 2.24 Suddivisione del ciclo del passo in fasi, secondo la nuova terminologia (A) e quella classica (B), e loro durata percentuale rispetto al ciclo del passo (C) [46].

3. fMRI

In questo capitolo si descrivono le basi fisiologiche sulle quali si fonda l'analisi di risonanza magnetica funzionale. Le immagini funzionali acquisite dalla strumentazione di MRI devono essere sottoposte ad una serie di elaborazioni preliminari, al fine di rimuovere dai dati la variabilità che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali e di rendere le immagini utilizzabili per analisi statistiche; queste fasi di *pre-processing*, unitamente ad alcune delle principali strategie di analisi statistica, sono illustrate in questo capitolo [47-50].

3.1 Introduzione

Lo studio delle funzioni del cervello è uno degli interessi più affascinanti delle scienze moderne. Da più di 100 anni i neuroscienziati hanno cercato di capire sempre più come questo organo è funzionalmente organizzato e come si modifica con la crescita e in seguito a patologie.

Gli strumenti utili ad indagare l'attività neurale, però, si sono sviluppati solo recentemente. Prima dell'avvento delle tecniche di *neuroimaging*, lo studio del funzionamento del cervello si basava sull'analisi degli effetti delle lesioni (ad esempio, Broca riconobbe che il lobo frontale inferiore sinistro è strettamente implicato nella capacità di linguaggio esaminando la lesione di un paziente) o di farmaci (permettono, in particolare, lo studio di malattie, come quella di Parkinson, non legate a lesioni; non permettono, però, di analizzare il funzionamento specifico delle diverse aree) sul comportamento neurale. È possibile simulare un danno cerebrale tramite la stimolazione magnetica transcranica (TMS): facendo passare della corrente in una bobina elettromagnetica posta vicino allo scalpo, si genera un campo magnetico che produce una corrente in un'area ristretta del cervello in grado di interrompere transitoriamente il loro funzionamento. Altre tecniche disponibili sono l'elettroencefalografia (EEG), ovvero la misura dei potenziali elettrici del cervello attraverso elettrodi posti sulla superficie dello scalpo, e la magnetoencefalografia (MEG), che misura i minimi cambiamenti dei campi magnetici determinati dall'attività elettrica dei neuroni. Queste tecniche permettono di rilevare i velocissimi cambiamenti dei potenziali elettrici e dei flussi magnetici causati dai processi neurali (quindi per studiare il timing dei processi neurali), ma devono sottostare al compromesso necessario tra invasività ed accuratezza nella localizzazione spaziale, che risulta limitata. Con la EEG, ad esempio, è possibile studiare l'attività di singoli neuroni, ma ciò richiede il posizionamento dell'elettrodo in vivo all'interno del cervello che è possibile solo in studi su animali o in casi di grave epilessia.

Lo sviluppo delle tecniche di fMRI ha inizio negli anni '20 e '40 del secolo scorso, con l'individuazione della presenza di proprietà magnetiche dei nuclei degli atomi e della

possibilità di manipolarle (nel 1924 Pauli introduce i concetti di momento di *spin* e momento magnetico; nel 1937 Rabi postula la presenza della frequenza di risonanza magnetica). Nel 1952 Bloch e Purcell vincono il premio Nobel per la fisica grazie ai loro studi, separati ma contemporanei, nei quali riuscirono a misurare i cambiamenti delle proprietà atomiche di nuclei sottoposti all'applicazione di un campo magnetico oscillante alla frequenza di risonanza dei nuclei: sono la base delle moderne tecniche di MRI. È nel 1971 che si ottengono le prime misure di NMR su tessuti biologici e nel 1985 la FDA approva l'utilizzo degli scanner MRI per uso clinico. Da allora lo sviluppo è stato repentino, spinto dagli indubbi vantaggi che la tecnica di MRI possiede rispetto alle altre tecniche di *imaging*: elevata risoluzione spaziale sia per tessuti ossei che molli, non richiede radiazioni ionizzanti (al contrario delle scansioni CT o con raggi X), permette di ottenere immagini in ogni piano del corpo.

Le neuroimmagini funzionali sono disponibili da prima dell'avvento della fMRI: prima dell'ultimo decennio la tecnica maggiormente usata è stata la PET (*positron emission tomography*), che si basa sull'iniezione di traccianti radioattivi per misurare le dinamiche nel cervello, incluso il flusso sanguigno e/o il metabolismo del glucosio e con la quale è possibile identificare le aree del cervello metabolicamente associate con una funzione motoria, cognitiva e percettiva. Tuttavia, l'invasività delle iniezioni radioattive, l'elevato costo per produrre gli isotopi e la bassa velocità con la quale è possibile acquisire le immagini, ne hanno limitato l'applicabilità, anche se rimane una tecnica fondamentale.

Il rapido inserimento della MRI nella pratica clinica, ed il suo progresso tecnologico (migliorando l'hardware degli scanner e le sequenze di stimolo si sono ridotti drasticamente i tempi di acquisizione) hanno creato un ambiente favorevole allo sviluppo delle tecniche fMRI. È nel 1990 che Ogawa propone l'uso del contrasto BOLD come segnale base per la fMRI e nel 1992 viene utilizzato per la prima volta in alcuni studi scientifici.

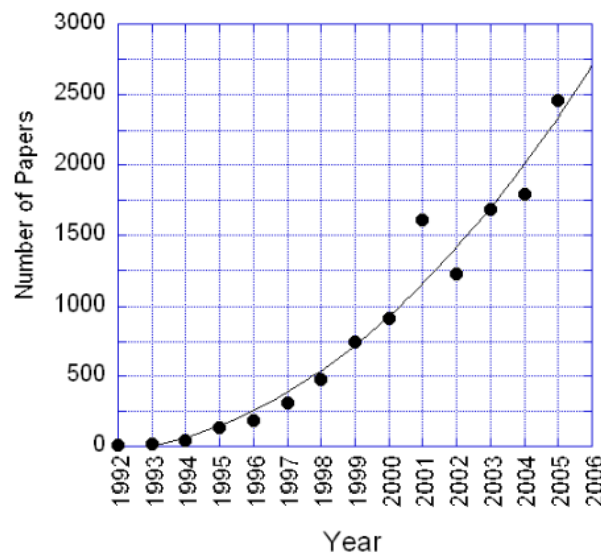


Figura 3.1 Evoluzione del numero di pubblicazioni per anno riguardanti la tecnica fMRI o la sua applicazione.

Oggi la maggior parte degli studi di fMRI misura i cambiamenti dell'ossigenazione del sangue nel tempo (segnale BOLD), che avvengono rapidamente in seguito all'attività dei neuroni; la fMRI consente ai ricercatori di localizzare l'attività del cervello secondo

dopo secondo e con un'accuratezza di pochi millimetri. In più, la fMRI è una tecnica non invasiva, in quanto le variazioni dell'ossigenazione sanguigna avvengono intrinsecamente (in modo endogeno) in modo fisiologico; per questo è possibile ripetere l'esame sul soggetto ogni volta che se ne ha bisogno, senza controindicazioni tipiche della PET o della CT. Oltre alle caratteristiche di non invasività e di buona risoluzione spaziale e temporale, la tecnica fMRI è applicabile ad una gran varietà di paradigmi sperimentali diversi. Per questi motivi, nell'ultimo decennio si è assistito ad un rapido crescente utilizzo della fMRI come uno strumento primario per lo studio del funzionamento del cervello umano in vivo, coinvolgendo un'estesa interdisciplinarietà scientifica. Oltre ai progressi tecnologici dell'hardware necessario, i futuri progressi della tecnica fMRI si avranno se si metteranno a punto strategie per l'analisi di dati sempre più raffinate.

3.2 Il segnale BOLD e la risposta emodinamica (HDR)

Per ottenere delle neuroimmagini è necessario poter misurare dei marcatori fisiologici dell'attività del cervello. In generale, ci sono due tipologie di marcatori a disposizione per i fisiologi: le conseguenze dirette dell'attività neurale, come le variazioni dei potenziali elettrici o dei gradienti chimici, e le variazioni metaboliche correlate con l'attività neurale, quindi non direttamente l'attività. La MRI funzionale appartiene alla seconda tipologia, in quanto misura il livello di ossigenazione del sangue che varia a seconda della richiesta metabolica dei neuroni attivi, ovvero il segnale BOLD.

Nel 1936, il chimico e premio Nobel Linus Pauling ed il suo allievo Charles Coryell, scoprirono che le molecole di emoglobina possiedono proprietà magnetiche differenti nel caso in cui esse siano legate, o meno, all'ossigeno. L'emoglobina ossigenata (Hb) è diamagnetica, ovvero non possiede elettroni spaiati ed ha momento magnetico nullo; l'emoglobina deossigenata (dHb), invece, è paramagnetica, quindi possiede elettroni spaiati e momento magnetico non nullo. Il sangue completamente deossigenato è caratterizzato da una suscettibilità magnetica (intensità della magnetizzazione del materiale, quando posizionato all'interno di un campo magnetico) di circa il 20% maggiore rispetto a quella del sangue completamente ossigenato. La BOLD fMRI sfrutta questa proprietà magnetica dell'emoglobina, utilizzata come mezzo di contrasto endogeno.

L'introduzione di un materiale con suscettibilità magnetica all'interno di un campo magnetico, causa lo sfasamento degli *spin*, determinando un decadimento della magnetizzazione trasversale che dipende dalla costante temporale $T2^*$. La deossigenazione del sangue, modificando la suscettibilità magnetica, fa variare il segnale MR $T2^*$ -pesato misurato, che diminuisce con l'aumentare della deossigenazione.

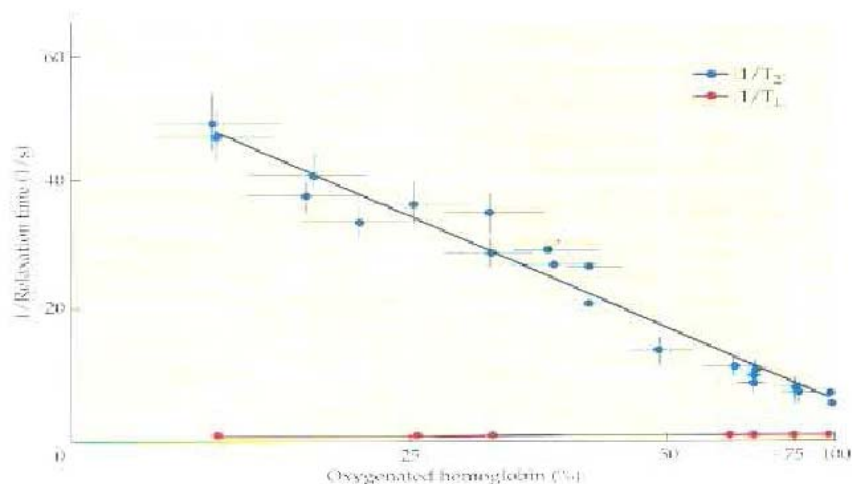


Figura 3.2 Effetto dell'ossigenazione del sangue sulle costanti di rilassamento: all'aumentare dell'ossigenazione, la costante longitudinale ($1/T_1$) rimane invariata, mentre quella trasversale ($1/T_2$) diminuisce.

Infatti, come mostrato dalla figura 3.1, le costanti di rilassamento trasversale e longitudinale vengono influenzate in maniera diversa dalla presenza dell'emoglobina deossigenata. La costante di rilassamento longitudinale, indicata con $1/T_1$, non viene influenzata; al contrario, la costante di rilassamento trasversale, $1/T_2$, diminuisce all'aumentare dell'ossigenazione, ovvero in presenza di un'alta concentrazione di deossiemoglobina il valore di T_2 diminuisce.

Nel 1982, Thulborn sperimentalmente dimostrò che l'ampiezza di questo effetto aumenta con la radice quadrata dell'intensità del campo magnetico statico. Per questo motivo, con campi magnetici a bassa intensità (meno di 0,5T) si notano solo piccole differenze tra i valori di rilassamento trasversale relativi al sangue ossigenato e quelle relative al sangue deossigenato; per campi più intensi (almeno 1.5T), invece, tali valori differiscono significativamente. Alla luce di questi risultati è evidente come siano necessari campi magnetici statici ad elevata intensità per ottenere immagini MR T_2^* -pesate del sangue significative.

Alla fine degli anni '80, presso i *Bell Laboratories* (USA), Ogawa, mediante test su animali, vagliò la possibilità di utilizzare immagini MR per studiare direttamente i processi fisiologici.

Le immagini MR standard sono generate sfruttando le proprietà degli atomi idrogeno, il quale, però, costituente le molecole di acqua presenti in gran quantità all'interno del corpo umano, preclude la possibilità di apprezzare minimi cambiamenti della sua concentrazione associati alle reazioni metaboliche. Per questo motivo, le immagini fMRI devono essere sensibili a qualche misura indiretta del metabolismo. Di conseguenza si è proposto di utilizzare il flusso sanguigno, in quanto i processi metabolici richiedono ossigeno che viene fornito attraverso l'emoglobina contenuta all'interno dei globuli rossi. Basandosi sull'evidenza che la presenza di sangue deossigenato decrementa il segnale MR T_2^* -pesato misurato, Ogawa ipotizzò che manipolando la proporzione del sangue ossigenato si riuscisse a modificare la visibilità dei vasi sanguigni nelle immagini T_2^* -pesate.

Il segnale determinato dall'effetto della diversa suscettibilità magnetica del sangue ossigenato e di quello non ossigenato è stato chiamato, da Ogawa, *BOLD* (*blood-*

oxygenation-level dependent) contrast ed è su questo che si basano misure dei cambiamenti funzionali dell'attività cerebrale effettuate in fMRI.

Ogawa ipotizzò due possibili meccanismi non-esclusivi alla base del *BOLD contrast*:

- cambiamenti del metabolismo dell'ossigeno: l'attività neuronale causa un rafforzamento della domanda metabolica, incrementando il consumo di ossigeno; ciò aumenta la quantità relativa di emoglobina deossigenata, dato che il flusso sanguigno rimane costante;
- cambiamenti del flusso sanguigno: un aumento di flusso sanguigno, in assenza di aumento della domanda metabolica, decrementa la quantità relativa di emoglobina ossigenata.

Si è verificato come il contrasto BOLD dipende dalla quantità totale di emoglobina presente in una regione cerebrale, che è frutto dal bilanciamento tra consumo e apporto di ossigeno.

Anche se sembra ragionevole che l'aumento di attività neurale determini un aumento del consumo di ossigeno e quindi una diminuzione del segnale MR, le osservazioni sperimentali di Ogawa (confermata da altri studiosi) dimostrano quanto queste relazioni siano assai più complesse: infatti, durante un aumento di attività nervosa, si misura addirittura un aumento del segnale MR, indicando che l'attivazione determina un aumento dell'ossigenazione del sangue. Questo comportamento si spiega analizzando più in profondità i rapporti tra flusso sanguigno cerebrale, livello di ossigenazione del sangue e metabolismo; tuttavia non esiste ancora un modello universalmente accettato del rapporto tra contrasto BOLD, flusso sanguigno e apporto di ossigeno.

Una spiegazione può essere postulata in seguito al fatto che si è misurato che una piccola frazione del glucosio portato dal flusso sanguigno ai neuroni non è metabolizzata in modo ossidativo, ma tramite glicolisi anerobica, più inefficiente ma più rapida rispetto al processo aerobico. Tale discrepanza tra metabolismo del glucosio e flusso sanguigno, che dipende dalla tipologia di stimolo e quindi di attività nervosa e dalla sua durata, ha implicanze talvolta apprezzabili nel segnale BOLD, anche se l'effetto non è ancora completamente chiaro.

Questa evidenza permette di spiegare perché il segnale MR aumenta durante l'attività neurale anche se l'emoglobina deossigenata causa la sua diminuzione, ovvero che l'apporto di ossigeno è maggiore del suo consumo nell'area attivata. Nelle regioni neurali attive, il flusso sanguigno apporta sangue ossigenato ed elimina l'emoglobina deossigenata. Quindi il contrasto BOLD a seguito di attività neurale, non deve essere pensato come conseguenza dell'incremento del segnale MR dovuto all'aumento di emoglobina ossigenata, ma perché questa rimpiazza l'emoglobina deossigenata che aveva soppresso il segnale MR.

Sono state proposte, principalmente, tre diverse spiegazioni della discrepanza tra il consumo di glucosio e l'utilizzazione di ossigeno.

Nel 1996, Malonek e Grinvald hanno mostrato che, in seguito a stimolo nervoso, la variazione di emoglobina ossigenata e deossigenata segue un andamento differente nel tempo. La concentrazione di emoglobina deossigenata aumenta rapidamente raggiungendo un picco circa 2s dopo lo stimolo e poi rapidamente decresce fino a raggiungere, a 6s dopo lo stimolo, un valore nettamente più basso di quello di fondo pre-stimolo. Al contrario, l'emoglobina ossigenata risponde con un leggero ritardo, ma raggiunge un valore di picco nettamente maggiore dopo circa 5-6s. In più, tale

aumento dell'emoglobina ossigenata si registra in un'area molto più estesa di quella interessata dall'attività nervosa.

I loro risultati portano a giustificare il disaccoppiamento tra metabolismo del glucosio e dell'ossigeno non come determinato dall'incremento di glicolisi anaerobica, ma come effetto di una sovra-perfusione di sangue ossigenato, maggiore della richiesta metabolica e in una regione spaziale più estesa di quella attivata, limitando la risoluzione spaziale della fMRI.

Due studi indipendenti hanno descritto come una rapida fase iniziale di risposta neurale, caratterizzata da glicolisi anaerobica, sia strettamente accoppiata con l'incremento del rilascio di glutammato (principale neurotrasmettitore eccitatorio nel cervello) da parte dei neuroni. Questo modello, quindi, ipotizza che i neuroni adottino transitoriamente un metodo rapido ma inefficiente (glicolisi anaerobica) per produrre ATP quando l'attività nervosa aumenta improvvisamente e poi eliminino il glutammato dalla sinapsi per evitare danni eccitotossici. Poi, al prolungarsi dello stimolo, il cervello, utilizzando il lattato come un prodotto finale della glicolisi anaerobica, adotta il metabolismo ossidativo, sistema di produzione di ATP più efficiente ma più lento.

Una terza spiegazione della disparità tra consumo di glucosio e utilizzo di ossigeno, anch'essa che non riconosce come causa l'azione del metabolismo anaerobico, è stata formulata nel "modello del tempo di transito". Tale modello si basa su quattro assunzioni:

- l'aumento del flusso sanguigno in risposta all'attività neurale è determinato dall'aumento della sua velocità, piuttosto che dall'incremento del numero di capillari tramite i quali il sangue fluisce;
- il trasporto dell'ossigeno dal sangue al tessuto cerebrale è limitato da diversi fattori, e la quantità di ossigeno estratto è proporzionale al tempo di transito nel letto capillare. All'aumentare della velocità del sangue il tempo di transito diminuisce;
- virtualmente tutto l'ossigeno estratto dai capillari è metabolizzato, perciò non c'è riserva di ossigeno nel tessuto cerebrale.
- non tutto il glucosio che entra nel tessuto cerebrale è metabolizzato.

L'aumento della velocità del flusso sanguigno, in seguito ad attività neurale, riduce il tempo di transito del sangue diminuendo la probabilità totale che ciascuna molecola di ossigeno venga estratta. La velocità di trasferimento dell'ossigeno ai tessuti è perciò una funzione non lineare della velocità del flusso. Per questo, per determinare un piccolo incremento della quantità di ossigeno estratto è necessario un incremento sproporzionalmente maggiore di flusso sanguigno.

L'estrazione di glucosio è limitata dal tempo di transito più di quanto non lo sia l'ossigeno. Tuttavia ciò non determina una limitazione della disponibilità di glucosio, in quanto solo meno della metà del glucosio estratto dai capillari è di fatto metabolizzata. Perciò, la quantità di glucosio estratta dai capillari non equivale alla quantità metabolizzata nelle cellule del cervello.

Il segnale BOLD è un incremento positivo del segnale nel tempo; nella sua fase iniziale, però, è contraddistinto da un piccolo decremento, chiamato "*initail dip*" (figura 3.3). Questo picco negativo iniziale non è riportato in tutti gli studi fMRI, ma solo sporadicamente. Si è osservato essere decisamente più visibile in studi con campi magnetici elevati (tre volte più evidente con 4T che con 1.5T), supportando l'idea che esso sia legato alla microcircolazione, il cui segnale aumenta con l'intensità del campo utilizzato molto più che quello dovuto ai vasi di dimensioni maggiori. Un'altra ipotesi è

che rappresenti un'estrazione di ossigeno anticipata rispetto all'aumento del flusso sanguigno, tuttavia il contrasto BOLD dipende anche dal flusso e dal volume sanguigno, oltre che dall'estrazione di ossigeno. Negli ultimi anni è andata rafforzandosi l'evidenza della presenza dell'*initial dip*; restano però ancora da chiarire con sicurezza il suo significato e la sua provenienza.

Le tre teorie presentate, che cercano di spiegare il disaccoppiamento tra consumo di glucosio e utilizzo di ossigeno, non prevedono direttamente la presenza dell'*initial dip*. In particolare, l'ipotesi di una iniziale risposta anerobica all'attivazione neurale, è inconsistente con la presenza di tale *initial dip*.

Al contrario, il modello di sovra-perfusione ematica può spiegare l'*initial dip*, se si ammette che esso rifletta il rapido incremento di emoglobina deossigenata causato dal consumo di ossigeno nelle vicinanze dei neuroni attivati.

Anche il modello del tempo di transito non spiega l'*initial dip*; ma il successivo "*balloon model*" descrive i cambiamenti del volume sanguigno che avvengono in funzione dell'aumento del flusso sanguigno durante l'attività cerebrale. L'aumento del flusso sanguigno in seguito all'attivazione neurale, causa un flusso entrante di sangue nel sistema venoso maggiore di quello uscente, determinando un aumento del volume sanguigno e quindi un'espansione ("come un palloncino") del sistema stesso. Nelle piccole vene l'aumento di volume iniziale è caratterizzato dalla presenza di emoglobina deossigenata, che è eliminata per prima dai capillari. Tale aumento di emoglobina deossigenata causa una perdita di segnale MR, quindi il *balloon model* predice l'*initial dip*. In tal caso, se osservato, l'*initial dip* non rappresenterebbe quindi un ulteriore indicatore spaziale riguardo la zona interessata dall'attivazione nervosa.

Tale spiegazione, però, implica una conseguenza importante per la risoluzione spaziale delle immagini fMRI.

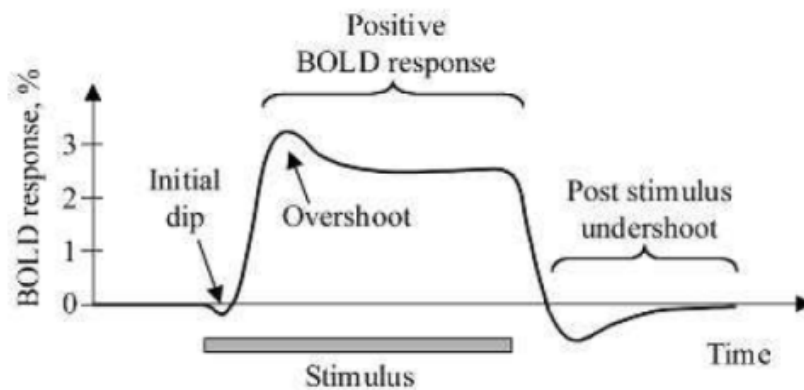


Figura 3.3 Risposta BOLD ad uno stimolo: si evidenziano l'*initial dip*, l'*overshoot* ed il *post-stimulus undershoot*.

La variazione del segnale MR misurato, innescata dall'attività neurale, è chiamata risposta emodinamica (*HDR: hemodynamic response*). La forma del HDR non è costante, ma varia a seconda delle proprietà dello stimolo che la genera e, presumibilmente, dell'attività neurale che ne scaturisce. Ci si aspetta che aumentando la frequenza di attivazione nervosa aumenti l'ampiezza del HDR, mentre aumentando la durata dell'attività nervosa aumenti la durata del HDR. È, comunque, difficile determinare l'esatta relazione tra gli eventi neurali che innescano un HDR e la forma del HDR stesso, in quanto le loro dinamiche sono differenti. Le risposte neurali corticali avvengono in poche decine di millisecondi dopo uno stimolo sensoriale, ma i primi

cambiamenti nel HDR non si osservano prima di 1-2 secondi. Perciò rivela in ritardo gli eventi che lo hanno determinato.

Schematizzazioni della tipiche forme del segnale HDR sono quelle mostrate nella figura sottostante.

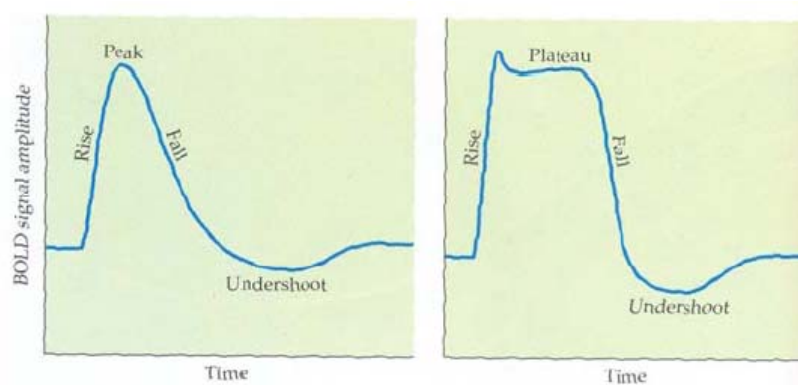


Figura 3.4 Risposta emodinamica ad uno stimolo impulsivo (a sinistra) e ad uno prolungato nel tempo (a destra).

Queste due diverse HDR sono state misurate in seguito a stimoli di durata differente: a sinistra è il caso di uno stimolo impulsivo, mentre la HDR a destra è stata generata in seguito ad uno stimolo di durata maggiore ed è caratterizzata da un *plateau* a livello alto e da un più evidente *undershoot*.

L'attività neuronale è molto veloce, ma il segnale misurato ha una durata molto maggiore, in quanto è generato da una sequenza di eventi che permettono di ottenere la HDR. L'evento misurato risulta di una durata dell'ordine dei 10s, quindi, ipotizzando un TR pari a 1.5s, con la fMRI si possono misurare quasi 10 campioni della HDR, con i quali ricostruirla.

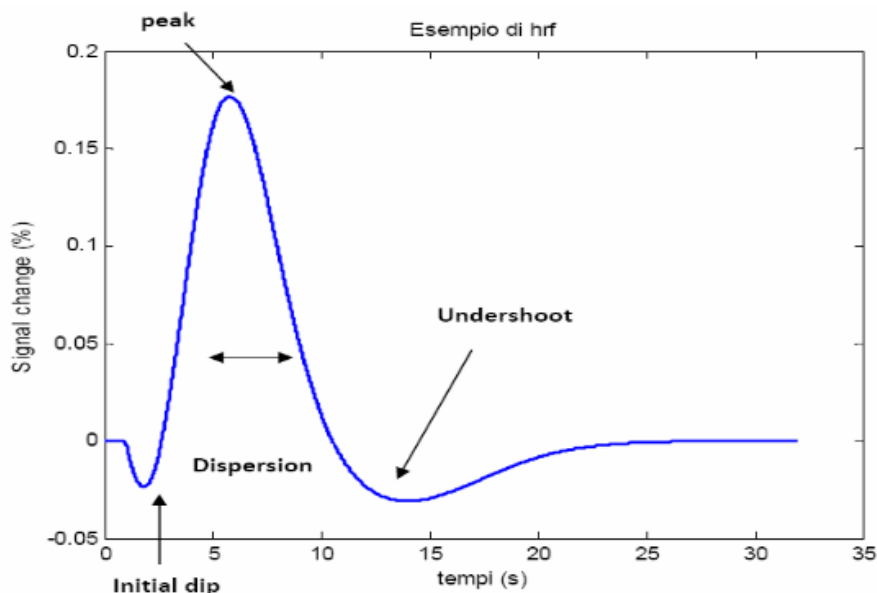


Figura 3.5 Durata temporale delle diverse fasi della risposta emodinamica.

In figura 3.5 si evidenzia anche l'*initial dip* della durata di 1-2 secondi dovuta ad un transitorio aumento della quantità di emoglobina deossigenata che, come si è descritto precedentemente, è stato osservato in alcuni studi fMRI.

Dopo un'iniziale latenza (con o senza presenza di *initial dip*), le richieste metaboliche aumentano l'attività neurale sopra i livelli basali determinando un aumento del flusso entrante di sangue ossigenato. Se l'apporto di sangue ossigenato all'area supera la sua estrazione, determina una diminuzione dell'emoglobina deossigenata all'interno del voxel. Di conseguenza il contrasto BOLD aumenta sopra il valore basale circa 2 secondi dopo l'inizio dell'attività nervosa, crescendo fino ad un valore di picco raggiunto circa dopo 5 secondi per stimoli di breve durata. Se l'attività neurale permane per un periodo di tempo, allora, come osservato precedentemente, il valore di picco si mantiene nel tempo determinando un plateau.

Dopo aver raggiunto il picco, il segnale BOLD diminuisce di ampiezza fino ad un valore inferiore a quello di *baseline* per un periodo di tempo esteso. Tale effetto è chiamato *undershoot* post-stimolo. La presenza di questo andamento è spiegata considerando le variazioni del flusso ematico (CBF) e del volume sanguigno (CBV) (figura 3.6).

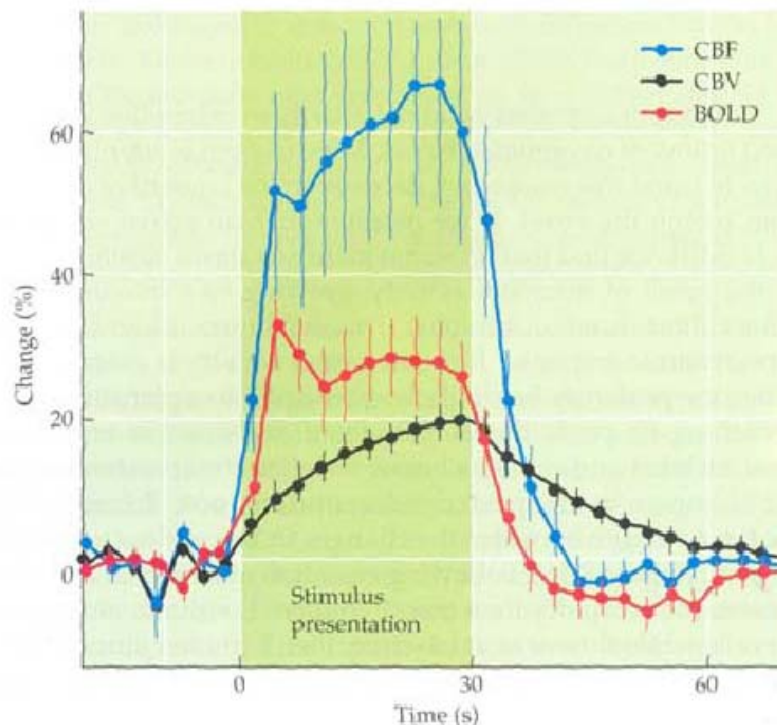


Figura 3.6 Andamento del segnale BOLD associato alle variazioni del flusso ematico (CBF) e del volume sanguigno (CBV).

Al termine dell'attività neurale, il flusso sanguigno diminuisce più rapidamente del volume ematico. Se il volume rimanesse sotto i livelli *baseline*, mentre il flusso fosse al livello basale, allora sarebbe presente una più grande quantità di emoglobina deossigenata. Perciò, il segnale fMRI complessivo sarebbe sotto il livello *baseline*. Con il lento ritorno del volume ematico a livelli normali, il segnale fMRI torna a crescere fino al livello basale, ponendo fine all'*undershoot*.

È bene ricordare che il segnale BOLD relativo ad un voxel riflette la quantità totale di emoglobina deossigenata presente, ma è influenzato anche dal rumore proveniente da diverse fonti. Spesso tale rumore raggiunge ampiezze dello stesso ordine di grandezza del segnale, determinando il principale problema nell'analisi dei segnali BOLD fMRI.

3.3 Disegno sperimentale

Il disegno sperimentale (*experimental design*) in fMRI è l'organizzazione della sessione di acquisizione, che permette ai ricercatori, modificano alcuni aspetti degli stimoli, di misurare le variazioni indotte nel segnale BOLD che sottendono alle ipotesi testate.

Principalmente esistono due tipologie di disegno sperimentale: "*blocked*" e "*event-related*".

Nel disegno sperimentale a blocchi ("*blocked design*") ogni stimolo è presentato in modo continuo per un intervallo temporale esteso, alternando nel tempo le diverse condizioni. Ad esempio si può pensare di reiterare l'alternanza di un blocco di "*task*" ed uno di "*rest*". Durante il blocco di "*task*" il soggetto è sottoposto ad una serie di stimoli successivi, che possono essere motori, sensitivi, cognitivi. Per poter ricavare informazione sulle aree attivate a causa dello stimolo (cioè del *task*), si confronta il BOLD acquisito durante i blocchi "*task*" con quello relativo ai periodi di riposo ("*rest*"). Alcuni protocolli possono prevedere che i blocchi di azione non siano tutti uguali fra loro ma relativi a differenti "*task*". Questa tipologia di disegno sperimentale, grazie al fatto che le risposte ai singoli stimoli ripetuti numerosamente si sommano fra loro in modo lineare, permette il miglior SNR e quindi ha alto potere di discriminazione dei *voxel*. Tuttavia è un metodo poco sensibile alla forma della HDR ed il suo uso è limitato ad alcune tipologie di *task*. Inoltre, durante i periodi di *task*, si rilevano frequentemente movimenti del soggetto che inficiano la qualità del segnale acquisito.

Nel disegno sperimentale *event-related* gli stimoli sono presentati uno alla volta, non tutti assieme in blocchi. Il *task* ha quindi durata limitata e si presenta in maniera casuale sia nel tempo che nell'ordine di esecuzione (nel caso più *task* siano presenti nella stessa sessione). L'intervallo temporale che separa due successivi eventi, è detto *interstimulus interval* (ISI) e tipicamente assume valori nel range 2-20 secondi. Rappresentando la risposta ad un singolo evento, il segnale BOLD che si acquisisce è notevolmente più debole rispetto a quello relativo ad un blocco e più affetto da rumore. Per migliorare il SNR è, quindi, necessario ripetere diverse *run*, ovvero scansioni cerebrali complete. Il fatto di presentare lo stimolo in maniera *random*, consente di evitare la possibilità che il soggetto instauri fenomeni di apprendimento che possano dar luogo all'instaurarsi di strategie neurali compensatorie. Inoltre è per sua natura un metodo molto flessibile. Permette, poi, di stimare efficacemente l'andamento temporale della risposta emodinamica, in quanto tra uno stimolo e l'altro il segnale BOLD ha tempo di tornare al livello basale. Se, però, due eventi successivi si susseguono ad una distanza non corretta, la HDR misurata è non corretta; il valore dell'ISI è dunque cruciale, ma spesso non è possibile stabilire a priori quale può essere il suo valore ottimale.

Si può adottare anche un disegno sperimentale misto ("*mixed design*") nel quale gli stimoli sono presentati in modo casuale all'interno di blocchi temporali. Potenzialmente questo metodo può permettere la maggior potenza sperimentale, ma il grosso limite alla sua applicabilità è costituito dalla complessa fase di analisi richiesta.

Appare evidente come non esista un disegno sperimentale ottimale, ma come la scelta dipenda dallo scopo del singolo esperimento fMRI.

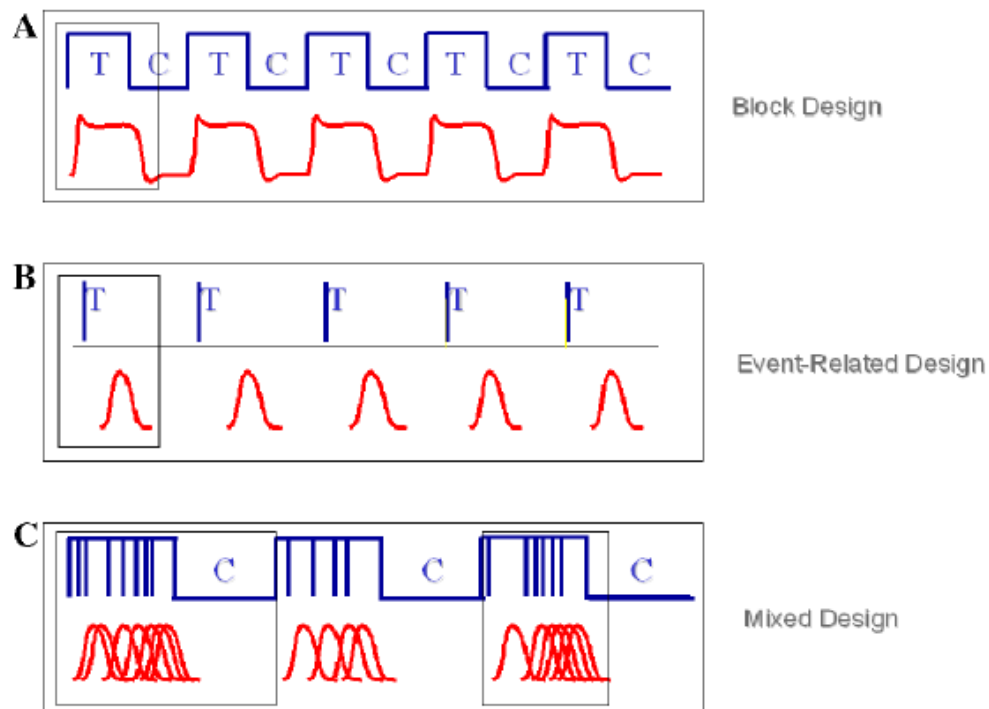


Figura 3.7 Disegno sperimentale di fMRI a blocchi (in alto), *event-related* (in mezzo) e *mixed* (in basso). In blu l'alternarsi di *rest* e *task*, in rosso la risposta emodinamica attesa.

3.4 Preprocessing dei dati fMRI

Per poter utilizzare le immagini ricostruite dai segnali rilevati dallo strumento di risonanza magnetica, è necessario applicare ad essi delle procedure computazionali prima dell'analisi statistica che permette di individuare le aree del cervello che si sono attivate. Questi step di *preprocessing* hanno principalmente due scopi. Il primo è quello di rimuovere dai dati la variabilità che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali. Tutti i dati fMRI, infatti, sono soggetti a in accuratezze spaziali e temporali di intensità spesso sovrapponibile a quella del segnale HDR, causate, ad esempio, dal movimento della testa, da oscillazioni fisiologiche come il battito cardiaco e la respirazione, da in omogeneità del campo stato, da differenze nella temporizzazione dell'acquisizione delle immagini. Riducendo la variabilità totale del segnale, si aumenta il *signal-to-noise ratio* (SNR). Il secondo scopo del *preprocessing* è quello di rendere i dati utilizzabili per analisi statistiche.

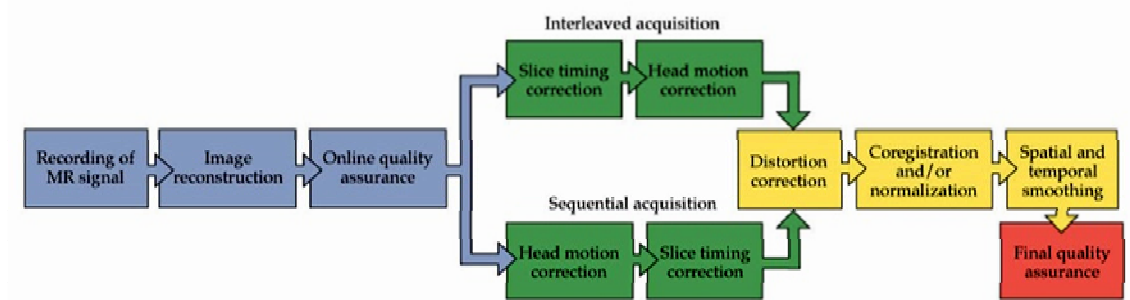


Figura 3.8 Diagramma a blocchi della sequenza delle diverse fasi previste per il *pre-processing* delle immagini fMRI.

3.4.1 Slice acquisition time correction

La maggior parte dei dati fMRI sono rilevati utilizzando sequenze di impulso bi-dimensionali, che permettono di acquisire una *slice* per volta, a causa dell'utilizzo di gradienti spaziali che limitano l'influenza dell'impulso di eccitazione ad una singola *slice* dell'intero cervello. Una tipica sequenza di impulsi permette di acquisire almeno 24 *slice* per descrivere l'intero cervello, con un TR di 1.5-3 secondi. Molte sequenze di impulsi utilizzano una "*interleaved slice acquisition*", in modo tale che lo scanner raccolga, ad esempio, prima le *slice* pari e poi quelle dispari. Altre sequenze sono invece di "*ascending/descending slice acquisition*", nelle quali le *slice* sono rilevate in ordine sequenziale. In entrambi i casi, differenti *slice* sono acquisite in differenti istanti temporali. Questo problema è rilevante in modo particolare per esperimenti che prevedono sequenze "*interleaved*" e un disegno *event-related*, meno per quello a blocchi, in quanto quest'ultimo si basa su un'accurata scelta del timing degli eventi sperimentali ed il segnale BOLD misurato è relativo ad intervalli temporali lunghi.

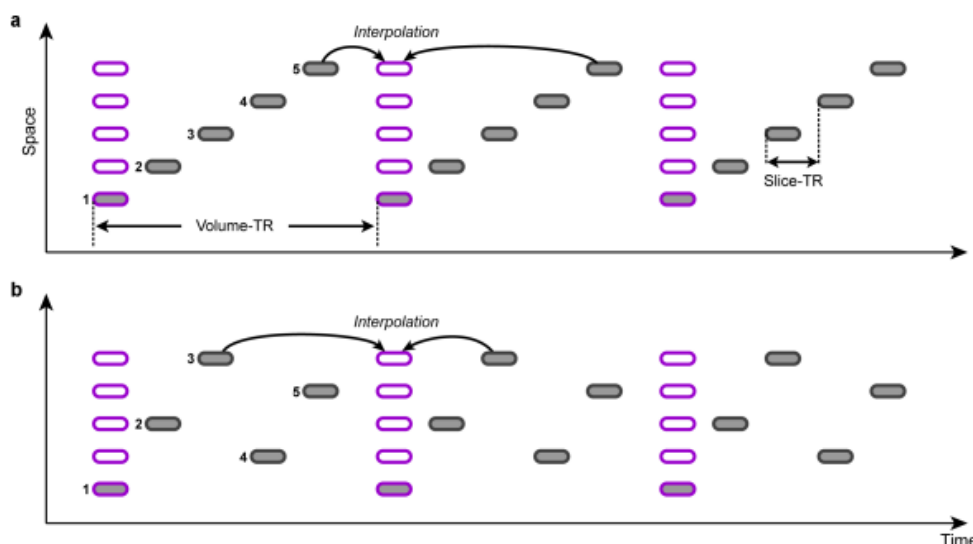


Figura 3.9 Sequenza di tipo *ascending* (in alto) e *interleaved* (in basso) per l'acquisizione delle *slice*.

Un possibile metodo per correggere questo problema consiste nel modificare la HDR prevista, in modo tale che ogni *slice* sia confrontata con una risposta emodinamica shiftata nel tempo.

In realtà, il metodo comunemente utilizzato si basa su interpolazioni temporali, siano esse lineari, o *spline*, o funzioni *sinc*. L'accuratezza dell'interpolazione dipende da due fattori: la variabilità nei dati sperimentale e la frequenza di campionamento. Se i dati sperimentali variano molto velocemente nel tempo rispetto alla frequenza di campionamento, l'interpolazione non è in grado di catturare i rapidi cambiamenti dei valori tra due punti temporali successivi. Dati i tipici valori di variazione temporale dei dati di fMRI, l'interpolazione si rivela molto più efficace per dati acquisiti con TR relativamente bassi (circa 1 secondo) rispetto a dati raccolte con lunghi TR (maggiori di 3 secondi). La richiesta di un'interpolazione accurata è maggiore per TR lunghi, a causa dei lunghi intervalli temporali tra acquisizioni successive.

Se i dati sono stati acquisiti con modalità *interleaved* a TR elevato, la correzione dello *slice-timing* va effettuata prima della correzione dei movimenti della testa; ciò minimizza gli errori di *timing*, anche se aumenta la sensibilità ai movimenti della testa. Invece, per dati acquisiti utilizzando una sequenza *ascending/descending* con un TR breve, la correzione dei movimenti della testa andrebbe applicata dopo la correzione dello *slice-timing*; così facendo si minimizza gli effetti del movimento, a costo di una incertezza temporale che è comunque limitata dal fatto di non utilizzare una sequenza *interleaved*.

3.4.2 Correction of head motion

Il problema che può inficiare più pesantemente la qualità dei dati fMRI è il movimento della testa: anche se molto ridotto (nell'ordine di pochi millimetri), può provocare effetti drastici sulle immagini, le cui informazioni spaziali sono acquisite in modo assoluto, non relative alla posizione del cervello.

Diversi esperimenti fMRI sono suddivisi in una serie di sessioni di acquisizioni successive di breve durata, per non affaticare il soggetto ed eventualmente risolvere alcuni vincoli indotti dalla strumentazione. Durante le pause, però, il soggetto si rilassa, parla, si muove, causando movimenti della testa importanti. Se tra le sessioni di acquisizione si modificano anche le condizioni sperimentali, il movimento può non essere uniforme, ma più significativo in alcune acquisizioni che in altre.

L'esame fMRI necessita di un tempo di acquisizione elevato (anche superiore all'ora) che determina un affaticamento del soggetto che di conseguenza si muove, non riuscendo a soddisfare la richiesta di rimanere immobile.

Anche gli stimoli sperimentali possono causare il movimento della testa, infatti spesso essi richiedono una risposta motoria da parte del soggetto.

Il movimento della testa, che è un problema spaziale, influenza anche il timing di attivazione. Infatti, visto che le sequenze tipicamente utilizzano un'acquisizione *interleaved*, il movimento può traslare nel tempo l'attivazione tra *slice* successive. Inoltre, il movimento determina una variazione del pattern di eccitazione degli spin.

Il problema del movimento della testa si può più facilmente prevenire che correggere, utilizzando dei dispositivi di immobilizzazione.

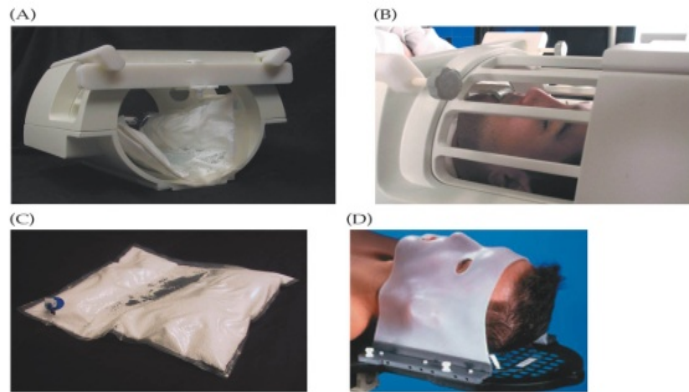


Figura 3.10 Esempi di dispositivi di immobilizzazione della testa.

Se non si riescono a prevenire completamente, i movimenti della testa vanno corretti in modo tale che nelle immagini delle serie temporali acquisite, il cervello sia sempre nella stessa posizione. Il processo generale per l'allineamento spaziale di due immagini volumetriche è detto *coregistrazione*. Per la correzione del movimento, successive immagini nella sequenza temporale sono coregistrate in un singolo volume di riferimento ("*reference volume*"). Visto che il cervello mantiene la sua forma e le sue dimensioni durante tempo dell'esperimento, è possibile utilizzare trasformazioni rigide, definendo tre traslazioni lungo gli assi x , y e z e tre rotazione attorno ad essi. Errori possono essere dovuti a in omogeneità del campo magnetico creato dallo scanner, che può causare un diverso *scaling* delle immagini acquisite in base alla posizione all'interno dello scanner.

Una volta che si sono determinati i parametri di riallineamento (figura 3.11) è necessario ricampionare i dati originali per stimare i valori che avrebbero assunto in assenza del movimento della testa. Questo processo, detto *interpolazione spaziale*, è simile all'*interpolazione temporale* effettuata nella fase precedente ma, mentre in quel caso si consideravano solo punti nel tempo, l'*interpolazione spaziale* considera punti in due o tre dimensioni. Si sono proposti metodi di *interpolazione lineare* (bilineare o trilineare nel caso di due o tre dimensioni) semplici e veloci che si basano su una media pesata dei punti vicini. Approccio più accurato è l'*interpolazione sinc*, ma può introdurre artefatti. Un buon compromesso si è dimostrato essere l'*interpolazione spline*, che fitta le curve dei dati noti, per stimare quelli sconosciuti.

È importante puntualizzare che, anche nel caso in cui i movimenti della testa siano perfettamente noti, il processo di *interpolazione spaziale* introduce degli errori dovuti alla limitata risoluzione delle immagini funzionali; le serie temporali corrette presentano, quindi, degli effetti residui del movimento.

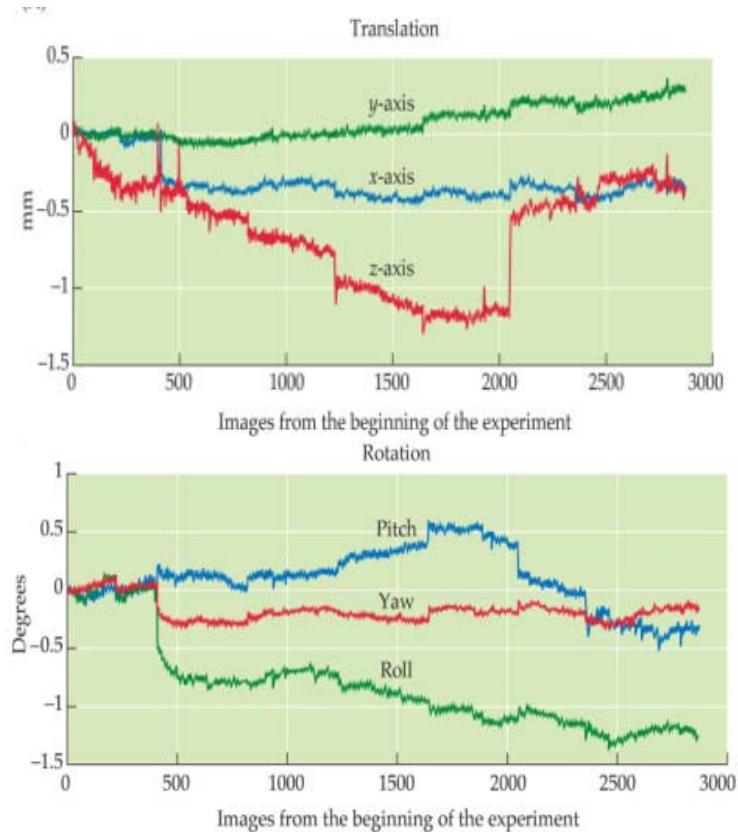


Figura 3.11 Esempi di dispositivi di immobilizzazione della testa.

3.4.3 Functional-structural coregistration

Le immagini funzionali sono tipicamente contraddistinte da una bassa risoluzione e un debole contrasto anatomico e, come evidenziato nei due paragrafi precedenti, sono soggette a distorsioni temporali e spaziali. Al contrario, le immagini strutturali sono più contrastate e con più alta risoluzione e dettaglio; è quindi opportuno sfruttare le informazioni anatomiche delle immagini strutturali per aumentare il dettaglio spaziale delle immagini funzionali. Il processo computazionale che mappa le immagini funzionali in un'immagine strutturale è detto coregistrazione.

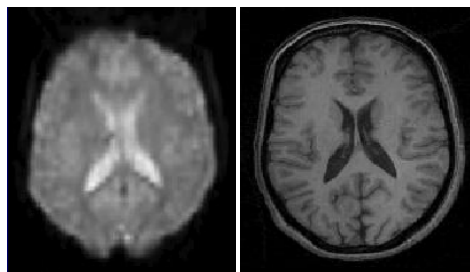


Figura 3.12 Immagine funzionale coregistrata a quella anatomica (a destra) e non (a sinistra).

Si possono evidenziare due principali motivi che rendono fondamentale questa fase di *pre-processing*. Il primo è che, anche se le immagini funzionali e quelle strutturali sono acquisite durante la stessa sessione, non è detto che siano allineate, a causa di movimenti o di una necessità di *slice* differenti tra le due tipologie di immagine. Il

secondo motivo è rappresentato dal fatto che alcune sequenze di acquisizione possono introdurre delle distorsioni geometriche, ad esempio le immagini ottenute con la EPI sono leggermente più allungate secondo un asse.

3.4.4 Spatial normalization

La *functional-structural coregistration* permette di localizzare bene le aree all'interno del cervello, ma queste non possono essere confrontate tra individui diversi. Per rendere possibile un confronto fra soggetti è necessario che i diversi cervelli abbiano forme e dimensioni uguali fra loro. In realtà, il cervello umano ha una grande variabilità morfologica tra individui: la dimensione può variare anche del 30%, il volume può assumere valori da 1100cc a 1500cc, la forma esterna e la suddivisione interna sono notevolmente diversa tra soggetti.

Il processo che rende confrontabili immagini di cervelli diversi è detto normalizzazione spaziale. La normalizzazione è una sorta di coregistrazione, nella quale, però, i volumi che devono essere coregistrati differiscono fondamentalmente nella forma e non a causa di distorsioni. Allungando, restringendo e deformando per via matematica le immagini, si fa in modo che ogni cervello risulti della stessa dimensione e forma.

Per fare in modo che le immagini normalizzate siano confrontabili tra loro, devono fare riferimento ad un modello di cervello comune, detto spazio stereotassico. Quello più comunemente usato è lo *spazio di Talairach*, creato dalle misure effettuate su un singolo cervello, di una donna anziana, sul quale si sono individuati punti *marker* al suo interno per distinguere le diverse zone e applicare i metodi di normalizzazione. Nonostante il suo vasto impiego, però, non è uno spazio ottimale, perché non è rappresentativo della popolazione.

Più recentemente, il *Montreal Neurological Institute* ha proposto uno spazio stereotassico ottenuto dalla combinazione di 152 acquisizioni T_1 -pesate di diversi cervelli. Il *template* MNI è, comunque, stato scalato in modo tale da essere confrontabile con quello di *Talairach*.

Per deformare un dato set di immagini rappresentati il cervello, in modo da farlo corrispondere un *template* di riferimento, gli algoritmi di normalizzazione determinano le dimensioni globali del cervello e le caratteristiche anatomiche più importanti. Alcuni algoritmi richiedono di identificare dei punti notevoli al suo interno, come i solchi.

L'applicazione della normalizzazione può, però, portare degli svantaggi. Alcuni gruppi di soggetti possiedono un cervello che differisce in modo sistematico da altri, ad esempio a causa dell'atrofia dovuta all'età, o del progressivo sviluppo in fase di crescita, o del sesso (maschi e femmine possiedono un cervello con determinate caratteristiche). Normalizzare questi diversi gruppi allo stesso *template* maschera differenze importanti caratteristiche di ogni gruppo.

La grande variabilità delle caratteristiche del cervello tra individui determinano teoricamente vincoli alla normalizzazione. In particolare, tipicamente a seguito di patologie, alcuni cervelli possono presentare lesioni che determinano la distorsione di alcune aree che riducono l'accuratezza con la quale i metodi di normalizzazione attuano il *matching*.

Infine, questa normalizzazione spaziale, determina un peggioramento della risoluzione spaziale, oltre ad essere particolarmente *time consuming*.

3.4.5 Temporal filtering

Dal *teorema di Nyquist* si deduce che la frequenza di campionamento del cervello da utilizzare, per evitare fenomeni di *aliasing*, deve essere doppia rispetto alla frequenza del fenomeno in studio. Con il filtraggio temporale si vuole eliminare il contributo in frequenza caratteristico del rumore (incluso, ad esempio l'effetto del respiro o del battito cardiaco), isolando il *range* di frequenze di interesse.

3.4.6 Spatial filtering

In molte analisi fMRI si utilizzano filtri passa-basso per eliminare componenti spaziali ad alta frequenza. La tecnica più comunemente usata di *blurring* è il filtraggio gaussiano. Il *filtro di Gauss* ha la forma di campana tipica della distribuzione normale. Quando applicato, diffonde l'intensità di ogni *voxel* dell'immagine sui *voxel* vicini. All'aumentare dell'ampiezza del filtro, il suo effetto si espande maggiormente attorno al *voxel* su cui è applicato. L'ampiezza del filtro è espressa in millimetri, come metà del valore massimo (*FWHM*: *full width half maximum*).

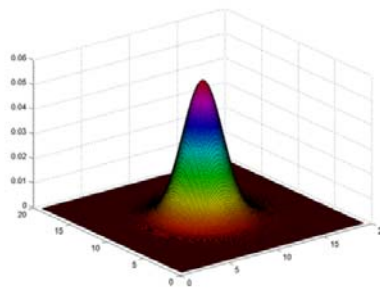


Figura 3.13 Filtro gaussiano 3D.

Questo filtraggio spaziale può permettere di migliorare il SNR, di ridurre rumore apparente, e aumentare la validità dei confronti tra soggetti; riduce, però, la risoluzione spaziale.

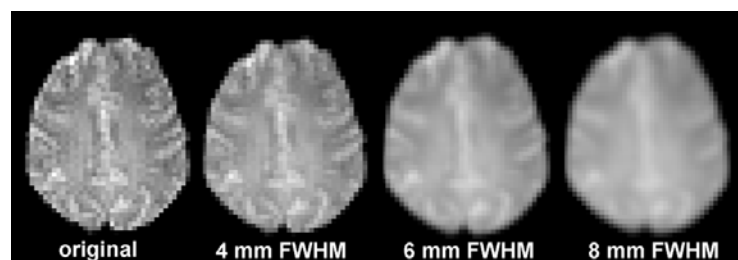


Figura 3.14 Immagine funzionale originale (a sinistra) e filtrata con filtro gaussiano a diversa FWHM.

3.5 Analisi statistica

Il fine ultimo delle analisi fMRI è quello di individuare quali aree del cervello si attivano in seguito ad uno stimolo. Per stabilire quali differenze di segnale BOLD possano essere considerate come determinate dal *task* sperimentale, deve essere applicata un'analisi statistica ai dati acquisiti, dopo averli sottoposti al *pre-processing* descritto precedentemente per migliorare il segnale. Le immagini ottenute, rappresentanti le regioni che si sono attivate, sono chiamate *statistical parametric map*.

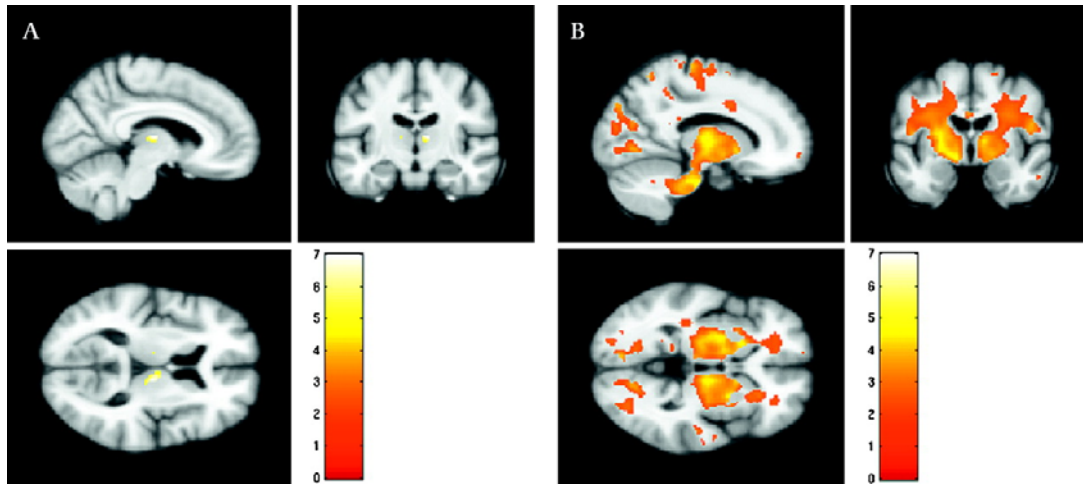


Figura 3.15 Esempio di *statistical parametric map*.

3.5.1 General Linear Model (GLM)

Il GLM (*General Linear Model*) rappresenta il metodo più utilizzato e robusto per ottenere delle mappe statistiche di attivazione da immagini fMRI, per la prima volta proposto da *Friston* nel 1995 [51].

I dati fMRI possono essere rappresentati con l'equazione tipica di un modello lineare:

$$y_{ij} = x_{i1} * \beta_{1j} + x_{i2} * \beta_{2j} + \dots + x_{ik} * \beta_{kj} + e_{ij}$$

Con questo modello i dati osservati (y_{ij}) sono uguali alla combinazione pesata di diverse variabili indipendenti del modello (x_{ik}) sommati ad un termine additivo di rumore (e_{ij}). I pesi dei parametri (β_{kj}) indicano quanto ogni fattore contribuisce nel dato globale. Il termine β_0 rappresenta il contributo del fattore che rimane costante durante tutto l'esperimento che corrisponde, per i dati fMRI, ai valori grezzi $T2^*$ di particolari *voxel* nei quali l'attività è costante o non si registra attivazione BOLD.

La stessa equazione può essere estesa includendo un numero maggiore di variabili dipendenti (come i numerosi andamenti temporali del segnale BOLD nei diversi *voxel*) costituendo il *general linear model*, che rappresenta una classe di test statistici, che assumono che i dati sperimentali siano composti da una combinazione lineare di funzioni di forma nota e ampiezza incognita descriventi il modello sperimentale e di un rumore additivo, supposto scorrelato e normalmente distribuito.

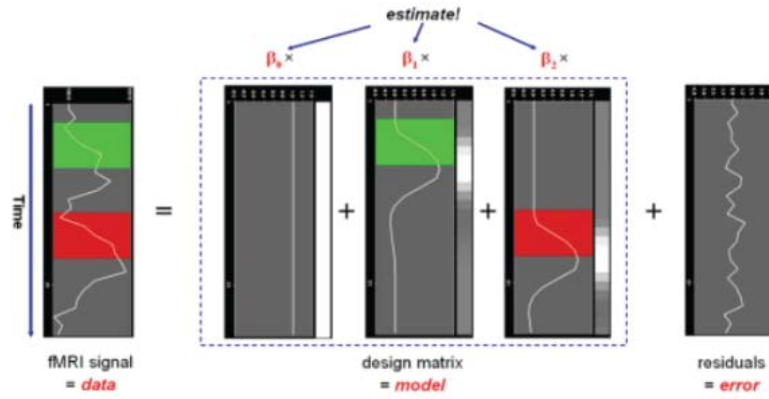


Figura 3.16 General Linear Model (GLM).

In forma matriciale, il GLM si può esprimere come:

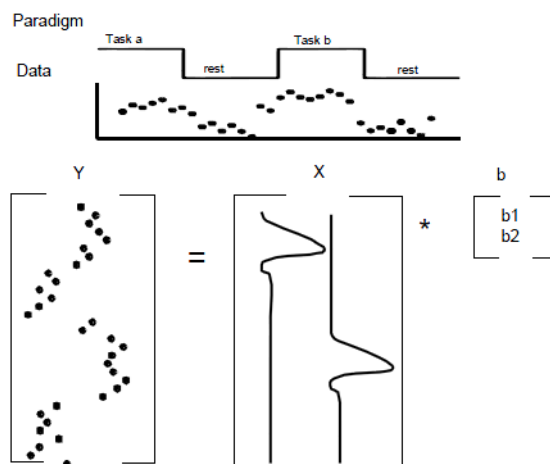
$$Y = \begin{bmatrix} Y_1 \\ \dots \\ Y_N \end{bmatrix}, \quad X = \begin{bmatrix} X_{11} & \dots & X_{1P} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ X_{N1} & \dots & X_{NP} \end{bmatrix}, \quad \beta = \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \dots \\ \beta_P \end{bmatrix}, \quad \varepsilon = \begin{bmatrix} \varepsilon_1 \\ \dots \\ \varepsilon_N \end{bmatrix}$$

Y rappresenta la matrice bidimensionale contenente i dati fMRI misurati, quindi noti, ovvero la serie temporale del segnale nel *voxel*. N rappresenta la dimensione dei vettori (numero di righe) e corrisponde al numero di tutte le i -esime scansioni.

L'errore ε , come detto, è ipotizzato indipendente e appartiene a $N(0, \sigma_i^2)$.

X è detta *design matrix* e rappresenta il modello che descrive la risposta emodinamica all'esperimento. Tale matrice viene stimata a partire dalla conoscenza del disegno sperimentale adottato e di un modello che descriva la risposta emodinamica allo stimolo impulsivo. La costruzione di questa matrice sfruttando diversi modelli HDR sarà discussa in seguito.

Dalla figura 3.17 si può capire come la matrice X contenga in ogni sua colonna una diversa funzione base, ovvero la risposta emodinamica ad un diverso stimolo previsto nel protocollo sperimentale.

Figura 3.17 General Linear Model con *design matrix* formata dalla convoluzione della HDR con un disegno sperimentale a due blocchi.

Le uniche quantità non note (non misurate né stimate) sono i P parametri β , che corrispondono alle ampiezze delle funzioni che costituiscono la *design matrix*.

Lo soluzione del GLM prevede di ottenere i valori dei pesi beta, tipicamente tramite una stima ai minimi quadrati lineari. Determinare i valori di ciascun beta, significa stimare quanto ogni singolo *task* previsto nella *matrix design* influenzi il dato reale, cioè il segnale BOLD misurato.

È importante sottolineare che con il GLM non si sfruttano le informazioni spaziali relative ai dati fMRI, ovvero i pesi dei parametri sono stimati in modo indipendente per ogni *voxel*.

La risposta emodinamica $h(t)$ è la variazione del segnale misurato dalle bobine dovuto all'attività neuronale, cioè la misura del segnale BOLD. In seguito all'applicazione di uno stimolo impulsivo $\sigma(t)$ si ha, come già descritto nel paragrafo 3.2 il seguente andamento di $h(t)$:

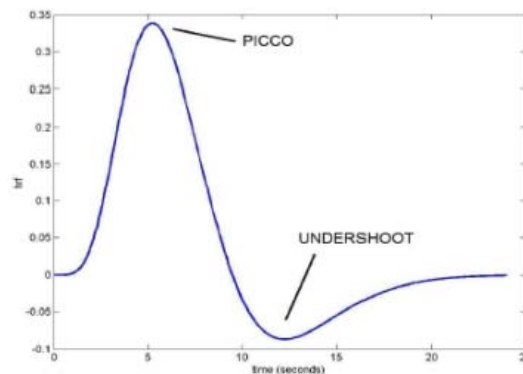


Figura 3.18 Risposta emodinamica ad uno stimolo impulsivo.

Dalla conoscenza della risposta emodinamica impulsiva e del disegno sperimentale (nel caso in cui esso sia costituito da una sequenza di stimoli impulsivi), è possibile stimare il segnale BOLD atteso come risposta emodinamica complessiva di tutto l'esperimento. Infatti, il segnale BOLD può essere considerato come risultato della convoluzione tra la HDR $h(t)$ e la sequenza esterna di stimolazione $u(t)$ stabilita nel protocollo sperimentale:

$$x(t) = \int_0^{\infty} h(\tau)u(t - \tau)d\tau$$

Come esempio, nella figura seguente sono riportati alcuni andamenti del segnale BOLD ricostruito in seguito a stimoli $u(t)$ diversi. In particolare, si nota la forte dipendenza del segnale BOLD dal disegno sperimentale messo in atto $u(t)$, oltre che dalla forma $h(t)$ della HDR.

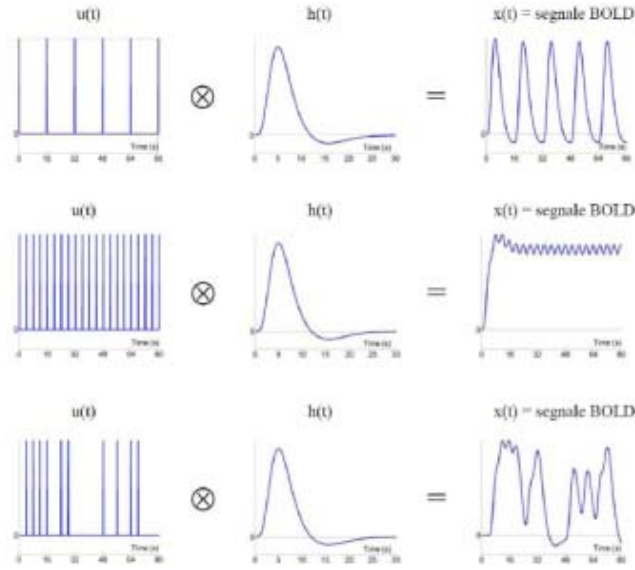


Figura 3.19 Risposte emodinamiche attese per diversi disegni sperimentali.

Note la forma $h(t)$ della HDR e la sequenza delle stimolazioni impulsive $u(t)$, la design matrix X è dunque calcolata tramite convoluzione.

In letteratura sono stati proposti modelli diversi che descrivono con varia accuratezza la risposta HDR, permettendo stime della *design matrix* più o meno precise:

- modello “*canonical HRF*”, o “*HRF two-gamma*”: introdotto da *Friston* nel 1998 è formato da due funzioni gamma:

$$h_c(t) = \left(\frac{t}{d_1}\right)^{a_1} e^{-\frac{(t-d_1)}{b_1}} - C \left(\frac{t}{d_2}\right)^{a_2} e^{-\frac{(t-d_2)}{b_2}} \text{ per } 0 < t < T$$

Dove $d_i = a_i b_i$, con valori opportunamente fissati. C è dato dal rapporto tra l’ampiezza dell’*undershoot* e del *peak*. Ad ogni condizione sperimentale (*task* o *rest*) è associato un parametro beta.

- modello “*canonical HRF temporal derivative*”: per modellare le differenze della latenza della risposta emodinamica attesa (determinate dal timing di acquisizione delle diverse *slice*), questo modello modifica quello “*canonical*” traslandolo di un tempo τ . La funzione $h_0(t)$ che si ottiene è la combinazione lineare della $h(t)$, cioè della *HRF two-gamma*, e della sua derivata temporale $h'(t)$:

$$h'(t) = \frac{\partial h(t, \tau)}{\partial \tau} \Big|_{\tau=0} = -h_0(t) \quad \text{dove } h(t, \tau) = h_0(t - \tau)$$

Sotto l’ipotesi di τ molto piccolo, si può utilizzare lo sviluppo in serie di Taylor arrestato al primo termine attorno a $\tau = 0$. Questo modello richiede un ulteriore parametro beta per ogni condizione del protocollo di analisi.

- modello “*canonical HRF temporal and dispersion derivatives*”: per modellare con accuratezza maggiore del modello *canonical*, rappresentando anche l’*initial dip*, questo modello è una combinazione lineare delle due funzioni gamma *canonical* e della sua

espansione di Taylor del primo ordine multivariata sia tempo che nello spazio. Questo modello richiede la stima di un terzo parametro beta.

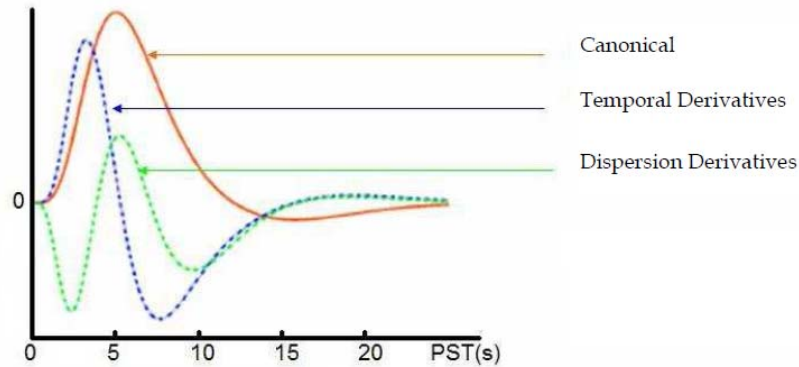


Figura 3.20 Risposta emodinamica: modello *canonical*, *canonical con temporal derivatives*, *canonical con temporal e dispersion derivatives*.

Questi tre modelli esposti sono quelli utilizzati in questa Tesi in una prima analisi dei dati fMRI.

Sono stati sviluppati anche altri modelli più accurati, o soddisfacenti particolari richieste sperimentali. In particolare, modelli non lineari sono stati proposti per studi integrati EEG-fMRI, o per essere utilizzati in caso di disegni sperimentali *event-related* per tener conto degli effetti di saturazione e di abitudine. Questi modelli non lineari permettono di comprendere il legame tra variabili fisiologiche e risposta BOLD e per ricostruire l'attivazione neuronale da dati fMRI usando, ad esempio, tecniche di deconvoluzione.

Nota la forma delle funzioni costituenti la *design matrix* X , oltre che misurati i dati fMRI Y e ipotizzato l'errore ε , la stima dei parametri β tipicamente è effettuata tramite stimatore ai minimi quadrati lineare:

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T Y$$

La matrice di covarianza dell'errore di stima è definita come:

$$(X^T \Sigma_V^{-1} X)^{-1},$$

con Σ_V^{-1} matrice (di dimensione $P * P$, con P numero di parametri beta) diagonale che descrive l'incertezza della stima dei beta del *voxel* al quale si riferisce.

È quindi possibile calcolare la precisione della stima dei parametri beta tramite i coefficienti di variazione CV, calcolati come:

$$\frac{\sqrt{\sigma_{\beta}^2}}{\beta}$$

dove σ_{β}^2 è il valore della diagonale della matrice appena calcolata relativa al beta del quale si sta calcolando la precisione della sua stima.

I residui si calcolano sottraendo ai dati veri la previsione del modello:

$$residui = Y - X\hat{\beta}$$

Di conseguenza la somma degli scarti quadratici *RSS* (*Residual Sum of Squares*), calcolata sommando i valori al quadrato dei residui, è:

$$RSS = \sum (residui)^2$$

Le ipotesi di errore di misura additivo, scorrelato e con distribuzione normale $N(0, \sigma_i^2)$ non sono, in realtà, completamente verificate in fMRI. In particolare, i dati fMRI sono caratterizzati da una correlazione seriale tra i valori in istanti successivi dovuta al rumore fisiologico in bassa frequenza proveniente dai cicli cardiaco e respiratorio, e dall'attività neuronale non modellata. Usando le assunzioni di correlazione dell'errore si ottengono delle stime affette da errore (*bias*).

Una modellizzazione efficace della correlazione temporale è data dal modello autoregressivo del primo ordine, $AR(1)$. In questo modo l'errore del precedente punto temporale viene combinato con un nuovo termine di errore per produrre l'errore temporale corrente:

$$\varepsilon_i = \rho \varepsilon_{i-1} + \chi_{i1}$$

dove il sistema di equazioni di *Yule Walker* relativo è stabile se $|\rho| < 1$. χ_{i1} è rumore bianco. Con un tale modello, la correlazione temporale decade esponenzialmente all'aumentare del ritardo.

Il modello lineare si descrive quindi come:

$$Y = X\beta + \varepsilon \quad \text{con} \quad \varepsilon \sim N(\sigma^2 V)$$

con distribuzione di ε normale multivariata, dove $\sigma^2 V$ è la matrice di covarianza dell'errore ε , σ^2 è uno scalare incognito e la matrice V per un modello autoregressivo del primo ordine è calcolata come:

$$V = \begin{pmatrix} 1 & 0 & \rho^2 & \dots & p^{n-1} \\ \rho & 1 & \rho & \dots & p^{n-2} \\ \rho^2 & \rho & 1 & \dots & p^{n-3} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ p^{n-1} & p^{n-2} & p^{n-3} & \dots & 1 \end{pmatrix} ; \quad \sigma^2 = \frac{\sigma_1^2}{1 - \rho^2}$$

con ρ assunto costante per tutti i *voxel* anche se in realtà non lo è, e viene calcolato mediando i valori ottenuti per ogni *pixel* e per ogni *slice*. V , costruita sulla base dei coefficienti delle *equazioni di Yule-Walker*, risulta quindi essere una matrice non diagonale di *Toeplitz*, cioè simmetrica e con gli elementi appartenenti alla diagonale o sub diagonale tutti uguali tra loro.

Il vettore dei parametri beta stimati diventa, quindi:

$$\hat{\beta} = (\hat{X}^T \hat{X})^{-1} \hat{X}^T \hat{Y} = \hat{X}^{-1} \hat{Y} \quad \text{con} \quad \hat{X} = KWX \quad \text{e} \quad \hat{Y} = KWy$$

K è una matrice di filtraggio temporale ad alta frequenza costruita, attraverso la *discrete cosine transform DCT*, allo scopo di migliorare il SNR del dato fMRI preservando l'informazione riguardante i cambiamenti nel dato che avvengono alla frequenza del *task* applicato e minimizzare quelli che avvengono ad altre frequenze.

Utilizzando la *fattorizzazione di Cholesky* su V si può calcolare la matrice dei pesi W , definita come

$$W = V^{-1/2} ; \quad V = H^T H ; \quad W = (H^T)^{-1} ; \quad W V W^T = I ; \quad W = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ -\rho R & R & 0 & \dots & 0 \\ 0 & -\rho R & R & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \dots & 0 & -\rho R & R \end{pmatrix}$$

Questa scelta di W permette di ottenere una varianza degli errori proporzionale alla matrice identità, rimuovendo ogni *smoothness* temporale nei dati causato da *pre-filtraggio* o da *smoothness* intrinseco degli errori *random*.

Si può stimare l'errore di misura, come:

$$\varepsilon = \bar{Y} - \bar{X}\hat{\beta}$$

e la stima a posteriori della costante di proporzionalità della varianza dell'errore come:

$$\hat{\sigma}^2 = \frac{WRSS}{N-M} ,$$

dove $WRSS$ è la somma dei residui al quadrato pesati ed è data dalla formula:

$$WRSS = (\hat{Y} - \hat{X} * \hat{\beta})^T V^{-1} (\hat{Y} - \hat{X} * \hat{\beta}) = \varepsilon^T V^{-1} \varepsilon$$

Infine si trova la covarianza della stima dei parametri, che è un indice di precisione delle stime:

$$Var(\hat{\beta}) = \hat{\sigma}^2 \hat{X}^{-1} V \hat{X}^{-T}$$

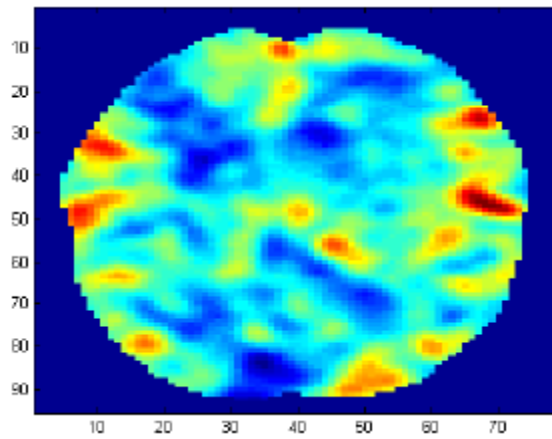


Figura 3.21 Esempio di *beta image*.

Dopo aver stimato i parametri beta è necessario applicare un test statistico per valutare se la variazione di segnale nel *voxel* può essere considerata significativa di una sua attivazione.

Per poter applicare il test statistico, si introduce un vettore di valori interi, detto contrasto. Ogni vettore contrasto è indipendente dagli altri, essendo ortogonale rispetto questi. Il contrasto è un vettore della stessa dimensione di quello dei beta e ne specifica il peso che essi assumono nel test statistico. Se, come in questa Tesi, si sceglie un vettore contrasto

$c^T = (1 \ 0)$, allora nel test statistico si valuta solo il primo parametro beta, in quanto:

$$c^T \hat{\beta} = \hat{\beta}_1.$$

Il test statistico che si applica alle stime dei parametri beta è un t-test modificato, in quanto il *t-value* è calcolato come:

$$t = \frac{c^T \hat{\beta}}{\sigma \sqrt{c^T (X^T X)^{-1} c}}.$$

Al numeratore, come “*effect size*”, al posto della media c’è la stima dei parametri pesate per il contrasto. Al denominatore, come “*uncertainty of effect size*”, c’è un valore che rappresenta i residui pesati per il contrasto.

L’ipotesi nulla H_0 assunta è $\hat{\beta}_1 = \hat{\beta}_2$, ovvero un *voxel* è ritenuto non attivo se le differenze tra le condizione di *task* e di *rest* non sono significative.

Per poter decidere se accettare o meno questa ipotesi nulla, dopo aver calcolato il *t-value* bisogna conoscere i gradi di libertà e stabilire una soglia di significatività. Si può dimostrare che con questa particolare *t-Student* i gradi di libertà sono $N - p$, con N numero di volumi acquisiti (ovvero il numero di dati per ogni *voxel*) e p rango di X (ovvero il massimo numero di colonne linearmente indipendenti in X). Il *t-value* calcolato, è quindi confrontato con un *p-value* stabilito ad-hoc in base a considerazioni sul segnale fMRI. Il livello di significatività è scelto in modo da escludere i falsi positivi: con un $p = 0.05$ il 5% delle regioni non attivate in seguito al *task* vengono indicate dal test statistico come attive, costituendo dei falsi positivi.

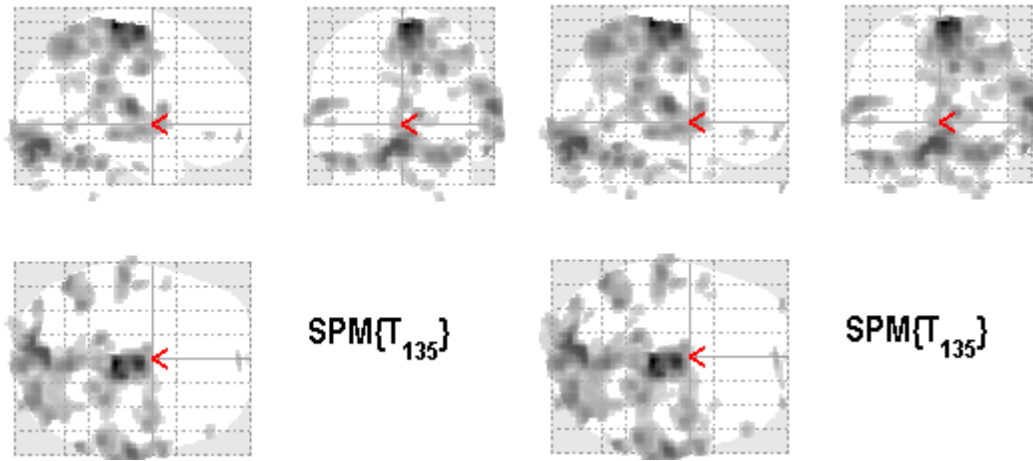


Figura 3.22 Esempio di *t-value image* di SPM con livello di significatività di $p = 0.01$ (a sinistra) e $p = 0.05$ (a destra).

Uno dei problemi centrali di questa analisi statistica dei dati fMRI è rappresentato dai confronti multipli: maggiore è il numero di test statistici effettuati, maggiore è la probabilità di ottenere degli *errori di tipo I*, cioè falsi positivi. In ogni data set rumoroso, il numero di *errori di tipo I* determinati da n test statistici è $n - \alpha$. Quindi la probabilità di non avere falsi positivi è:

$$P(\text{no errori di tipo I}) = (1 - \alpha)^n .$$

Dato l’elevato numero di dati, e quindi di test statistici, tale probabilità è quasi nulla, ovvero è quasi certo di compiere almeno un *errore di tipo I*, quindi si considererà almeno un *voxel* attivo quando in realtà non lo è.

La strategia tipica per superare il problema dei confronti multipli consiste nel ridurre il valore di alfa, in modo che sia meno probabile che i *voxel* superino la soglia di significatività. Il metodo più comune è rappresentato dalla correzione di Bonferroni, con la quale si diminuisce il valore di alfa proporzionalmente al numero di test statistici indipendenti:

$$\alpha_{Bonferroni} = \alpha/n$$

Tale correzione effettivamente permette di controllare gli *errori di tipo I*, in modo tale che le attivazioni risultanti dal test statistico si possano considerare come reali con più sicurezza. Lo svantaggio principale della sua applicazione è che, diminuendo la probabilità di *errori di tipo I*, aumenta quella di *errori di tipo II* e può non permettere di riconoscere come attivi *voxel* che in realtà lo sono.

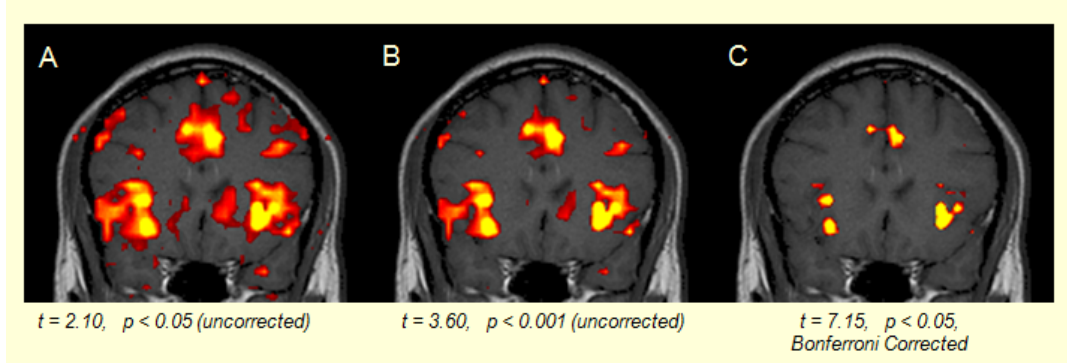


Figura 3.23 Esempio di mappe di attivazione ottenute senza (a sinistra e al centro) e con (a destra) correzione di Bonferroni.

La correzione di Bonferroni, che è uno dei metodi *family-wise error* (FWE), corregge il valore di alfa basandosi sul numero di test statistici indipendenti, tipicamente il numero di *voxel*. In realtà, i *voxel* non sono completamente indipendenti; infatti gli andamenti temporali in *voxel* adiacenti tendono ad essere fortemente correlati. Una causa è che le diverse fonti di errore, soprattutto il movimento della testa, influenzano i diversi *voxel* in modo simile. La stessa attività BOLD si estende su regioni ampie, soprattutto se i dati sono influenzati dagli effetti dei grandi vasi. Infine, lo *smoothing spaziale* effettuato in fase di *pre-processing*, assicura che nessun *voxel* sia indipendente da quelli vicini. A causa di queste numerosi fonti di dipendenza tra *voxel* nei dati fMRI, la correzione di Bonferroni sovrastima il numero di test statistici indipendenti, quindi il valore di alfa corretto risulta essere troppo conservativo. Per risolvere tale problema sono state proposte diverse tecniche che, basandosi sul grado di correlazione dei *voxel* attivati, permettono di ottenere fattori di correzione meno di stringenti di quello proposto da *Bonferroni*.

Una possibilità è rappresentata dall'applicazione del metodo di correzione denominato *false discovery rate* (FDR), che controlla la presenza di falsi positivi tra tutti i *voxel* dichiarati positivi, cioè attivi. L'algoritmo prevede di calcolare il *p-value* senza alcuna correzione per ogni *voxel* del volume; i *p-value* sono poi ordinati in modo crescente ($P_1 \leq P_2 \leq \dots \leq P_N$) e si trova il valore di h più elevato tale che: $P_h < \alpha h/N$.

Per ottenere un fattore di correzione ancora migliore, *Worsley* [52] propose di applicare la teoria dei "Gaussian random field" ai dati fMRI. La "random field theory" stima il numero di test statistici indipendenti basandosi sulla correlazione spaziale, o "smoothness" (espressa in *voxel*), dei dati sperimentali. Se il data set è formato da $x * y * z$ *voxel* con una smoothness di V *voxel* di FWHM, allora il numero di confronti indipendenti R è calcolato come:

$$R = \frac{(x * y * z)}{V^3}$$

e sono chiamati "*resolution elements*" o "*resels*". Con tale metodo si ottiene un test di significatività sempre meno conservativo di quello ottenuto con la correzione di Bonferroni, se i dati sono *smooth*; ovvero più il segnale è *smooth*, minore è la probabilità che il rumore passi la soglia.

3.5.2 Data-driven analysis: ICA e cluster analysis

I metodi standard di analisi statistica del segnale fMRI, proposti nel paragrafo precedente, richiedono un'elevata accuratezza del segnale fMRI determinato dall'esecuzione dei *task* previsti nel disegno sperimentale. Questi metodi si possono classificare come "*hypothesis-driven analysis*", in quanto si basano sull'esecuzione di test statistici che classificano come attivo un *voxel* se il suo segnale presenta un andamento temporale corrispondente ad una forma d'onda ideale che rispecchia il disegno sperimentale. Ma quest'ipotesi spesso non è rispettata: il soggetto potrebbe aver compiuto il *task* in maniera non completamente corretta, o potrebbe non essere nota a priori la risposta emodinamica attesa dei *voxel* attivi.

Le analisi del tipo "*data-driven*" rappresentano un approccio complementare e/o alternativo al confronto statistico dell'andamento temporale del segnale nei cluster contro quello ipotizzato. Le analisi "*data-driven*" sono considerate esplorative, nel senso che si esamina la struttura dei dati ricercando attivazioni che possano essere legate al *task*.

Le due tecniche più utilizzate di "*data-driven analysis*" sono la *independent component analysis* (ICA) e il *clustering*. Nelle analisi ICA in fMRI, si assume che i dati possano essere modellati identificando set di *voxel* la cui attività varia nel tempo in modo simile e in modo distinguibilmente differente da quella degli altri set. Le componenti individuate sono rappresentate dall'andamento temporale dell'attività associata ad ogni set. I *voxel* appartenenti ad ogni componente non devono necessariamente essere spazialmente contigui. Inoltre, ogni *voxel* può appartenere a più di una componente. Lo scopo dell'ICA è quello di suddividere in un set di *pattern* spaziali i dati originali, in modo che si essi possano essere stimati sommando assieme i contributi di ogni *pattern*. A differenza delle tecniche "*hypothesis-driven*", l'analisi ICA è effettuata in modo cieco rispetto al disegno sperimentale e alle ipotesi.

Nella *clustering analysis*, si effettuano delle stime matematiche di similarità tra gli andamenti temporali dei diversi *voxel*, in modo tale da classificarli in *clusters* differenti. L'applicazione diretta delle tecniche di *clustering* alle serie temporali di dati fMRI rappresenta un metodo immediato di analisi statistica che incorpori sia informazioni spaziali che temporali. L'approccio attualmente dominante prevede di applicare il *clustering* direttamente alle serie temporali, cercando le similarità nel loro comportamento. Alcuni autori, però, hanno evidenziato come l'applicazione del *clustering* direttamente alle serie temporali sia un metodo instabile e che i *clusters* risultanti non riflettono necessariamente similarità nella risposta agli stimoli. Inoltre, visto che durante un esperimento la maggior parte dei *voxel* non sono attivi, se nel *clustering* si considerano tutti i *voxel* del cervello, i *clusters* risultanti non permettono di distinguere facilmente le zone attive da quelle non attive; ovvero non è possibile ottenere *clusters* di attivazione, cioè costituiti solo *voxel* attivi. È quindi consigliabile ridurre il set di *voxel* sul quale si applica l'algoritmo di *clustering*, ad esempio segmentando i dati fMRI per eliminare dall'analisi i *voxel* relativi alla materia bianca e

al fluido cerebrospinale e considerare solo quelli relativi alla materia grigia, o applicando delle sogliature o semplici test statistici.

Gli algoritmi di *clustering* più utilizzati per analizzare i dati fMRI sono il *K-means* e il *fuzzy clustering*, ma sono stati applicati anche metodi gerarchici da soli o in combinazione con il *K-means*.

In particolare, l'algoritmo di *clustering K means* permette di raggruppare in *K* gruppi i dati sui quali è applicato, minimizzando la somma dei quadrati delle distanze tra i valori dei dati e il corrispondente centroide del cluster.

L'algoritmo di *clustering K-means* inizia, dopo aver deciso il valore di *K*, suddividendo in modo casuale o sistematico i dati in *K* gruppi. Dopo aver calcolato le coordinate (il valore) dei centroidi, ciascun dato viene assegnato al cluster il cui centroide ha la minima distanza dal dato stesso (quindi per ogni dato si calcola la distanza da ciascun centroide). Questi ultimi tre *step* vengono reiterati fino a quando non si raggiunge una stabilità, ovvero fino a quando i dati non modificano il cluster di appartenenza.

Questo algoritmo ha il vantaggio di convergere molto più rapidamente rispetto ad altre tecniche di *clustering*; per tale motivo è stato scelto in questa Tesi per essere applicato ai dati fMRI (paragrafo 5.1.5.3). Tuttavia l'algoritmo non garantisce il raggiungimento dell'ottimo globale; la qualità della soluzione finale dipende largamente dal set di cluster iniziale.

I metodi *data-driven* sono spesso indicati come "*model-free analysis*", in quanto non dipendono dalle stime della risposta emodinamica. Tuttavia questa affermazione non è completamente corretta, in quanto tutti questi metodi si basano su alcune assunzioni, anche se meno stringenti rispetto a quelle del GLM.

La prima difficoltà associata all'utilizzo di tali metodi è l'individuazione del numero di componenti o *clusters* da isolare dal data set. Al crescere del numero di componenti aumenta anche la capacità di discriminare la variabilità dei dati, ma le componenti diventano sempre più difficilmente interpretabili.

Molti metodi *data-driven* assumono che tutti i *voxel* abbiano proprietà statistiche simili, ma ciò non è vero: *voxel* ai bordi del cervello tendono ad avere proprietà statistiche marcatamente differenti da quelle dei *voxel* corrispondenti alla materia grigia, a loro volta diverse da quelle relative alla materia bianca. Per questo in alcune applicazioni si segmentano preliminarmente i *voxel*, distinguendoli in ampie categorie, come "materia grigia" e "materia bianca", per poi applicare ad essi in modo separato le tecniche *data-driven*.

I metodi *data-driven*, quando confrontati direttamente con gli approcci *hypothesis-based*, hanno portato a risultati confrontabili; in alcuni casi hanno dimostrato essere superiori nell'identificazione di accurate mappe di attivazione. Potenzialmente, metodi che combinano gli approcci *data-driven* e *hypothesis-based* possono garantire prestazioni migliori: le componenti ICA possono essere utilizzate per migliorare il modello alla base del GLM, o nei modelli *data-driven* si possono considerare informazioni spaziali e temporali relativi alle attivazioni fornite dagli approcci *hypothesis-based*.

Lo svantaggio intrinseco dei metodi *data-driven*, che in questa Tesi si è rilevato essere un limite alla loro applicazione (paragrafo 6.2.2), è rappresentato dal fatto che essi sono caratterizzati da un'elevata variabilità inter-individuale, non costituiscono un metodo robusto e standardizzato. Per questo motivo, in questa Tesi si sono proposti degli indici alternativi per permettere la valutazione del segnale fMRI.

4. MATERIALI

4.1 Soggetti

Lo studio prevede il coinvolgimento di 14 soggetti emiparetici in seguito ad ictus e di 10 soggetti sani di controllo.

Per essere ammessi allo studio, i soggetti patologici devono rispettare alcuni criteri di inclusione, quali:

- essere destrimani di sesso maschile o femminile di età compresa tra 18 e 80 anni;
- essere affetti da emiparesi da lesione cerebrale cronica in seguito ad ictus emisferico, ischemico o emorragico, diagnosticato con TAC o MRI ed occorso almeno 12 mesi prima dell'inizio delle valutazioni;
- possedere la capacità di deambulare autonomamente o con necessità di minima supervisione;
- possedere sufficienti abilità cognitive e di linguaggio a comprendere le istruzioni dell'operatore.

Criteri che escludono il soggetto patologico dallo studio sono:

- condizioni cardiovascolari (ad esempio, grave ipertensione arteriosa non controllabile farmacologicamente, grave coronaropatia), neurologiche (altre malattie neurologiche associate) e ortopediche (ad esempio, presenza di artroprotesi) che possono influenzare la deambulazione;
- presenza di eventi cerebrovascolari multipli;
- presenza di lesione sottotentoriale;
- variazioni di terapia medica durante lo studio o nel mese precedente;
- effettuazione di altri interventi riabilitativi (riabilitazione neuromotoria) nei tre mesi prima l'inizio dello studio o durante lo studio;
- presenza di impianti o protesi metalliche incompatibili con esame NMR;
- claustrofobia.

In particolare, in questa Tesi si sono considerati 3 soggetti patologici soddisfacenti i requisiti suddetti (Tabella 4.1) ed 1 soggetto sano di controllo.

Soggetto	Sesso	Età	Altezza [cm]	Peso [kg]	Lato lesione cerebrale	Lato paretico
1	F	58	158	52,4	Sinistra	Destro
2	M	46	190	104,8	Destra	Sinistro
3	M	56	184	93,2	Sinistra	Destro

Tabella 4.1 Soggetti patologici considerati in questa Tesi.

4.2 Strumentazione per il EMG BFB

Ai soggetti patologici in studio, è stato applicato un programma riabilitativo neuromotorio basato sull'utilizzo di *biofeedback* EMG; le modalità saranno discusse nel paragrafo 5.1.1.

Lo strumento utilizzato per fornire il BFB è un SATEM Mygotron (SATEM srl, Roma) [53]. Il segnale EMG è stato acquisito per intervalli di 100ms con una frequenza di 150Hz e poi mediato, rettificato, filtrato con un filtro passa banda delle frequenze da 20Hz a 950Hz e poi amplificato con un guadagno di 40.000. L'EMG registrato è stato poi presentato al paziente come un segnale sonoro analogico.

4.3 Laboratorio di analisi del movimento

L'analisi del cammino dei soggetti considerati in questa Tesi è stata effettuata presso il laboratorio SAFLo (Servizio di Analisi della Funzionalità Locomotoria) dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano.

La strumentazione di questo laboratorio, impiegata per le acquisizioni previste in questo studio, è composta di:

- un sistema stereofotogrammetrico BTS SMART-D (BTS, Garbagnate Milanese), costituito da 8 telecamere optoelettroniche;
- due piattaforme di forza Kistler (Winterthur, Svizzera);
- un elettromiografo portatile di superficie FreeEMG (BTS, Garbagnate Milanese).

4.3.1 Sistema stereofotogrammetrico BTS SMART-D

Il BTS SMART-D [54] è un sistema optoelettronico digitale ad alta risoluzione costituito di 8 telecamere digitali che utilizzano sensori CCD a elevata sensibilità e illuminatori compatti e potenti. Permette frequenze di acquisizione di 1-500Hz, con una risoluzione fino a 1.4Mp ed un'accuratezza minore di 0.2mm su un volume di 3x2x2m. Gli illuminatori sono montati posteriormente al piano focale di ogni telecamera in modo che la radiazione emessa non disturbi l'acquisizione delle videocamera su cui è montata. Tali illuminatori emettono impulsi di luce infrarossa di lunghezza d'onda 880 nm ad alta potenza controllati digitalmente. Le ottiche intercambiabili focali fisse vanno da 4.5mm a 8mm, con uno zoom di 6-12mm e 25mm; la messa a fuoco ed il diaframma vengono regolati manualmente.

Il sistema, quindi, permette di acquisire un vasto range di movimenti compiuti su un ampio volume garantendo un elevato livello di precisione e accuratezza. Può essere utilizzato in condizione di luce critica, in quanto riduce il problema dei riflessi dovuti alla presenza sulla scena di oggetti metallici (come *treadmill* o deambulatori) e non viene influenzato dalla luce naturale, potendo quindi essere impiegato all'aperto (campi da gioco, piste di atletica, ...).

Un'unica *workstation* racchiude tutta la tecnologia per l'acquisizione, l'elaborazione e l'analisi dei dati. Garantisce l'integrazione e sincronizzazione (anche nel caso di acquisizioni di lunga durata) delle 8 telecamere con un massimo di 80 canali analogici per il collegamento e la sincronizzazione dei segnali provenienti, ad esempio, da

elettromiografi con uscita analogica, piattaforme di forza, *treadmill* sensorizzati, cicloergometri, dispositivi aptici. Tutte le informazioni cinematiche, cinetiche, elettromiografiche e video vengono trasmesse con il relativo riferimento temporale (*time-stamp*); il sistema poi correla tutti i dati ricevuti e li registra nella *timeline*, permettendo l'analisi multifattoriale del movimento.

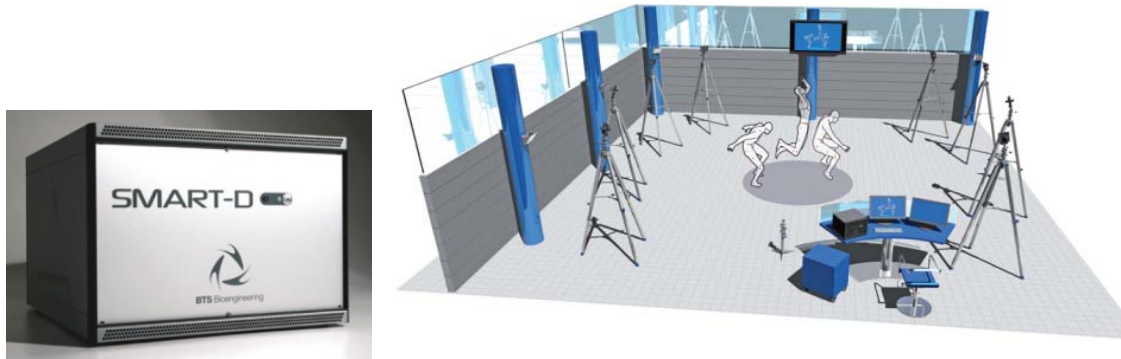


Figura 4.1 Sistema stereofotogrammetrico BTS SMART-D [54].

Si interfaccia all'utente come un personal computer provvisto di scheda di acquisizione e conversione analogico – digitale dei segnali acquisiti e del software per la gestione del sistema.

Il sistema utilizza il metodo di calibrazione *THOR2* (paragrafo 2.3.4), che consente una calibrazione rapida di volumi multipli e di dimensioni differenti, anche in presenza di ostacoli visivi parziali.

BTS SMART-D viene fornito con il software dedicato *BTS SMART Capture*, *SMART Tracker* e *SMART Analyzer* (che saranno descritti in seguito) per il post-processing dei dati acquisiti, utili per l'ottenimento di parametri significativi dal punto di vista biomeccanico e clinico del movimento acquisito.

4.3.2 Piattaforma di forza Kistler

Come visto al paragrafo 2.5, esistono due tipologie diverse di pedane di forza, quelle a sensori *strain gauge* (principalmente prodotte da *AMTI* e *Bertec*) e a sensori piezoelettrici (principalmente prodotte da *Kistler*). I secondi hanno una risposta in frequenza ed una sensibilità migliore rispetto ai primi, anche se non sono adatti a misurare carichi statici. Per questi motivi, e visto che il *task* motorio analizzato è la camminata, non posizioni statiche, in questa Tesi si sono utilizzate due pedane di forza piezoelettriche, prodotte da *Kistler* [55].

Le due pedane, di misure 60x40x3.5cm e peso 18Kg, sono posizionate una di seguito all'altra in modo tale che la dimensione maggiore sia concorde con la linea di cammino, alternate rispetto la linea mediale; in tal modo si rende possibile utilizzare ciascuna pedana per l'analisi della forza scambiata con il terreno da ciascun piede, in modo indipendente (figura 4.2).



Figura 4.2 Disposizione delle due pedane di forza.

Ognuna delle due pedane *Kistler* utilizzate misura le tre componenti ortogonali delle forze lungo i tre assi coordinati per i quattro sensori. Il software BTS del sistema di analisi cinematica del movimento, con cui queste piattaforme sono integrate, consente di elaborare in real-time questi dati calcolando otto canali di output:

- componenti di taglio (F_x), longitudinale (F_y) e verticale (F_z) della forza di reazione al suolo;
- momento libero M_z , con un range di misura ;
- componenti del centro di pressione (CdP), P_x e P_y , variabile chiave nell'analisi posturografica corrispondente al centroide della distribuzione delle pressioni sulla superficie del piede; è utilizzata per il calcolo dei momenti articolari.

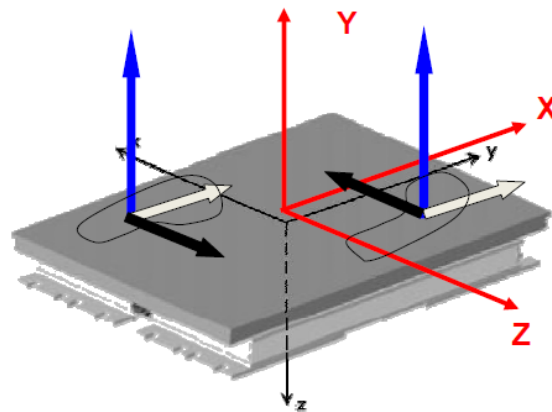


Figura 4.3 Sistema di riferimento del laboratorio (in rosso), della pedana di forza (in nero), delle reazioni al suolo (blu, bianco, nero).

4.3.3 Elettromiografo BTS FreeEMG

BTS FreeEMG [54] è uno strumento diagnostico per lo studio dell'attività muscolare nell'analisi del movimento; può essere applicato per la valutazione di: terapie farmacologiche, evoluzione di deficit motori, utilizzo di ortesi, ottimizzazione dell'allenamento sportivo e, come nel caso di questa Tesi, per valutare patologie neurologiche ed ortopediche e quantificare i follow-up riabilitativi.

Il sistema elettromiografico BTS FreeEMG è predisposto per acquisire in input 16 canali elettromiografici, 2 canali *foot switch* per gestire fino a 8 aree di contatto e fino a 4 elettrogoniometri (ognuno impegna 2 canali EMG).

Utilizza elettrodi attivi di superficie a geometria variabile con connessione clip, con una risoluzione di 16bit ed una frequenza di acquisizione fino a 4KHz che permettono un'elevata qualità del segnale acquisito, sia in termini di "basso rumore" sia per l'assenza di artefatti da movimento. Le sonde comunicano con l'unità ricevente tramite trasmissione dati wireless IEEE 802.15.4, con una portata fino a 50 metri in spazio libero, 30 metri in presenza di ostacoli interposti. Tutte le sonde sono equipaggiate con una memoria *on-board* tampone, a stato solido, per evitare la perdita dei dati per problemi alla rete Wi-Fi o a causa del superamento della distanza rispetto al range operativo utile. Alimentate a batteria ricaricabile con caricatore dedicato, le sonde hanno un'autonomia di circa 5h in acquisizione continua o 5 giorni in modalità *stand-by*. Molto ridotti sono il peso, inferiore ai 9 grammi batteria inclusa, e le dimensioni, 238 x 37 x 10 per l'elettrodo madre, 165 x 10mm per l'elettrodo satellite. Le sonde si agganciano direttamente agli elettrodi *pre-gelled* e grazie alla loro leggerezza non richiedono ulteriori fissaggi con cerotti o biadesivi.

Le sonde amplificano il segnale EMG, lo convertono in formato digitale e trasmettono i dati ad un'unità ricevente compatta e leggera che può essere indossata dal paziente, posata sul tavolo o tenuta dal medico. Il trasferimento dei dati tra l'unità portatile e la data station di elaborazione avviene tramite protocollo Wireless WiFi standard 802.11b, fino ad una distanza di 350 metri. All'unità ricevente portatile possono essere collegati fino a 16 canali (sonde) elettromiografici. L'interfaccia con l'utente è garantita da un display 4"VGA *touch-screen*. Come per le sonde, anche l'unità ricevente è caratterizzata da: un'ampia autonomia che garantisce fino a 9h di registrazione continua con una singola batteria; ridotti peso, 240 grammi, e la dimensione, 152x82x22.5mm.



Figura 4.4 Sistema elettromiografico BTS FreeEMG [54].

Particolarmente importante è il fatto che la leggerezza e le dimensioni ridotte delle sonde e dell'unità portatile e la totale assenza di cavi, consentono una preparazione molto più veloce del paziente che è poi libero di muoversi senza alcun impedimento. Ne risulta un'acquisizione più accurata, meno affetta da errori causati dal movimento di sonde e cavi e da errori dovuti all'invasività dello strumento, che in questo caso influenza solo marginalmente la libera esecuzione del gesto in pieno comfort. L'ingombro e il peso ridotti degli elettrodi a geometria variabile permettono, inoltre, di effettuare analisi di qualsiasi tipo di movimento (cammino, corsa, salto, ecc.), per ogni

distretto corporeo, su ogni tipo di paziente (come ad esempio soggetti in età infantile) senza alterare in alcun modo il pattern motorio del soggetto esaminato.

Può essere integrato con sistemi di analisi del movimento, posturometria e stabilometria direttamente via software o per mezzo del ricevitore output analogico. È integrabile anche con macchine isocinetiche, con robot riabilitativi e sistemi terapeutici di realtà virtuale per una valutazione precisa dell'attività muscolare reale durante l'esecuzione di esercizi di allenamento sportivo o del programma riabilitativo.

4.3.4 Software per l'analisi dei dati di *motion capture*

Per ottenere i valori dei parametri cinematici e dinamici dai dati acquisiti tramite le strumentazioni di *motion capture* illustrate ai paragrafi precedenti, è stato necessario l'uso di software dedicato.

Il software *SMART Capture*, fornito in associazione al sistema optoelettronico BTS utilizzato, è stato impiegato per gestire l'acquisizione integrata e la sincronizzazione dei dati provenienti dal sistema optoelettronico, dalle pedane di forza e dall'elettromiografo. Tale applicativo consente, prima dell'acquisizione dei movimenti, di calibrare le telecamere (con metodo *THOR2*, descritto al paragrafo 2.3.4), il volume di acquisizione, le pedane e le sonde EMG; questa fase è di importanza critica, in quanto l'accuratezza della misure dipende fortemente dall'accuratezza della calibrazione. Lo *SMART Capture* consente poi, durante l'acquisizione, di monitorare in real-time tutti i dati acquisiti, siano essi le immagini 2D video delle telecamere, le posizione dei *marker* rilevati, i segnali EMG e delle pedane di forza. Al termine dell'acquisizione il software crea dei file (formato TDF) contenenti l'andamento nel tempo delle coordinate tridimensionali di tutti i marcatori rilevati, dei segnali EMG e dei segnali di tutte le componenti di forza e momento misurati dalle piattaforme.

Ricostruzione e *tracking* (fasi descritte al paragrafo 2.3.5), sono rese possibili dal software *SMART Tracker*, anch'esso fornito in associazione al sistema optoelettronico BTS. Dai dati bidimensionali acquisiti dalle telecamere e da quelli provenienti dalla calibrazione, entrambi disponibili dopo l'utilizzo dello *SMART Capture*, questo applicativo è sviluppato per la ricostruzione tridimensionale automatica del movimento. Tramite un *editor* grafico è possibile creare il *marker-set* applicato, ovvero si specificano i *marker* utilizzati assegnando loro un nome e unendoli tra di loro secondo una relazione anatomica, solo per permettere una visualizzazione del movimento più intuitiva. Dopo aver creato il *marker-set* opportuno, l'utente può assegnare ad ogni *marker* previsto nel modello il rispettivo marcatore rilevato in acquisizione; questa operazione di associazione è detta *labelling*. Già tramite *SMART Capture*, l'andamento temporale di ogni marcatore è tracciato; come visto al paragrafo 2.3.5, il *tracking* è realizzato tramite l'utilizzo di algoritmi basati su stimatori ricorsivi dello stato di sistemi dinamici (come filtri di *Kalman*) dalla posizione dei *marker* in frame successivi. Tale processo automatico, però, spesso porta a degli errori, ad esempio nel caso in cui in alcuni istanti temporali dei marcatori possono risultare fusi assieme, o non sono rilevati dalle telecamere, o le rispettive tracce sono scambiate, o assumono posizioni non corrette nello spazio. È nella fase di tracciamento che si manifestano i più grandi errori di rilevazione ed interpretazione; per questo è necessario porre particolare attenzione alla fase di valutazione e correzione manuale dell'andamento ricostruito delle traiettorie di ogni *marker*, utilizzando gli strumenti messi a disposizione dallo *SMART Tracker*.

Una volta che si sono ottenute le traiettorie corrette di ogni marcatore, queste devono essere messe in relazione per ottenere come risultati i parametri cinematici e dinamici richiesti. Questo processing è possibile utilizzando lo *SMART Analyzer* che, come i precedenti *Capture* e *Tracker*, è sviluppato da BTS e fornito in associazione al sistema hardware di acquisizione. *Analyzer* consente, per mezzo di un'interfaccia grafica a blocchi intuitiva e con semplici operazioni di *drag&drop*, di generare passo-passo di tutti i dati biomeccanici di interesse, quali, ad esempio, distanze, angoli, velocità, accelerazioni (lineari e angolari), forze, momenti, potenze, ecc. Consente, a partire dai marcatori e sfruttando diverse operazioni geometriche, di generare sistemi di riferimento anatomici diversi da quello di laboratorio, che permettono all'utente di analizzare e presentare i dati in diversi sistemi di coordinate. Questi dati possono poi essere sottoposti ad operazioni di interpolazione, *smoothing* e filtraggio che sono implementate in *Analyzer*. Consente, inoltre, l'analisi temporale dei segnali permettendo all'utente di definire manualmente o automaticamente eventi durante l'acquisizione per l'analisi di gesti ripetuti in un dominio normalizzato. Tutti i tipi di dati possono essere visualizzati tridimensionalmente e per mezzo di diverse tipologie di grafici e tabelle numeriche ed organizzati in modo da ottenere moduli di reportistica personalizzati; i risultati possono poi essere esportati in formati di file standard.

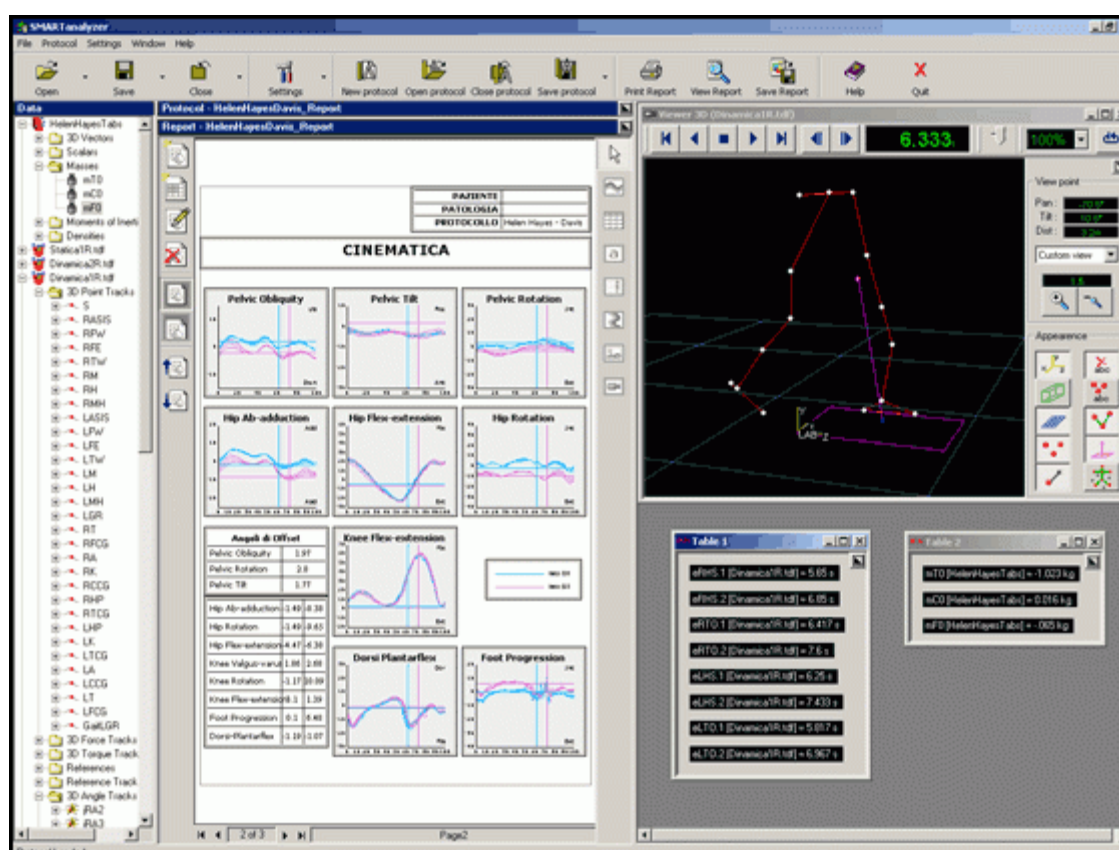


Figura 4.5 Screenshot del software BTS SMART Analyzer [54].

Nonostante la grande versatilità, flessibilità e semplicità d'uso, l'utilizzo di *SMART Analyzer* non si dimostra ottimale per l'analisi necessaria in questa Tesi, che richiederebbe funzionalità e personalizzazioni al di là di quelle consentite. Pertanto si è sviluppato del software apposito per l'elaborazione dei dati acquisiti e forniti tramite *SMART Tracker*.

In particolare, presso il laboratorio SAFLo è stato messo a punto un software, LAMBEVED, che, grazie ad un'interfaccia GUI, permette di visualizzare i movimenti acquisiti (ovvero le tracce dei marcatori rilevati, uniti rispettando il protocollo LAMB utilizzato) e di selezionare gli istanti temporali relativi all'inizio e alla fine dei passi da considerare nell'analisi successiva, indicando l'ordine con cui sono state pestate le due pedane di forza.

Queste informazioni temporali, assieme ai dati originali forniti dallo *SMART Tracker*, sono utilizzati da un applicativo sviluppato in ambiente MATLAB presso il laboratorio SAFLo che permette di ricostruire, dopo opportuni controlli, filtraggi ed interpolazioni dei dati, i sistemi di riferimento e quindi di calcolare le posizioni, velocità, accelerazioni degli angoli articolari e dei segmenti corporei, in accordo con le direttive e convenzioni del protocollo LAMB adottato. Questo software garantisce la sincronizzazioni dei risultati cinematici con quelli dinamici ricavati dalle piattaforme di forze, per calcolare, tramite modelli inversi, le forze, i momenti e le potenze articolari. Il software genera, automaticamente, dei report costituiti di tabelle riassuntive dei valori dei parametri cinematici calcolati e di grafici di sintesi degli andamenti temporali delle grandezze cinematiche e dinamiche calcolate.

Si veda il paragrafo 5.1.4.1 per avere un dettaglio dei parametri derivanti dalle *gait analysis* che sono utilizzati in questa Tesi ed un esempio di report di un'acquisizione di analisi del passo.

4.4 Immagini fMRI

4.4.1 Strumentazione per fMRI

Tutte le acquisizioni delle immagini di fMRI sono state effettuate presso l'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano. Lo strumento utilizzato è stato uno scanner *Siemens Magnetom Avanto I-class 1.5T* [56].



Figura 4.6 Scanner Siemens Magnetom Avanto 1.5T e sua disposizione all'interno di una sala di acquisizione fMRI[56].

Tra le caratteristiche di questo strumento, si mette in evidenza l'ampio campo visivo (FOV) che raggiunge i 500mm e *DSV* (*diameter spherical volume*) con eccellente omogeneità sopra 50 cm. Le elevate forze di campo dei gradienti (fino a 45 mT/m - 72 mT/m effettivi), permettono di ottenere un'alta risoluzione e tempi brevi di scansione (un TR minimo di 1.5 ms e un TE minimo di 0.6 ms).

L'applicazione della tecnologia *Tim* (*Total imaging matrix*) garantisce fino a 76 elementi di bobina integrati con un massimo di 32 canali RF, ottenendo un campo visuale totale di 205 cm.

Il magnete, di 1.5T, garantisce ottima omogeneità, per una buona saturazione dei grassi.

Questo strumento, inoltre, consente un certo comfort al paziente, tenendo controllato il rumore acustico (ridotto di 30dB rispetto a sistemi equivalenti) e grazie all'ampia apertura interna (60cm) che limita il problema della claustrofobia.

4.4.2 Software per l'elaborazione dei dati fMRI

Le immagini fMRI grezze acquisite dallo scanner *Siemens Magnetom Avanto 1.5T* sono state sottoposte a pre-processing e test statistici (come descritto al paragrafo 3.5) utilizzando il software SPM8. SPM (*Statistical Parametric Mapping*) è un software, sviluppato in ambiente MATLAB, per l'analisi e l'interpretazione di dati funzionali di neuroimmagini. Originariamente è stato sviluppato da *Karl Friston* (*Wellcome Department of Imaging Neuroscience* di Londra) per le immagini PET, la cui prima distribuzione (*SPM classic*) risale al 1991. SPM nasce dall'esigenza di promuovere la collaborazione e un comune schema di analisi fra differenti laboratori. Successivi aggiornamenti hanno implementato tutti i maggiori concetti teorici alla base della *Statistical Parametric Mapping*, andando a costituire un pacchetto completo per l'analisi, non solo di segnali PET, ma provenienti anche da altre strumentazioni, compresi dati fMRI. La versione SPM8, rilasciata nell'aprile 2009, rappresenta l'ultimo aggiornamento del software; è la versione utilizzata per le elaborazioni dei dati fMRI di questa Tesi.

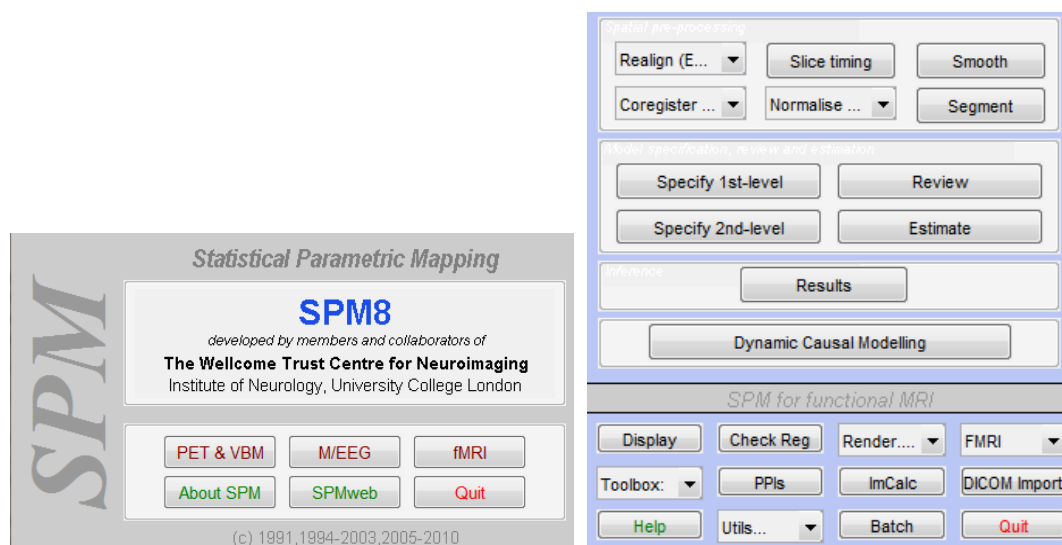


Figura 4.7 Screenshot del pannello iniziale di SPM8.

Per effettuare la *K-means cluster analysis*, si è sviluppato un programma MATLAB sfruttando la *function kmeans*.

Altre routine MATLAB sono state sviluppate ad-hoc per l'analisi del segnale appartenente alle diverse ROI considerate, come indicato al paragrafo 5.1.5.4.

4.5 Software per la correlazione di dati di *gait analysis* e fMRI

Per effettuare le analisi di correlazione tra i risultati ottenuti dalle diverse condizioni di esecuzione dei *task*, e tra i risultati ottenuti dai diversi soggetti, si è sviluppato una routine *MATLAB* appositamente dedicata che sfrutta la *function CORR* disponibile all'interno dello *Statistics Toolbox*. Tale funzione permette di ottenere i coefficienti lineari della *correlazione di Pearson*. Invece, per verificare se gli indici ricavati dalle immagini fMRI e dal segnale di *gait analysis* descrivono la stessa evoluzione della patologia dopo il trattamento riabilitativo, si è impiegata la *function RANKSUM* che permette di eseguire il *Wilcoxon Rank Sum test* (o *Wilcoxon-Mann-Whitney*).

5. METODI

5.1 Protocollo sperimentale

Lo studio prevede il coinvolgimento di 14 soggetti emiparetici in seguito ad ictus e di 10 soggetti sani di controllo, rispettanti i criteri di inclusione/esclusione esposti al paragrafo 4.1.

Il protocollo sperimentale prevede la ripetizione di quattro indagini fMRI e di *gait analysis* nel tempo (T0, T1, T2, T3). In ognuno dei quattro *step* valutativi, le due analisi strumentali sono state eseguite in tempi ravvicinati, per essere rappresentative della medesima condizione del soggetto, ma possibilmente non durante la stessa giornata, per evitare che l'affaticamento del soggetto influenzi i risultati.

Dopo aver reclutato il soggetto patologico, che firma il consenso informato di partecipazione allo studio, esso è sottoposto ad una valutazione clinica iniziale e ad una analisi fMRI e di *gait analysis* (T0). Due mesi dopo il T0, al soggetto è effettuato un *ri-test* (T1) per verificare la stabilizzazione del quadro clinico-funzionale e l'assenza di nuovi eventi ictali. In seguito, il paziente partecipa al programma riabilitativo con EMG BFB acustico, come descritto al paragrafo 5.1.1. Al termine del protocollo riabilitativo, possibilmente entro una settimana, è prevista una nuova analisi sia fMRI che di *gait analysis* (T2), per valutare gli effetti della terapia nel breve periodo. L'ultima indagine strumentale di *follow-up* (T3) è eseguita tre mesi dopo T2, per valutare gli effetti sul lungo periodo della terapia, quindi se il *motor learning*, che ci si aspetta di osservare in T2, si può ritenere avere un effetto stabilizzato nel tempo.

Durante tutto il periodo dello studio, quindi dall'acquisizione in T0 a quella in T3, il soggetto non è sottoposto a nessuna altro trattamento riabilitativo al di fuori di quello con EMG BFB proposto in questo studio. Questa condizione è necessaria al fine di garantire una correlazione tra le modificazioni del quadro neurologico funzionale e dell'*outcome* motorio intercorse in tale periodo, con la terapia riabilitativa somministrata.

Tutti gli esami strumentali sono stati effettuati presso le strutture dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano.

5.1.1 Training con *biofeedback*

Il protocollo riabilitativo è stato progettato seguendo i concetti di *motor learning*. L'obiettivo perseguito è il miglioramento del cammino dal punto di vista funzionale; perciò il *feedback* è stato fornito durante il cammino. Il EMG BFB è stato applicato al gastrocnemio laterale. Un *feedback* sonoro (costituito da un tono) è stato usato per indicare se la potenza in fase di *push-off* corrisponde a quella target attesa.

Le sessioni terapeutiche sono state divise in 4 fasi; il fine è stato quello di migliorare la performance del cammino, aumentare la capacità del paziente di rilevare autonomamente i propri errori e di trasferire le capacità acquisite durante la presenza di *feedback* in un contesto nel quale tale *feedback* non è più disponibile.

Il trattamento prevede 2 o 3 sessioni la settimana, della durata di circa 45 minuti ciascuna. Durante la prima fase (primi 5 trattamenti), l'esercizio è stato costante: al paziente, libero di camminare ad una velocità per lui confortevole, sono stati forniti ininterrottamente EMG BFB e indicazioni verbali. In particolare, si è prestata attenzione ad istruire il paziente a sollevare il tallone permettendo al ginocchio di piegarsi mentre spinge sul terreno.

Nella seconda fase (dal 6° al 10° trattamento) si è applicato uno schema variabile di esercizio (ad esempio, modificando la lunghezza del passo, o la velocità) mantenendo costante il EMG BFB, ma riducendo le indicazioni verbali.

Nella terza fase (dal 11° al 15° trattamento) si sono compiuti esercizi variabili (come durante la 2^a fase e variando il terreno su cui si cammina) lasciando che sia il paziente a rilevare autonomamente i propri errori, fornendo solo saltuariamente il EMG BFB.

Nella quarta fase il EMG BFB è stato prevalentemente omesso, mantenendo l'esercizio variabile come durante la 3^a fase.

Tutte le sedute di riabilitazione sono svolte presso la palestra di riabilitazione neuromotoria dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano alla presenza di personale medico e fisioterapisti.

5.1.2 Disegno sperimentale delle acquisizioni di *gait analysis*

L'analisi del cammino è stata effettuata, presso il laboratorio *SAFL* dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano, utilizzando il protocollo LAMB descritto nel paragrafo 2.4.5.

Prima dell'arrivo del soggetto, si sono preparate le strumentazioni necessarie (descritti al paragrafo 4.3), in particolare calibrando il sistema optoelettronico predisponendo un volume di acquisizione adeguato, le due pedane di forza e le sonde EMG.

Il soggetto è stato preliminarmente preparato applicando il *marker-set* LAMB previsto. In dettaglio, questo protocollo richiede il posizionamento di *marker* anatomici in: processo zigomatico dell'osso temporale, processo spinato delle vertebre C7 e T10, *acromion* scapolare, epicondilo omerale laterale, tuberosità ulnare distale, PSIS mediale, ASIS, gran trocantere, condili mediale e laterale femorale, testa della fibula, malleoli mediale e laterale, 1^a e 5^a testa metatarsale, inserzione distale del tendine d'Achille, aspetto dorsale del primo dito.



Figura 5.2 Dettaglio della disposizione del *marker-set* LAMB agli arti inferiori.

Tramite gel conduttivo, sono state applicate otto sonde elettromiografiche (descritte al paragrafo 4.3.3) per acquisire, con una frequenza di campionamento di 1kHz, l'attività degli otto muscoli principali dell'arto inferiore paretico che sono coinvolti nel cammino. Seguendo le Raccomandazioni europee dell'elettromiografia di superficie del SENIAM [57], dopo aver opportunamente preparato la cute, si sono posizionati gli elettrodi in corrispondenza di: retto femorale (RF), tibiale anteriore (TA), gastrocnemio laterale (GAL), soleo (SOL), peroneo lungo (PER), vasto laterale (VL), bicipite femorale (BIC), semimembranoso (SEM).

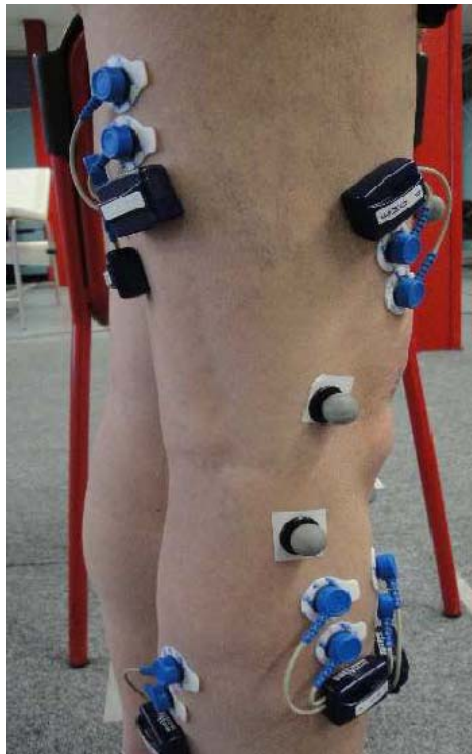


Figura 5.3 Dettaglio della disposizione delle sonde EMG.

Una prima acquisizione statica, con soggetto in posizione eretta con le braccia lungo i fianchi e lo sguardo verso l'orizzonte, ha permesso la calibrazione di alcuni *marker* che è stato poi possibile rimuovere in quanto rappresentano un ostacolo al cammino del soggetto, ovvero quelli posti in corrispondenza di: gran trocantere, condilo mediale, prima testa metatarsale, malleolo mediale.

Solo a questo punto ha inizio l'acquisizione del cammino del soggetto, senza l'utilizzo di scarpe e ausili. Si sono considerate due diverse tipologie di prove dinamiche. La prima, è rappresentata dal cammino a velocità libera, ovvero quella per cui il soggetto manifesta il comfort maggiore (in seguito indicata con *N*, *normal*). La seconda tipologia di dinamica prevede che il soggetto aumenti la velocità del passo fino a raggiungere quella massima a lui possibile (in seguito indicata con *F*, *fast*). Le dinamiche acquisite sono considerate utilizzabili solo se il soggetto pesta completamente almeno una delle due pedane con un solo piede, come esemplificato dalla figura 5.4.

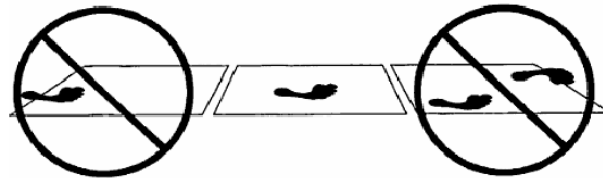


Figura 5.4 Al centro un contatto corretto del piede sulla pedana di forza; a sinistra contatto parziale, a destra multiplo: entrambi sono scartati dall'analisi.

Per garantire una significatività statistica, si è cercato di acquisire almeno tre dinamiche per ogni lato e per ogni tipologia (tre cicli del passo con piede destro che pesta una pedana, tre con piede sinistro; quindi almeno sei a velocità *N* e sei a velocità *F*). In alcuni casi, però, ciò non è stato possibile, in quanto il soggetto non è stato in grado di compiere un numero sufficiente di passi pestando correttamente le pedane; d'altra parte non è possibile ripetere le prove fino al raggiungimento del numero di dinamiche voluto, perché l'affaticamento del soggetto ne altera in modo significativo l'azione, dunque i dati che si otterrebbero non sarebbero validi.

Dopo l'acquisizione delle camminate si sono rimossi i tutti i *marker* e si sono lasciati sul soggetto solo le sonde poste in corrispondenza dei muscoli gastrocnemio laterale, soleo e tibiale anteriore. Dopo aver fatto distendere il soggetto su un lettino, si è inizialmente registrata per un minuto l'attività EMG in questa condizione di riposo, in modo da avere un riferimento del segnale basale. Dopodiché, si è ripetuto per il solo arto paretico lo stesso protocollo a blocchi usato durante le acquisizioni fMRI (paragrafo 5.1.3) mantenendo il soggetto disteso, con le ginocchia leggermente flesse e immobilizzate. Sei periodi di 30 secondi di *rest* sono stati intervallati con altrettanti 30 secondi di *task*, effettuando movimenti di estensione/flessione plantare prima passivamente, poi attivamente. Queste acquisizioni permettono di poter correlare direttamente l'attività dei muscoli coinvolti nello stesso atto motorio eseguito durante la fMRI.

5.1.3 Disegno sperimentale delle acquisizioni fMRI

Tutte le acquisizioni di fMRI sono state effettuate, sia sui soggetti sani che su quelli patologici, presso l'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano utilizzando sempre lo stesso scanner Siemens Magnetom Avanto 1.5T, come descritto al paragrafo 4.4.1.

Il soggetto è stato posto supino sul lettino all'interno dello scanner cercando di immobilizzare sia le gambe, posizionando in modo adeguato dei sacchi di sabbia (due lateralmente ed uno sopra ogni gamba), che la testa. Per garantire maggior comfort, sotto le gambe e a discrezione del soggetto sono stati posizionati dei cuscini. Il ginocchio è mantenuto leggermente flesso e bloccato. Al fine di minimizzare l'attivazione neurale causata dalla visione, il soggetto ha indossato un paio di occhiali oscurati.

Dopo aver posizionato il lettino in modo corretto all'interno dello scanner, si è effettuata l'acquisizione di un'immagine anatomica T1-pesata, ad alta risoluzione con *repetition time* (TR) di 1900ms, *echo time* (TE) pari a 3.37ms, *inversion time* (TI) di 1100ms e *flip angle* (FA) di 15°. Il volume è stato suddiviso in 176 *slice*, ognuna delle quali acquisita dello spessore di 1mm e costituita di 192x256 pixel; ogni *voxel* risulta di dimensione 1mm x 1mm x 1mm.

Dopo l'acquisizione dell'immagine morfologica, si è utilizzato il disegno sperimentale a blocchi, del tipo "rest"/"task", per l'acquisizione delle neuroimmagini funzionali di questo studio. Tale disegno sperimentale prevede il susseguirsi di 12 blocchi, ognuno dei quali della durata di 30 secondi, in modo alternato tra "task" e "rest". Il comando di "via" e di "stop" è indicato verbalmente al soggetto da parte dell'operatore, che dalla postazione di acquisizione controlla il contatore del numero di volumi acquisiti. La sequenza dei 12 blocchi inizia con quello di "rest", di conseguenza termina con un blocco di "task".



Figura 5.5 Disegno sperimentale a blocchi utilizzato per le acquisizioni fMRI.

Il paziente è sottoposto a due diverse tipologie di *task*:

- *task A*: movimento passivo isolato della caviglia; l'operatore muove il piede del soggetto, che rimane in riposo, facendogli compiere una flessione dorsale seguita da una flessione plantare, entrambe di 15°, con frequenza pari a 0.5 Hz;
- *task B*: movimento attivo isolato della caviglia; il soggetto cerca di compiere autonomamente lo stesso movimento imposto nel *Task A* dall'operatore: una flessione dorsale seguita da una flessione plantare, entrambe di 15°, con frequenza pari a 0.5 Hz.

Si è scelto di studiare l'attivazione neurale in risposta a questi *task*, in quanto rappresentativi del movimento che più determina la capacità di deambulazione, in accordo con la letteratura disponibile [58-62].

La sequenza alternata di 12 blocchi è ripetuta sia per l'arto sano che per quello paretico, sia compiendo il *task A*, che quello *B*. In dettaglio, l'ordine utilizzato è:

rest/taskA lato sano, *rest/taskB* lato sano, *rest/taskA* lato paretico, *rest/taskB* lato paretico. La durata totale dell'acquisizione fMRI è, quindi, di 24 minuti.

Per ogni sequenza di 12 blocchi sono state acquisite 144 immagini funzionali pesate $T2^*$, con sequenza eco-planari (EPI) con TR pari a 2500ms, TE di 50ms e FA di 90°. Ogni volume è quindi rappresentativo di un blocco. Ognuno dei 144 volumi è stato suddiviso in 25 *slice*, ognuna delle quali acquisita dello spessore di 5mm e costituita di 64x64 *pixel*; ogni *voxel* risulta di dimensione 3.9063mm x 3.9063mm x 5mm.

È importante posizionare il soggetto ed istruirlo in modo tale da minimizzare qualsiasi movimento diverso dalla dorsi-plantar flessione prevista dai *task*. Altrettanto importante è rispettare la temporizzazione e l'ampiezza dei movimenti previsti nei *task*.

5.1.4 Elaborazione dei dati di *gait analysis*

Dopo aver ottenuto i dati di *gait analysis* utilizzando il software *SMART Capture*, che permette di acquisire in modo sincrono i segnali provenienti dal sistema optoelettronico, dalle pedane di forza e dell'elettromiografo, si è proceduto al loro processing. Come illustrato al paragrafo 4.3.4, il primo passo è rappresentato dall'utilizzo di *SMART Tracker* per il *labelling* dei marcatori rilevati e previsti dal protocollo *LAMB* applicato e la correzione del loro tracciamento automatico.

I files relativi alle dinamiche acquisite sono stati analizzati tramite software *LAMBEVED* per il riconoscimento e l'estrazione dei cicli del passo da tenere in considerazione. Un'interfaccia grafica permette la visualizzazione frame per frame del movimento contenuto nel file *TDF* rappresentando in 3D la posizione dei marcatori e delle pedane ed il vettore di reazione delle forze di reazione delle pedane. È così possibile individuare manualmente gli istanti temporale nei quali avvengono gli eventi di *heel strike* (contatto iniziale) e *toe off* (stacco finale) di ognuno dei due piedi.

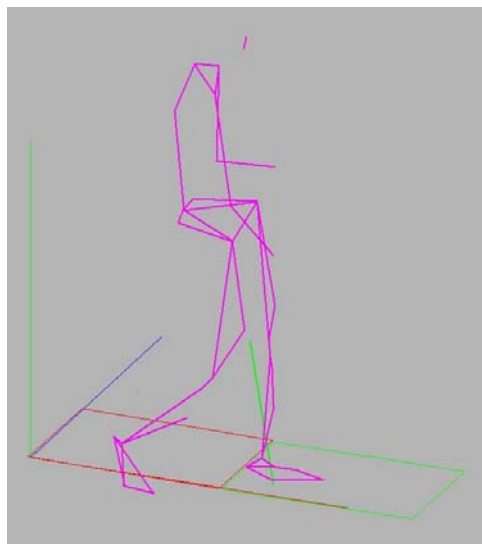


Figura 5.6 Screenshot della visualizzazione grafica permessa dal software LAMBEVED all'istante di *toe off* del piede destro.

Questi istanti temporali, di cicli di passo corretti (come rappresentati in figura 5-7), vengono memorizzati assieme all'indicazione del numero di pedana pestata da ogni passo.

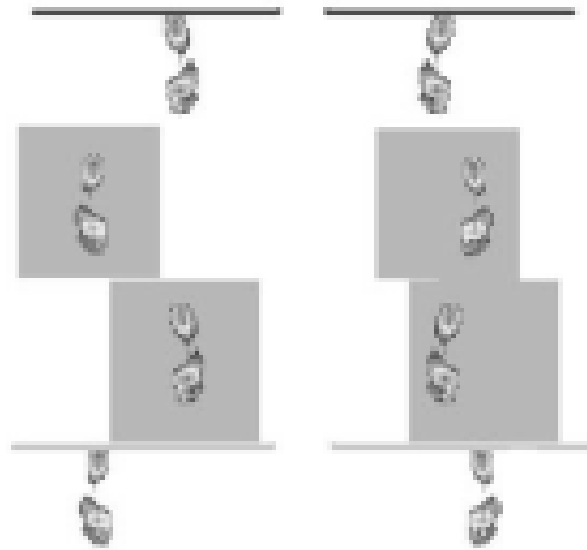


Figura 5.7 Rappresentazione grafica delle due tipologie di passi corretti considerati.

I *file TDF* della statica e delle dinamiche tracciate ed i *file* contenenti le informazioni estrapolate tramite *LAMBEVED*, sono utilizzati da un programma sviluppato in *MATLAB* che, dopo aver applicato filtri e interpolazioni, in modo automatico riconosce i diversi marcatori previsti dal protocollo *LAMB* utilizzato, calcola i sistemi di riferimento anatomici, e le variabili cinematiche in accordo con le convenzioni previste. Dai dati cinematici calcolati, dalle misure di forza delle pedane e tramite modello inverso della dinamica, stima le forze, i momenti e le potenze articolari. Calcola poi la media dei valori ricavati dalle diverse ripetizioni dello stesso *task* (ad esempio, camminata *N* lato destro, o camminata *F* lato sinistro, ecc ...). Infine, produce una tabella riassuntiva dei parametri calcolati ed un file contenente la visualizzazione grafica dell'andamento temporale delle principali caratteristiche cinematiche e dinamiche del movimento calcolate, sovrapposte alla fascia di normalità. Per tutti i parametri calcolati, sono disponibili dei valori di normalità, ottenuti dall'analisi di una popolazione di soggetti sani per un ampio *range* di diverse velocità di cammino.

I parametri che vengono riportati in tabella sono:

- informazioni generali, quali: età (*Age*), sesso (*Sex*), altezza (*BH* [cm]), peso (*BW* [kg]), *FootOnPlat* (indicazione del numero della pedana pestata dal piede);
- informazioni spazio-temporali riguardo le fasi del passo, quali:
 - velocità (*Speed*) e ritmo (*Cadence* [steps/min]) di cammino;
 - lunghezza dello *step* (*StepLength*, cioè di un singolo passo, e dello stride (*StrideLength*), cioè del ciclo del passo;
 - durata temporale del doppio appoggio (*DoubleSupTime* [% gait cycle]), dello stride (*StrideTime* [% gait cycle]) e delle fasi di stance, o appoggio (*StanceTime* [% gait cycle]) e swing, o oscillazione (*SwingTime* [% gait cycle]);
 - velocità della fase di swing (*SwingVel*).

Di tutti questi parametri è indicato sia il loro valore grezzo (*Raw*) che quello normalizzato (*Nor*). La normalizzazione è calcolata:

- rispetto all'altezza (*BH*), per la velocità di cammino ([%*BH*/s]) e per la stride length [*stride length*/*BH*];
- come percentuale del ciclo del passo, per le durate temporali e le lunghezze ([% del *gait cycle* o della *stride length*]).

- informazioni riguardanti la caviglia:
 - picco di potenza prodotta dalla caviglia (*AnklePowerPeak* [W/kg]);
 - lavoro positivo (*AnklePositiveWork* [J/kg]) e negativo (*AnkleNegativeWork* [J/kg]) compiuto dalla caviglia;
 - potenza espressa all'istante di *heel strike* del piede omolaterale (*AnklePowerPeakFromOmoLateralHS* [%*AnklePowerPeak*]) e controlaterale (*AnklePowerPeakFromControLateralHS* [%*AnklePowerPeak*]);
 - distanza temporale tra l'*heel strike* del piede omolaterale (*AnklePowerOnsetFromOmoLateralHS* [% *gait cycle*]) e controlaterale (*AnklePowerOnsetFromControLateralHS* [% *gait cycle*]) dall'istante di picco di potenza espressa dalla caviglia;
- informazioni riguardanti il ginocchio:
 - durata temporale tra l'*hell strike* del piede omolaterale (*KneeFlexionOnsetFromOmoLateralHS* [s]) o contro laterale (*KneeFlexionOnsetFromControLateralHS* [s]) e l'inizio della flessione del ginocchio;
 - massima flessione del ginocchio (*KneeFlexionPeak* [deg]);
 - valore di flessione del ginocchio in corrispondenza del picco di potenza alla caviglia (*KneeFlexionAtAnklePowerPeak* [deg]);
- informazioni riguardanti l'anca:
 - massima flessione (*HipFlexionPeak* [deg]) ed estensione (*HipExtensionPeak* [deg]) dell'anca;
 - momento dell'anca sul piano frontale in corrispondenza del *toe off* del piede contro laterale (*HipFrontalMomentAtControLateralTO* [Nm/kg]);
 - picco di potenza prodotta dall'anca (*HipPowerPeak* [W/kg]);
 - lavoro positivo (*HipPositiveWork* [J/kg]) e negativo (*HipNegativeWork* [J/kg]) compiuto dall'anca;
- rotazioni (*PelvisRotatio* [deg]) ed elevazioni (*PelvisElevation* [deg]) del bacino in corrispondenza dell'*hell strike* (HS) e *toe off* (TO) del piede omolaterale (*OmoLateral*) e controlaterale (*ControLateral*):

<i>PelvisRotationAtOmoLateralHS,</i>	<i>PelvisRotationAtControLateralHS,</i>
<i>PelvisRotationAtOmoLateralTO,</i>	<i>PelvisRotationAtControLateralTO,</i>
<i>PelvisElevationAtOmoLateralHS,</i>	<i>PelvisElevationAtControLateralHS,</i>
<i>PelvisElevationAtOmoLateralTO,</i>	<i>PelvisElevationAtControLateralTO.</i>

Come detto, oltre ai valori di questi parametri, il software sviluppato in *MATLAB* fornisce anche un report contenente la visualizzazione grafica degli andamenti temporali delle più importanti grandezze cinematiche, dinamiche e EMG. Qui in seguito, come esempio, si riportano i grafici contenuti in un report:

- nei tre grafici della figura 5.8 sono indicati in blu i valori relativi al lato destro, in rosso quelli relativi al piede sinistro, in verde i valori di normalità. Da sinistra a destra in questi grafici sono rappresentati i valori misurati, nei diversi passi presi in considerazione, della frequenza (*Cadence*), della lunghezza del passo (*StrideLength*) e della *step length* destra, rispetto alla velocità del cammino (in asse x). Come si vede, i valori di normalità sono disponibili per un ampio *range* di diverse velocità. In questo caso, si vede come, a parità di velocità, il soggetto analizzato presenta una frequenza (*Cadence*) superiore ed una lunghezza del passo (*StrideLenght*) inferiore rispetto ai livelli di normalità; sia per il lato destro che per quello sinistro.

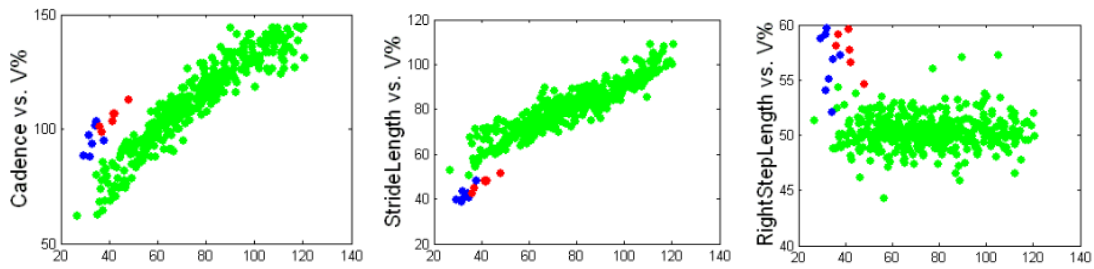


Figura 5.8 Rappresentazione grafica delle due tipologie di passi corretti considerati.

- nella figura 5.9, a sinistra è riportato l'andamento della velocità del centro di massa antero-posteriore (*COM forward vel*), a destra l'andamento del centro di massa verticale (*COM vertical*), a sinistra l'andamento del centro di pressione antero-posteriore (*COP forward*). In questi grafici, come anche nei prossimi che saranno presentati, l'asse x è rappresentativa della percentuale della fase del passo; le linee verticali contraddistinguono i diversi eventi del passo. Il blu rappresenta sempre l'arto destro, il rosso il sinistro e gli andamenti sono sovrapposti alla fascia di normalità di colore grigio che consentono di valutare le differenze patologiche dalla normalità;

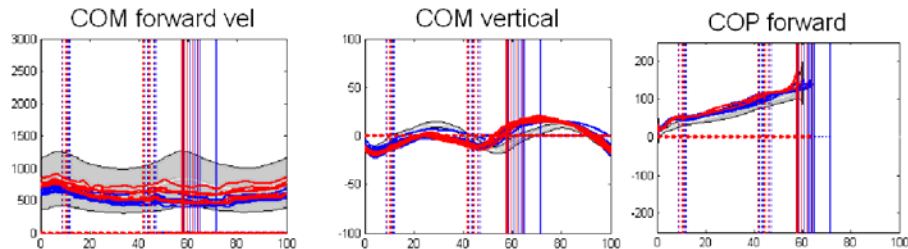


Figura 5.9

- nel report sono presenti anche i grafici (figura 5.10) relativi agli andamenti delle forze di reazione al suolo misurate dalla pedana pestata: a sinistra quelle verticali (*GRF vertical*), a destra quelle longitudinali (*GRF forward*);

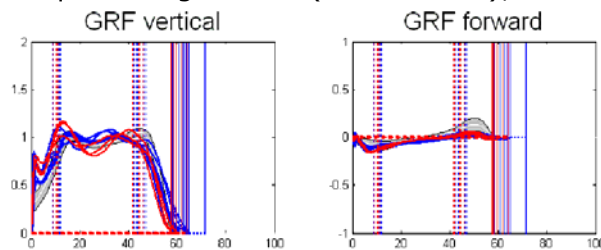


Figura 5.10

- relativi alla cinematica tronco, sono i tre grafici seguenti (figura 5.11): a sinistra l'angolo di flessione estensione (*TRUNK SAG*), al centro l'angolo di ab-adduzione (*TRUNK HOR*), a destra l'angolo di intra-extra rotazione (*TRUNK FRO*);

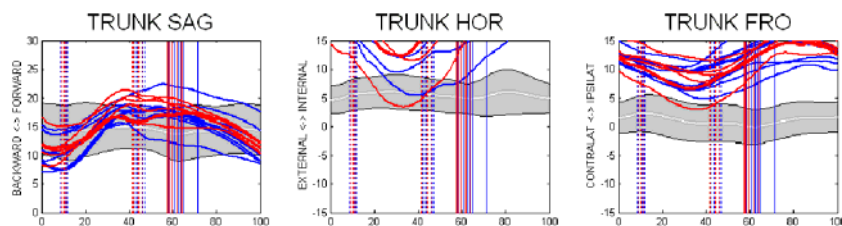


Figura 5.11

- relativi alla cinematica del bacino, sono i tre grafici seguenti (figura 5.12): a sinistra il tilt antero-posteriore (*PELVIS tilt*), al centro la intra-extra rotazione (*PELVIS rotation*), a destra l'inclinazione medio-laterale (*PELVIS obliquity*);

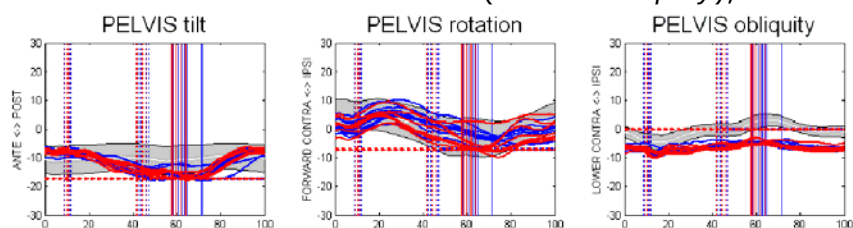


Figura 5.12

- nella figura 5.13 sono mostrati gli andamenti dell'inclinazione della coscia (*THIGH inclination*) e della gamba (*SHANK inclination*);

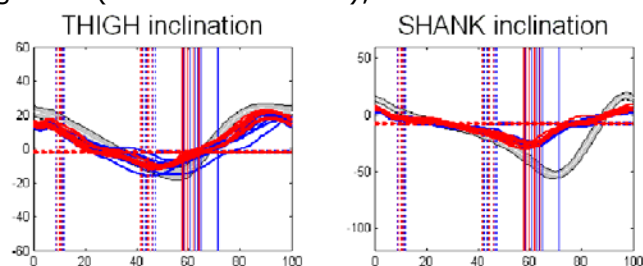


Figura 5.13

- per quanto riguarda il piede, in figura 5.14 a sinistra la sua inclinazione (*FOOT inclination*), a destra la sua rotazione (*FOOT rotation*);

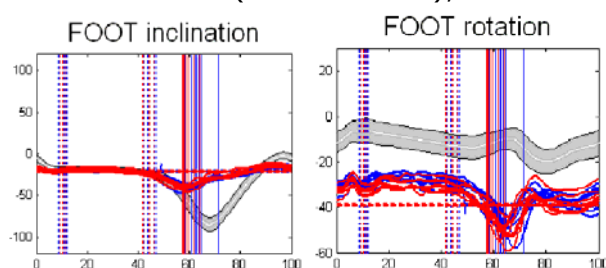


Figura 5.14

- la cinematica dell'anca è rappresentata con un grafico (figura 5.15) che mostra l'adduzione (*HIP adduction*), uno la rotazione (*HIP rotation*) ed uno la flessione (*HIP flex*);

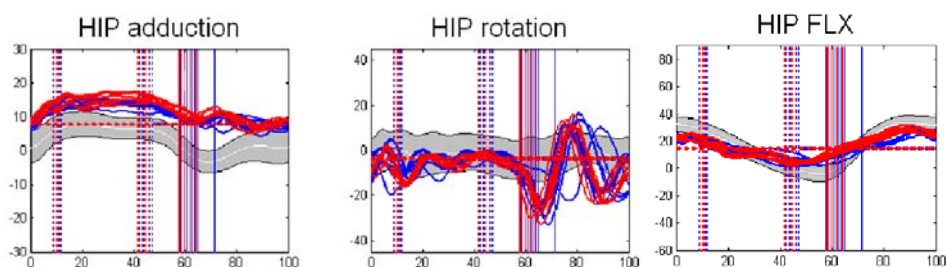


Figura 5.15

- per quanto riguarda l'anca, sono riportati anche i grafici (figura 5.16) relativi al momento esterno di flessione (*ext HIP FLX MOM*), a sinistra, e la potenza espressa dall'anca (*HIP PWR*), a destra;

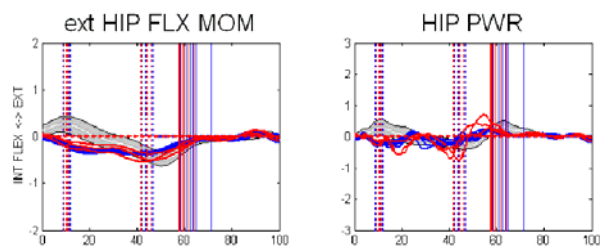


Figura 5.16

- per il ginocchio: a sinistra il grafico (figura 5.17) riporta l'andamento della flessione (*KNEE FLEX*), al centro il momento esterno di flessione calcolato (*ext KNEE FLEX MOM*), a destra la potenza espressa (*KNEE PWR*);

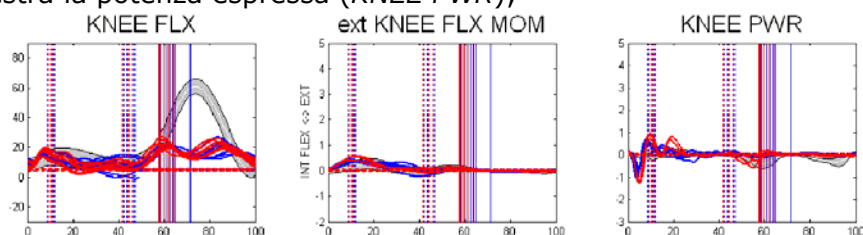


Figura 5.17

- similmente al ginocchio, anche per la caviglia sono riportati i grafici (figura 5.18) relativi alla flessione dorsale (*ANKLE DORSIFLX*), al momento esterno di flessione dorsale (*ext ANKLE DORSIFLEX MOM*) e la potenza espressa dalla caviglia (*ANKLE PWR*).

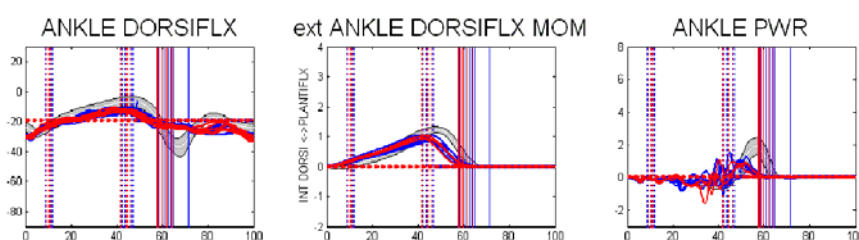


Figura 5.18

-come ultimo grafico (figura 5.19), è rappresentata l'attività mioelettrica degli otto muscoli ai quali sono applicate le sonde EMG.

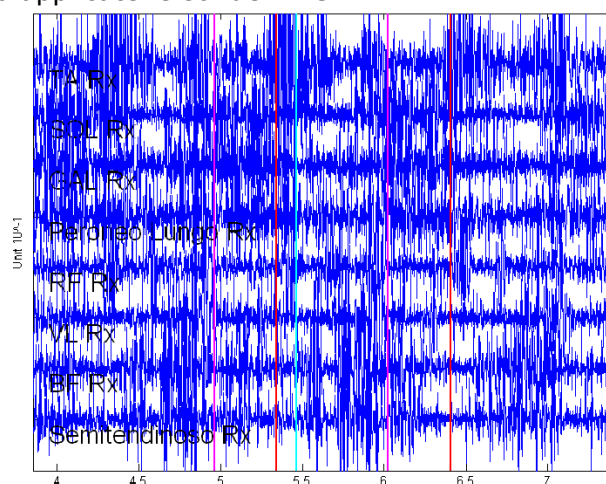


Figura 5.19

5.1.4.1 Proposta di indici di valutazione della *gait analysis*

Di tutti i parametri cinematici e dinamici del passo esposti in precedenza, in questa Tesi si sono utilizzati, per le successive valutazioni, solo: *SpeedRaw* (da qui indicata come *Speed*), *CadenceRaw* (da qui indicata come *Cadence*), *StrideLength*, *AnklePowerPeak*, *AnklePositiveWork*, *AnkleNegativeWork*, *AnklePowerPeakFromControLateralHS*.

Tutti questi sono considerate sia per l'arto paretico che per quello sano, sia per le camminate N, che per quelle F. In totale, per ogni acquisizione, in questa Tesi si considerano 28 parametri (7 per ognuna della quattro combinazioni velocità/arto).

La scelta dell'utilizzo di questi parametri tra tutti quelli disponibili è stata ponderata sulla base di due considerazioni.

La prima è determinata dalle evidenze emerse in precedenti studi:

- in [25] si sono analizzati le variazioni di parametri cinematici e dinamici associati al cambiamento di velocità del cammino, da naturale a veloce, da parte di pazienti ictati. Tutti i soggetti emiparetici hanno mostrato, nel cammino a velocità libera, una cadenza superiore e una ampiezza del passo inferiore rispetto a quelli di controllo a pari velocità, con una differenza tanto minore quanto più la velocità del cammino libero si avvicinava a quella non patologica. Allo stesso modo la potenza prodotta dai muscoli plantar-flessori della caviglia è ridotta notevolmente. Nel cammino veloce, invece, mentre la cadenza e la lunghezza del passo si sono mostrate essere in linea con valori non patologici, il lavoro prodotto dalla caviglia si è rivelato essere ancora inferiore a valori di normalità. Al contrario del lavoro compiuto dalla caviglia, quello espresso dall'anca è rientrato in un *range* di valori normali nel caso di camminata libera, mentre è incrementato spropositatamente con l'aumentare della velocità. Ciò indica che, per incrementare la velocità, la maggior parte dei pazienti ha adottato strategie differenti da quelle di soggetti sani: il limite nella capacità di esprimere potenza alla caviglia è stato sopperito con un anormale aumento del lavoro da parte dell'anca che rappresenta, quindi, un importante risorsa per controllare e modulare la velocità in pazienti emiparetici.

Negli emiparetici si è anche osservata una difficoltà nel modulare correttamente la potenza alla caviglia alle diverse velocità; infatti, se nella camminata libera il timing del picco di potenza alla caviglia è all'interno di un *range* di valori non patologici, all'aumentare della velocità più della metà mostra un avanzamento nel tempo dell'*onset* maggiore del normale, mentre per il 10% è scarso. Quest'ultima osservazione giustifica l'interesse che in questa Tesi si rivolge al parametro *AnklePowerOnsetFromControLateralHS*: un suo valore basso significa che l'*onset* della potenza alla caviglia è in anticipo (prima rispetto a quanto avviene normalmente nel ciclo del passo), mentre un suo valore alto significa un ritardo (più tardi rispetto a quanto avviene normalmente nel ciclo del passo). Una ridotta differenza tra questo valore nella camminata a velocità normale e quella a velocità elevate, significa che l'anticipo dell'*onset* è ridotto rispetto ad una condizione non patologica.

- In [35] si è osservato come il *biofeedback* è stato in grado di aumentare il picco di potenza prodotta, unitamente ad un importante aumento della velocità del cammino, della lunghezza del passo e della frequenza del passo. Tale risultato è in linea con quanto esposto da Colborne et al. [30] che nei loro esperimenti hanno verificato un aumento dell'impulso di *push-off* contemporaneo a modifiche della velocità del passo e della lunghezza del passo. Si è inoltre osservato che l'istante in cui si manifesta il picco di potenza di *push-off* si ritarda nel tempo con il trattamento, mentre il picco di

potenza si anticipa relativamente all'*heel-strike* dell'arto non paretico, indicando che gran parte della potenza prodotta dai flessori plantari può essere stata effettivamente utilizzata per l'avanzamento del corpo, determinando una camminata più veloce e una lunghezza del passo maggiore.

Il secondo motivo alla base della scelta dei parametri di *gait analysis* analizzati in questa Tesi, è rappresentato dal fatto che essi possono essere direttamente correlati con i dati di fMRI, che sono relativi ai movimenti di flesso-estensione plantare. Per questo motivo si considerano, oltre alla velocità e ritmo di camminata, valori di potenza, lavoro e *timing* relativi solo alla caviglia, non anche, ad esempio, relativi anche all'anca come suggerito in [25]. D'altra parte, in soggetti sani la flessione plantare della caviglia produce circa l'80% del totale dell'energia necessaria durante il passo [33], mentre pazienti con emiparesi tendono ad avere una riduzione della potenza della caviglia nella fase di *push-off* oltre alla riduzione della velocità del cammino [34].

Questi parametri sono stati calcolati sia per le camminate a velocità normale (*N*) che elevata (*F*), sia per l'arto controlaterale alla lesione (*CL*) che per quello omolaterale (*OL*), sia prima (*Pre*) che dopo (*Post*) terapia.

Come precedentemente esposto, il primo segno del miglioramento della capacità di cammino del paziente è manifestato dall'aumento della sua velocità. Associato a questo incremento della velocità (*Speed*), gli altri parametri mostrano un "trend di normalità", ovvero una variazione del loro valore direttamente correlata a quella della velocità. In particolare:

- aumenta il valore di *Cadence*, *StrideLength*, *AnklePowerPeak*, *AnklePositiveWork*;
- diminuisce il valore di *AnklePowerOnsetFromControlateralHS*, *AnkleNegativeWork*;

Questi "trend di normalità" sono verificati in letteratura. La quantificazione numerica utilizzata in questa Tesi deriva dai valori di normalità ricavati ed impiegati presso il laboratorio SAFLo dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano dove sono state eseguite le *gait analysis*. In particolare sono stati distinti i valori caratteristici di una camminata a passo normale ed una a velocità elevata.

Per ogni parametro della camminata considerato, si calcola inizialmente lo scostamento tra il valore relativo alla camminata patologica analizzata ed il corrispondente valore di normalità. Questo scostamento è calcolato come percentuale del valore di normalità. In tal modo si permette un confronto tra i diversi parametri del cammino considerati, ovvero si possono osservare quali parametri si differenziano maggiormente dal valore di riferimento e quali di questi sono maggiormente influenzati dal trattamento terapeutico.

Se lo scostamento risulta negativo, significa che la camminata patologica presenta un valore del parametro minore di quello normale; viceversa se positivo. Per *AnkleNegativeWork* e *AnklePowerOnsetFromControlateralHS*, i cui valori di normalità sono negativi, uno scostamento negativo significa sempre che il parametro assume un valore più negativo di quello di riferimento, meno negativo se lo scostamento è positivo (il parametro ha segno opposto a quello del riferimento, cioè positivo, se lo scostamento assume un valore maggiore del 100%).

A partire dal valore calcolato di tali scostamenti, si sono poi proposti tre diversi indici, che possono permettere di valutare come la terapia con EMG BFB abbia influenzato il recupero motorio.

Il primo di questi, denominato "*var_Post-Pre*", esprime la variazione dello scostamento percentuale dal valore normale tra la condizione pre (*Pre*) e quella dopo (*Post*) terapia. Ci si attende che il trattamento riabilitativo, migliorando la performance motoria, riduca tale scostamento: questo caso è rappresentato con un valore negativo dell'indice "*var_Post-Pre*". È possibile che la variazione non sia omogenea tra i diversi parametri, ovvero alcuni di essi possono essere migliorati ed altri peggiorati, o il miglioramento può essere più sensibile per alcuni, meno per altri. Questo comportamento può significare che il trattamento con EMG BFB agisce maggiormente su alcune caratteristiche neuro-motorie associate al cammino, o più semplicemente che la terapia ha permesso un ripristino più evidente dei parametri più compromessi.

Il secondo e terzo, sono indici più caratteristici, legati alla tipologia della patologia e dell'esperimento, che prevede camminate a velocità normale ed elevate.

Per ottenere il secondo indice, si considerano le variazioni percentuali (*diff_F-N*) tra il valore di ogni parametro calcolato per la camminata a velocità massimale (*F*) e quello calcolato per la camminata a velocità normale (*N*). Un suo valore positivo significa che la camminata patologica analizzata si discosta da quella normale di riferimento in modo più netto nel caso di velocità elevate, rispetto alla camminata a velocità basale.

Il secondo indice, chiamato *var_diff_F-N_Post-Pre*, è calcolato come variazione percentuale tra i valori assoluti di *diff_F-N* misurato prima della terapia (*Pre*) e quello misurato dopo la terapia (*Post*). Un valore positivo di questo indice significa che dopo la terapia si è accentuata la differenza tra gli scostamenti dal valore normale dei parametri della camminata *N* e quelli della camminata *F*.

Per ottenere il terzo indice, si considerano le variazioni percentuali (*diff_OL-CL*) tra il valore di ogni parametro calcolato relativamente al lato omolaterale alla lesione (*OL*) e quello relativo al lato controlaterale (*CL*). Ci si attende un valore negativo di *diff_OL-CL*, che significa che la camminata patologica analizzata si discosta maggiormente da quella normale di riferimento se si considera l'arto *CL*, più che per l'arto *OL*.

Il terzo indice, chiamato *var_diff_OL-CL_Post-Pre*, è calcolato come variazione percentuale tra i valori assoluti di *diff_OL-CL* misurato prima della terapia (*Pre*) e quello misurato dopo la terapia (*Post*). Ci si attende che la terapia diminuisca le differenze tra arto paretico ed arto sano e ciò è rappresentato da un valore negativo di *var_diff_OL-CL_Post-Pre*; tuttavia la riabilitazione determina delle alterazioni del pattern motorio anche dell'arto sano per compensare il deficit di quello paretico, per cui un valore positivo di *var_diff_OL-CL_Post-Pre* può essere giustificato da questo motivo.

Una più dettagliata discussione riguardo il significato di questi indici, sarà esposta assieme ai risultati relativi ai soggetti analizzati in questa Tesi (paragrafo 6.3.1).

5.1.5 Elaborazione dei dati di fMRI

Le immagini funzionali acquisite sono rese disponibili dallo scanner sia in formato *DICOM* che in formato *ANALYZE 7.5*; è quest'ultimo che verrà utilizzato nelle elaborazioni in questa Tesi. In seguito si descrivono le elaborazioni [63] che sono state applicate a questi dati grezzi.

5.1.5.1 Pre-processing

Come descritto al paragrafo 3.4, per poter utilizzare le immagini ricostruite dai segnali rilevati dallo scanner di risonanza magnetica, è necessario applicare ad essi delle procedure computazionali. Questi *step* di *pre-processing*, applicati ai dati sfruttando le potenzialità messe a disposizione da SPM (paragrafo 4.4.2), hanno principalmente lo scopo di rimuovere dai dati la variabilità che non rispecchia direttamente gli effetti sperimentali e di rendere le immagini utilizzabili per analisi statistiche.

Per prima cosa, si effettua il riallineamento (in SPM chiamato "*realign*") delle immagini funzionali per correggere i movimenti della testa causati da ritmi fisiologici, come il respiro e il battito cardiaco, o dalla fatica e dallo stress derivante dalla posizione statica da assumere, o dai *task* in esame. Quest'ultimo motivo è il preponderante nelle immagini acquisite in questa Tesi. Infatti, richiedendo al soggetto di compiere flessioni dorsi-plantare, nonostante si cerchi di immobilizzare il resto del corpo, tali gesti si ripercuotono al resto del corpo fino alla testa, soprattutto come conseguenza della patologia che altera i pattern di movimento: tanto più la patologia ha esiti importanti, tanto più evidenti appaiono gli spostamenti della testa. La correzione degli *head motion* è un passaggio fondamentale, in quanto questi rappresentano la causa principale di errore nelle immagini funzionali.

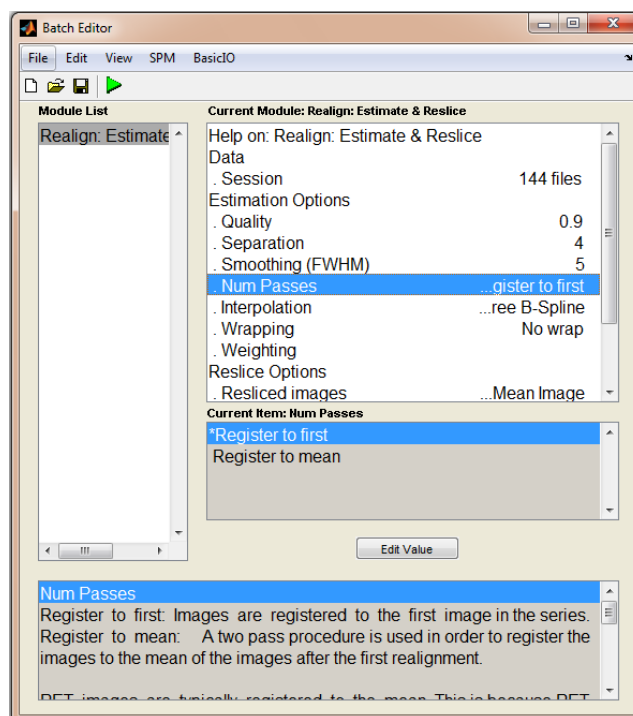


Figura 5.20 Screenshot del comando *realign* di SPM.

In SPM il riallineamento della serie temporale delle immagini acquisite avviene tramite un approccio ai minimi quadrati e trasformazioni spaziali rigide (6 parametri). Si è scelto di registrare le 144 immagini (una per ognuno dei 144 volumi acquisiti per ogni serie di 12 blocchi, come descritto al paragrafo 5.1.3) alla prima acquisita, indicata come "*reference*", in quanto la posizione assunta in essa dal volume non è affetta da

head motions. Dopo il riallineamento le immagini sono rielaborate in modo da coincidere con l'orientamento di quella di "reference".

Viene poi visualizzato un grafico (figura 5.21 come esempio) raffigurante il movimento della testa mediante gli andamenti nel tempo (nei volumi) delle tre traslazioni e tre rotazioni rigide; tali valori sono poi memorizzati in un file che verrà utilizzato in questa Tesi per verificare che i movimenti non siano stati così importanti da inficiare la qualità delle successive elaborazioni.

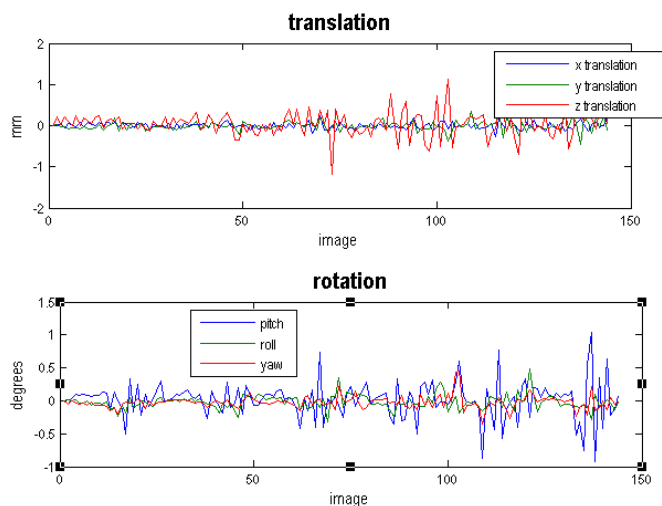
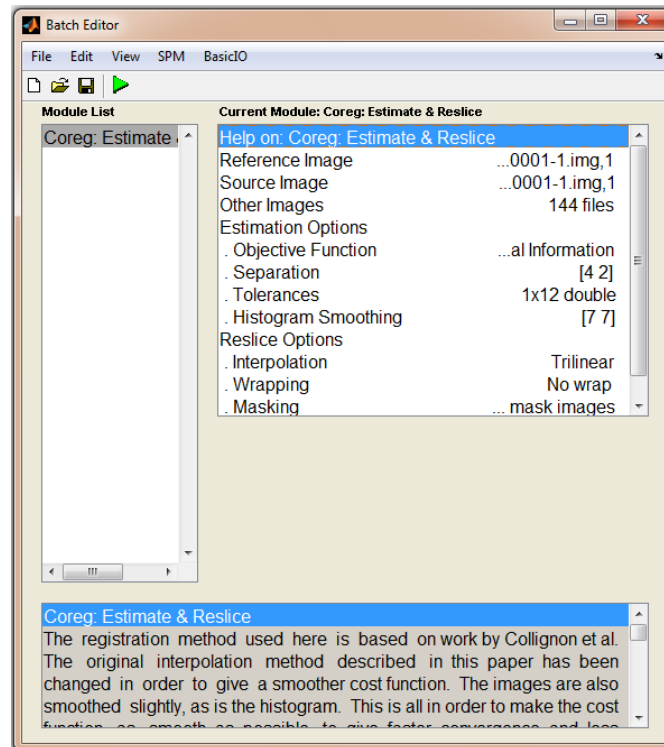


Figura 5.21 Esempio di grafico raffigurante le roto-traslazioni compiute dalla testa durante l'acquisizione.

Dopo la correzione dei movimenti della testa ed il riallineamento delle immagini funzionali, queste si sono coregistrate (funzione "coregister" in SPM) a quella anatomica, ovvero si è stabilita una relazione spaziale fra di loro, per poter sfruttare la risoluzione dettagliata dell'immagine anatomica e quindi riconoscere le diverse strutture nelle immagine funzionali.

Figura 5.22 Screenshot del comando *coregister* di SPM.

La routine crea una mappa di corrispondenze, *voxel per voxel*, tra la "*reference image*" (chiamata anche *target image* o *template*), ossia un'immagine assunta stazionaria, e la "*source image*", che è fatta coincidere alla precedente e poi ricampionata. In questa Tesi il riferimento è costituito dall'immagine anatomica e ad essa è registrata l'immagine funzionale media ottenuta dal riallineamento, assunta come "*source image*". Tutte le altre immagini funzionali, indicate con "*other images*", rimangono allineate alla "*source image*" e quindi sono sottoposte alla medesima trasformazione.

Al termine di questa operazione, SPM riporta (in alto in figura 5.23) le equazioni che descrivono le coordinate X_1, Y_1, Z_1 del *voxel* appartenente alla "*source image*" in funzione delle coordinate X, Y, Z del *voxel* appartenente alla "*reference image*"; i coefficienti (sono i 12 parametri stimati) formano la matrice di trasformazione applicata.

Due grafici mostrano (le figure centrali in 5.23) il *joint histogram* prima e dopo la coregistrazione, costruito in base al numero di corrispondenze tra il *voxel* dell'immagine di riferimento ed il relativo nell'immagine sorgente.

Infine, sono rappresentate le sezioni frontale, sagittale ed orizzontale dell'immagine anatomica (in basso a sinistra in 5.23) e dell'immagine funzionale coregistrata ad essa (in basso a destra in 5.23).

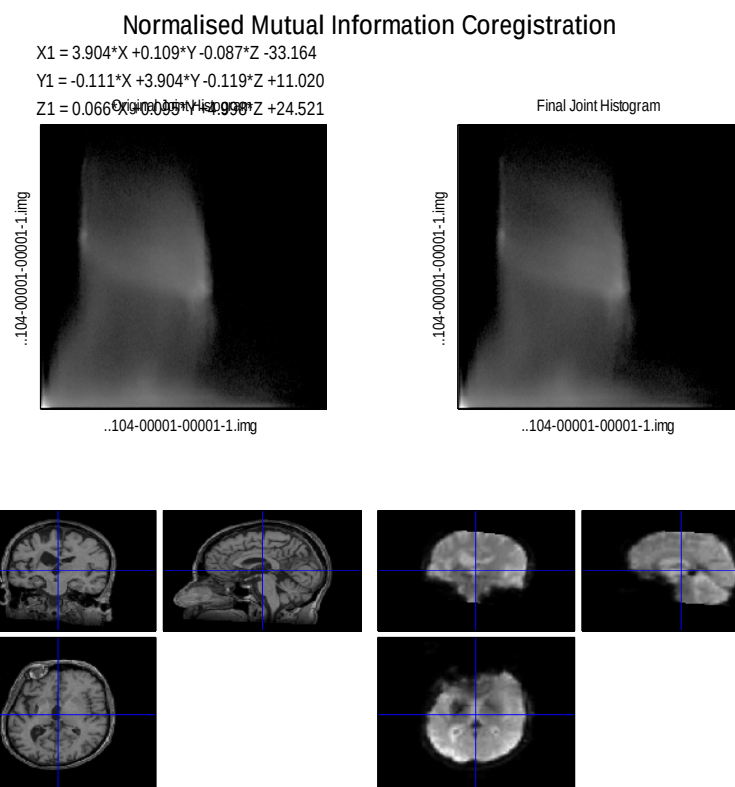


Figura 5.23 Report del comando *coregister* di SPM.

Per poter confrontare fra loro immagini funzionali relative a soggetti diversi, è necessario che queste facciano riferimento ad un modello di cervello definito, ovvero devono essere normalizzate ad uno spazio comune (paragrafo 3.4.4). La funzione *"normalise"* in SPM richiede che sia specificata una *"source image"*, immagine che viene deformata in modo da coincidere con la *"template image"* (o una combinazione di più di una *template*). In questa Tesi l'immagine anatomica è impiegata come sorgente, mentre si utilizza come *template* lo spazio MNI (T1) fornito in SPM. Tutte le immagini funzionali (specificate come *"images to write"*) subiscono la stessa deformazione calcolata per la *"source image"*, restando così ad essa e fra loro registrate.

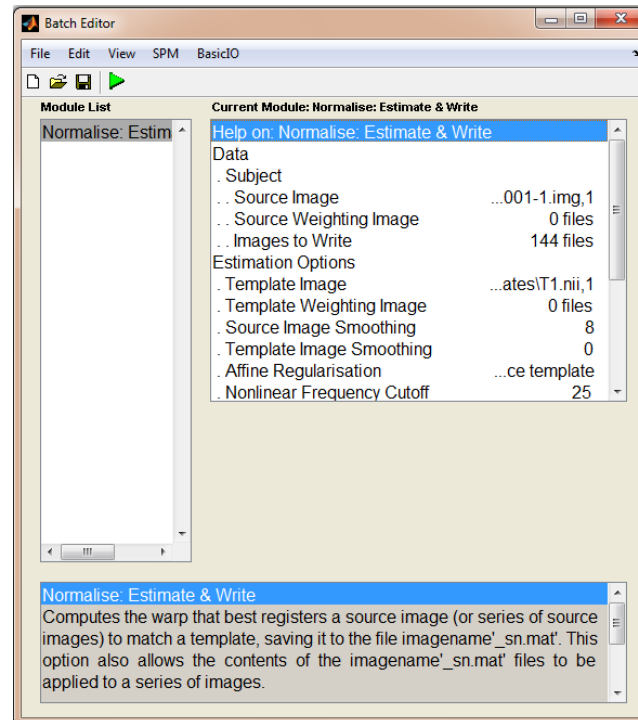


Figura 5.24 Screenshot del comando *normalise* di SPM.

Per compensare le differenze morfologiche tra il cervello sorgente e quello *template*, l'algoritmo opera minimizzando la somma delle differenze quadratiche tra l'immagine che deve essere normalizzata, e una combinazione lineare di una o più immagini *template*. Per raggiungere l'ottimo globale, quindi ottenere una stima della trasformazione spaziale non affetta da *bias*, è necessario che i contrasti dell'immagine *template* e sorgente siano simili. Il primo passo è rappresentato dalla determinazione dei 12 parametri della trasformazione ottima. La registrazione viene eseguita inizialmente facendo corrispondere l'intero cranio (compreso lo scalpo) con l'immagine *template*, e poi considerando solo il volume cerebrale. Vengono poi stimate le deformazioni non lineari necessarie per ottenere la perfetta corrispondenza tra immagine e *template*.

Le immagini funzionali sono state acquisite rappresentando ognuno dei 144 volumi come suddiviso in 25 *slice* dello spessore di 5mm e costituita di 64x64 *pixel*; dopo normalizzazione sono interpolate in modo tale da corrispondere alle dimensioni del volume *template*, suddiviso in 91 *slice* di dimensione 109x91 *slice*.

Linear (affine) component

$$X1 = 1.061 * X - 0.080 * Y - 0.138 * Z + 1.197$$

$$Y1 = 0.078 * X + 1.065 * Y + 0.243 * Z - 31.784$$

$$Z1 = 0.132 * X - 0.252 * Y + 1.079 * Z - 15.378$$

16 nonlinear iterations
 $7 \times 9 \times 7$ basis functions

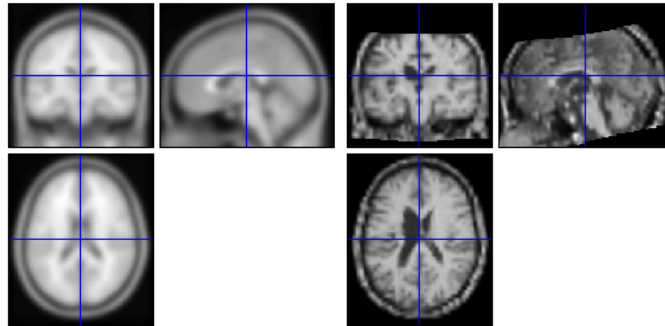


Figura 5.25 Report del comando *normalise* di SPM.

Come ultima fase del *pre-processing* si applica uno *smoothing* spaziale (paragrafo 3.4.6) per migliorare il SNR riducendo il rumore grazie alla caratteristica di passa-alto; di contro, peggiora la risoluzione spaziale, in quanto il valore di ogni *voxel* è ottenuto come media pesata dei valori dei *voxel* adiacenti.

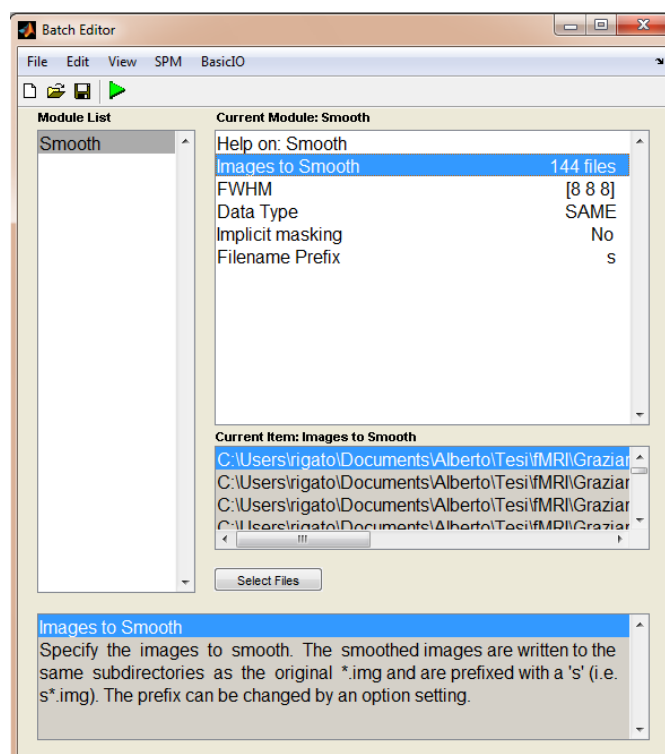


Figura 5.26 Screenshot del comando *smooth* di SPM.

SPM (funzione "*smooth*") utilizza un filtro Gaussiano, di cui deve essere specificata l'ampiezza del suo *kernel* di forma normale, espressa in millimetri come metà del

valore massimo (*FWHM: full width half maximum*). In questa Tesi si è utilizzato un valore pari a 8mm, che da precedenti test è risultato essere un buon compromesso.

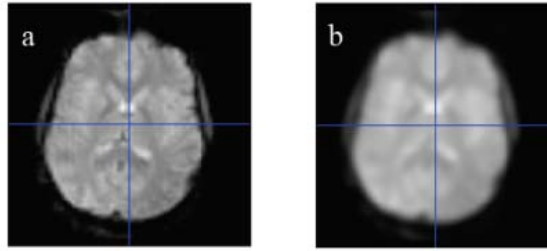


Figura 5.27 Immagine prima (a) e dopo (b) lo *smoothing*.

5.1.5.2 Analisi statistica GLM

L'analisi statistica dei dati fMRI, realizzata tramite SPM, utilizza un approccio basato sul *General Linear Model* (GLM nel paragrafo 3.5.1), ipotizzando che i segnali provenienti dai diversi *voxel* siano tra loro indipendenti. Si possono individuare tre diverse fasi. La prima riguarda la definizione della *design matrix* e l'indicazione dei file contenenti i dati fMRI da processare. La seconda è la stima dei parametri GLM. Infine, si specifica il vettore contrasto e si esegue il test per ottenere, dalle stime del punto precedente, le *Statistical Parametric Maps* (SPM) che esplicitano quali *voxel* si possono considerare essere attivati durante il *task* esaminato, con una significatività statistica stabilita.

Nella prima fase (in SPM indicata con "*specify 1st-level*") si definiscono i parametri necessari all'analisi *within-subject*.

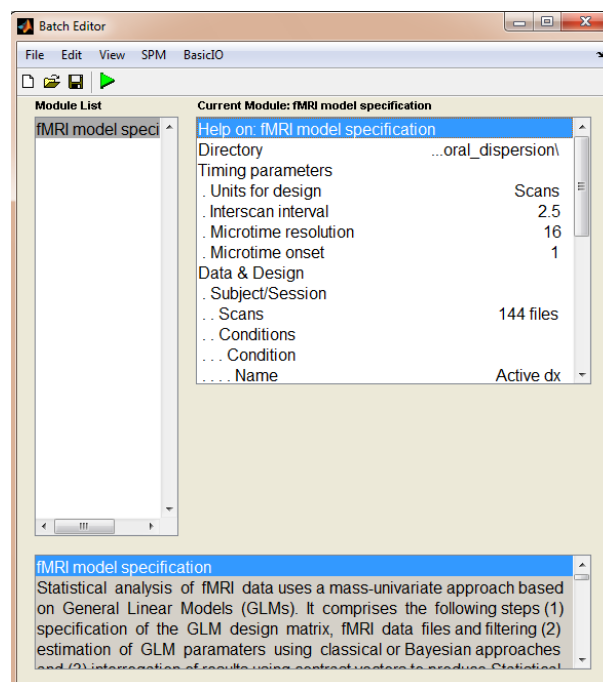


Figura 5.28 Screenshot del comando *specify 1st-level* di SPM.

La *design matrix* rappresenta il disegno sperimentale e specifica le ipotesi da testare; è formata da un numero di righe pari al numero di scansioni ed una colonna per ogni variabile beta da stimare. Per prima cosa bisogna indicare l'unità di misura utilizzata ("*units for design*") ed il tempo di ripetizione ("*intersecan interval*"), che per questa Tesi sono rispettivamente le scansioni (*scan*) e TR pari a 2.5 secondi. Si individuano anche le immagini pre-processate da considerare.

Per definire il disegno sperimentale che si è adottato, si specificano la sequenza e la durata dei diversi blocchi "*task/rest*" acquisiti, assegnando valori opportuni alle variabili "*onsets*" e "*durations*". In "*onsets*" si indicano gli istanti (*scans* come unità di misura) che permettono la suddivisione in blocchi delle immagini acquisite, nel caso specifico di questa Tesi "*onsets*" avrà valore (12:24:144), cioè il primo blocco di *task* inizia dopo il volume 12, l'ultimo termina con l'immagine 144 e 24 volumi sono interposti tra l'inizio di due *task* successivi; in "*durations*" si indica la durata di ogni blocco, ovvero 12.

Per ottenere la *design matrix* è necessario specificare, oltre al disegno sperimentale, anche un modello di risposta emodinamica HDR. In questa Tesi si è adoperata la *Canonical HRF* (*Hemodynamic Response Function*) con *time* e *dispersion derivatives* (paragrafo 3.5.1). Si è scelto questo modello in quanto permette un numero maggiore di gradi di libertà nella descrizione della forma e del timing della risposta emodinamica effettiva, rispetto all'utilizzo della sola *Canonical*. Per l'esperimento realizzato in questa Tesi, la forma della risposta emodinamica attesa, così come specificata in SPM, è mostrata nella figura seguente (figura 5.29).

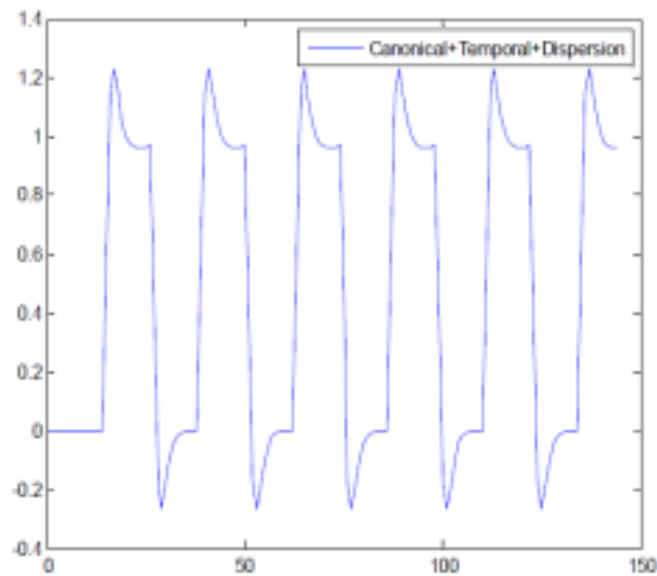


Figura 5.29 Risposta emodinamica attesa.

La *design matrix* viene poi calcolata da SPM come convoluzione e la forma che si ottiene per gli esperimenti di questa Tesi è raffigurata nella figura seguente (figura 5.30). È costituita di 144 righe e 4 colonne, dove la prima colonna è relativa alla funzione Canonical, la seconda alla derivata "*Temporal*", la terza alla derivata "*Dispersion*", l'ultima colonna, di valore costante, si riferisce alla funzione basale, cioè corrispondente ad una situazione di riposo (*rest*).

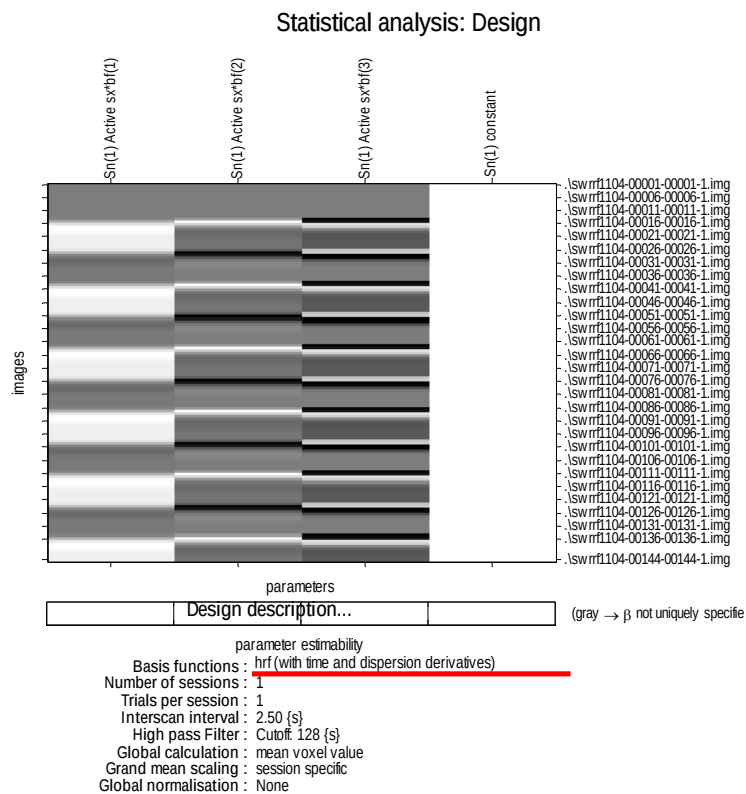


Figura 5.30 Design Matrix.

La seconda fase dell'analisi statistica è rappresentata dalla stima dei parametri beta del modello GLM appena definito. SPM rende possibile questo *step* con la funzione "estimate", che richiede di specificare il file *SPM.mat* creato durante la fase precedente e che contiene le specifiche sperimentali (*design matrix* e *file* contenenti le immagini funzionali). Inoltre, si deve indicare quale metodo di stima, tra i diversi disponibili in SPM, si vuole utilizzare: in questa tesi si adotta la *ReML* (*Restricted Maximum Likelihood*).

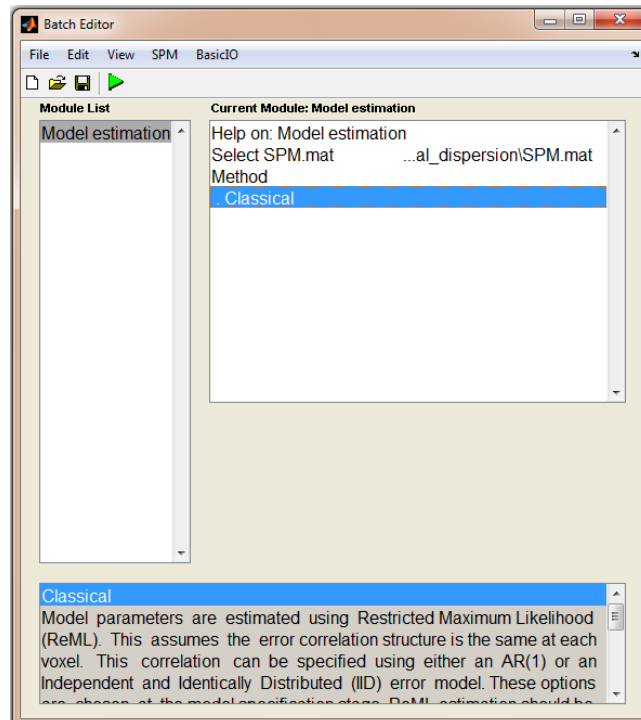


Figura 5.31 Screenshot del comando *estimate* di SPM.

In questa fase SPM produce 4 immagini (*beta_00k.img*, con k indice del coefficiente beta relativo), una per ogni beta, contenente i loro valori stimati. Un'altra immagine (*ResMS.img*) è creata per descrivere la varianza dell'errore, un'altra (*mask.img*), indica quali *voxel* sono stati inclusi nell'analisi. Un'ultima immagine (*con_0001.img*) specifica per ogni *voxel* il valore del *t-contrast* calcolato.

Dopo aver stimato i parametri beta del modello GLM, nell'ultima fase dell'analisi statistica, tramite la funzione "results" di SPM, si specifica il vettore contrasto da utilizzare nel test statistico per ottenere le *Statistical Parametric Maps*. In particolare, in questa Tesi si è utilizzato un vettore contrasto, *t-contrast*, pari a $[1 \ 0 \ 0 \ 0]$. In tal modo si considera solo il valore del primo coefficiente beta, ovvero quello corrispondente alla funzione *Canonical HRF* (vedi figura 5.32). Questa scelta è dettata dal fatto che le zone che risultano attive prendendo in considerazione il primo termine (*canonical*) sono le stesse che si avrebbero se si considerassero tutti i termini assieme; inoltre, le attivazioni che si otterrebbero dai soli termini derivativi, sono di difficile interpretazione funzionale e fisiologica.

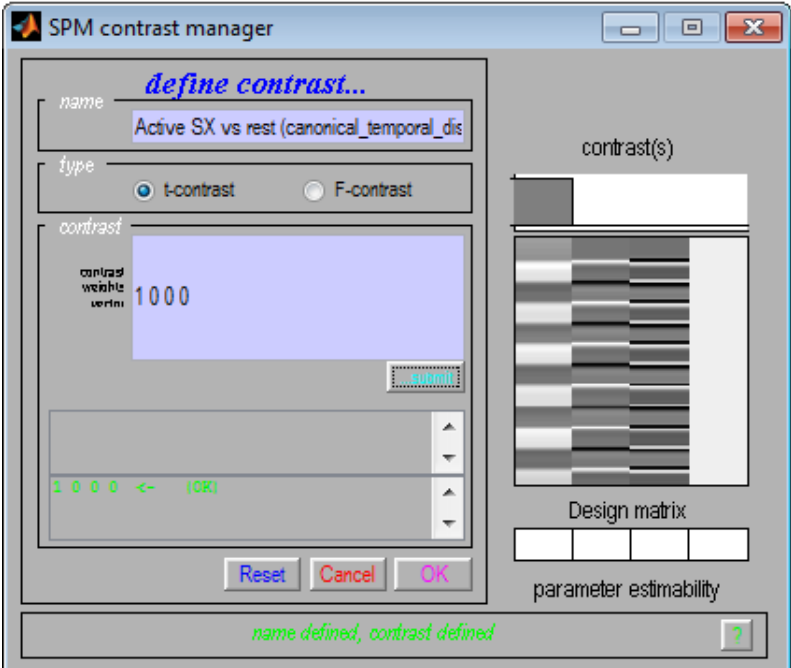


Figura 5.32 Screenshot del comando *results* di SPM.

Si sceglie, poi, se adottare o meno la correzione FWE ed il valore di *p-value* da considerare nel test statistico. I risultati in questa Tesi sono ricavati per un *p-value* pari a 0.05 e imponendo la correzione FWE. Infine, per evitare attivazioni sparse di singoli *voxel*, si indica il numero di *voxel* contigui ("extent threshold") che devono essere contemporaneamente attivi per poter ritenere la zona come attiva; in questa Tesi si considerano volumi costituiti da almeno 15 *voxel*.

Si ottiene così la *Statistical Parametric Map* voluta (ad esempio, figura 5.33), e SPM ne permette una visualizzazione dinamica, nel senso che consente di navigare all'interno del volume mostrando le sezioni frontale, sagittale ed orizzontale

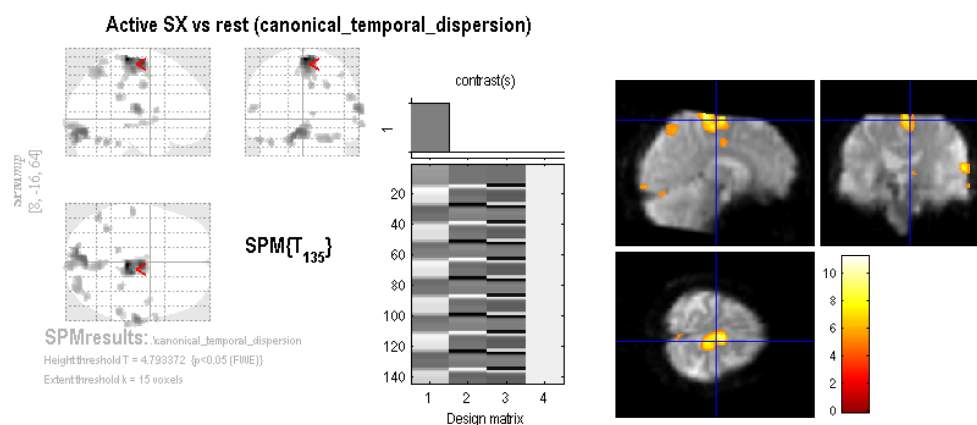


Figura 5.33 Esempio di mappa statistica parametrica risultante dall'elaborazione GLM.

5.1.5.3 Cluster analysis

Il metodo GLM per l'analisi statistica del segnale fMRI, proposto nel paragrafo precedente, richiede un'elevata accuratezza del segnale fMRI che deve rispecchiare la risposta emodinamica ipotizzata a partire dal disegno sperimentale adottato. Come esposto al paragrafo 3.5.2, questo metodo "*hypothesis-driven*" può portare a risultati insoddisfacenti, in quanto è molto sensibile alla modalità con la quale la sequenza di "*task/rest*" viene attuata.

Senza fare ipotesi riguardanti il disegno sperimentale utilizzato, si possono esplorare i dati e, tramite stime matematiche di similarità tra gli andamenti temporali dei diversi *voxel*, classificarli in *cluster* differenti. L'applicazione diretta delle tecniche di *clustering* alle serie temporali di dati fMRI rappresenta, quindi, un metodo immediato di analisi statistica che incorpora sia informazioni spaziali che temporali.

Per ridurre il set di *voxel* sul quale si è poi applicato l'algoritmo di *clustering*, sia per diminuire il costo computazionale che per motivi di stabilità, si sono clusterizzati soli i *voxel* considerati da SPM in fase di "*estimate*", ovvero l'immagine *mask.img* è stata utilizzata per mascherare le immagini funzionali. Ciò è stato possibile in quanto il *clustering* è stato applicato ai dati dopo che essi erano già stati analizzati tramite il metodo GLM visto precedentemente. Un *clustering* più raffinato si sarebbe ottenuto scegliendo altri criteri per ridurre il set di *voxel*, ad esempio segmentando i dati fMRI per eliminare dall'analisi i *voxel* relativi alla materia bianca e al fluido cerebrospinale e considerare solo quelli relativi alla materia grigia.

Per ogni *voxel* si è calcolato il valore medio della serie temporale del segnale; tale valore è poi stato sottratto al segnale in ogni immagine della sequenza, che in tal modo risulta normalizzata: la serie temporale è rappresentata dalla sola variazione del segnale misurato. Questa operazione è necessaria, in quanto si è interessati a suddividere i *voxel* in base alla loro risposta alle ripetizioni dei blocchi di "*rest/task*", ovvero alla modalità con la quale il loro segnale varia nel tempo; se non si sottraesse la media, il *clustering* sarebbe fortemente influenzato dal livello basale del segnale, che varia di molto tra *voxel* diversi ed ha un valore molto più alto del *range* di variabilità causato dalle successione di "*task*" e "*rest*".

Come algoritmo di *clustering*, in questa Tesi si è scelto di adoperare il *k-means*. Anche se non garantisce il raggiungimento dell'ottimo globale e la qualità della soluzione finale dipende largamente dal set di cluster iniziale, lo si è scelto perché converge molto più rapidamente rispetto ad altre tecniche più raffinate.

Per applicare il clustering, preceduto dalle due operazioni descritte in precedenza, si è sviluppato un codice MATLAB ad-hoc, sfruttando la *function kmeans*:

```
[Vk,centroidi]=kmeans(masked_volumes,n_clusters,'replicates',n_rep  
_clustering,'display','iter','distance','sqEuclidean','maxiter',n_  
maxiter);
```

Come parametri, si sono specificati:

- *n_rep_clustering*=5, che si riferisce al numero di "*replicates*", cioè il numero di volte che si ripete il clustering, ogni volta con un nuovo set di posizioni iniziali dei centroidi dei *cluster*;

- *n_maxiter*=200 come numero massimo di iterazioni ("*maxiter*") consentite;
- *sqEuclidean* come *distance*, ovvero l'algoritmo ha calcolato il quadrato della distanza euclidea per ogni *voxel* da ogni centroide;
- *n_clusters*, indica il numero di clusters in cui si suddividono i *voxel*; si è effettuato il *clustering* per tre diversi valori: 6, 10 e 14.

La function ritorna:

- *Vk*, un vettore che contiene, per ogni *voxel*, l'indicazione del numero del cluster a cui, in base al risultato dell'esecuzione dell'algoritmo, esso appartiene;
- *centroidi*, che contiene l'andamento nel tempo (cioè nei volumi/immagini) del segnale caratteristico di ciascun cluster ottenuto.

La principale difficoltà associata all'utilizzo di metodi *data-driven*, come il *clustering*, è l'individuazione del numero di *cluster* da isolare dal data set. Al crescere del numero di componenti aumenta anche la capacità di discriminare la variabilità dei dati, ma le componenti diventano sempre più difficilmente interpretabili. Per questo motivo, in questa Tesi sono stati applicati ai dati tre diversi *clustering*, suddividendo i *voxel* prima in 6, poi in 10 ed infine in 14 *cluster*.

5.1.5.4 Proposta di indici di valutazione del segnale fMRI

Le immagini funzionali ricostruite dallo scanner sono state impiegate, dopo essere state elaborate mediante i passi di *pre-processing* descritti precedentemente, in indagini statistiche sia adoperando il metodo GLM sia applicando ad esse un *clustering*. Si è poi esplorata la possibilità di utilizzare i dati pre-elaborati per un'analisi non soggetta ai limiti evidenziati dal metodo GLM e dal *clustering* (paragrafo 6.2) e che sia robusta e standardizzabile, permettendo di individuare degli indici che descrivano quantitativamente l'attività neurale e che racchiudano un significato clinico/fisiologico. Tramite MATLAB è stata creata una *routine ad-hoc* per implementarla.

A differenza delle due precedenti analisi statistiche, in questa non si vogliono analizzare singolarmente i *voxel* costituenti il volume, ma raggruppati in ROI. L'interesse viene quindi rivolto sulle diverse aree del cervello, non su di una localizzazione più puntuale. Questa scelta è dettata dal fatto che uno degli scopi di questo studio è quello di individuare quali aree cerebrali si attivano in seguito alla sequenza di blocchi di stimoli diversi e di quantificare la variazione dell'intensità di queste attivazione nel tempo e tra soggetti diversi; lo scopo non è l'individuazione morfologicamente accurata dell'attivazione. D'altra parte, *voxel* contigui sono correlati fra loro ed anche le diverse fasi di *pre-processing* (determinano uno *smoothing*) ne aumentano la dipendenza reciproca, quindi con l'elaborazione fatta delle immagini fMRI, l'analisi puntuale perde significatività.

Le immagini funzionali sono state normalizzate allo spazio MNI, per cui è su questo *template* si è predisposta una suddivisione dell'intero volume del cervello in 116 ROI individuate su base anatomica (Tabella 5.1), a coppie simmetriche tra emisfero destro e sinistro; ogni emisfero è stato quindi partizionato in 58 ROI equivalenti. Questo frazionamento è stato applicato a tutte le immagini funzionali acquisite.

ROI	emisfero	
	DX	SX
Frontal Pole	1	59
Insular Cortex	2	60
Superior Frontal Gyrus	3	61
Middle Frontal Gyrus	4	62
Inferior Frontal Gyrus Pars	5	63
Inferior Frontal Gyrus Pars	6	64
Precentral Gyrus	7	65
Temporal Pole	8	66
Superior Temporal Gyrus Anterior	9	67
Frontal Pole	10	68
Insular Cortex	11	69
Superior Frontal Gyrus	12	70
Middle Frontal Gyrus	13	71
Inferior Frontal Gyrus Pars	14	72
Inferior Frontal Gyrus Pars	15	73
Precentral Gyrus	16	74
Temporal Pole	17	75
Superior Temporal Gyrus Anterior	18	76
Frontal Pole	19	77
Insular Cortex	20	78
Superior Frontal Gyrus	21	79
Middle Frontal Gyrus	22	80
Inferior Frontal Gyrus Pars	23	81
Inferior Frontal Gyrus Pars	24	82
Precentral Gyrus	25	83
Temporal Pole	26	84
Superior Temporal Gyrus Anterior	27	85
Frontal Pole	28	86
Insular Cortex	29	87
Superior Frontal Gyrus	30	88
Middle Frontal Gyrus	31	89
Inferior Frontal Gyrus Pars	32	90
Inferior Frontal Gyrus Pars	33	91
Precentral Gyrus	34	92
Temporal Pole	35	93
Superior Temporal Gyrus Anterior	36	94
Frontal Pole	37	95
Insular Cortex	38	96
Superior Frontal Gyrus	39	97
Middle Frontal Gyrus	40	98
Inferior Frontal Gyrus Pars	41	99
Inferior Frontal Gyrus Pars	42	100
Precentral Gyrus	43	101
Temporal Pole	44	102
Superior Temporal Gyrus Anterior	45	103
Frontal Pole	46	104
Insular Cortex	47	105
Superior Frontal Gyrus	48	106
Middle Frontal Gyrus	49	107
Inferior Frontal Gyrus Pars	50	108
Inferior Frontal Gyrus Pars	51	109
Precentral Gyrus	52	110
Temporal Pole	53	111
Superior Temporal Gyrus Anterior	54	112
Frontal Pole	55	113
Insular Cortex	56	114
Superior Frontal Gyrus	57	115

Tabella 5.1 Numero delle rispettive ROI individuate nell'emisfero destro e in quello sinistro.

Per ogni ROI si è ottenuta la serie temporale della media dei segnali relativi ai diversi voxel che la compongono.

Un esempio è riportato in figura 5.34: in rosso è rappresentato l'andamento del segnale medio della terza ROI dell'emisfero destro, mentre in blu la corrispondente nell'emisfero sinistro.

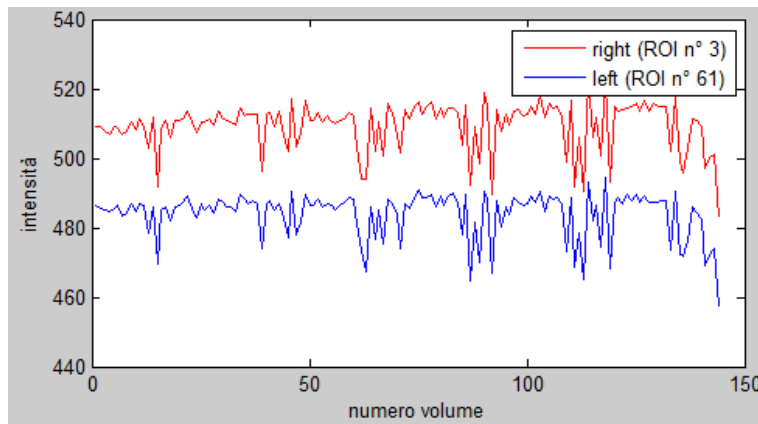


Figura 5.34 Esempio di segnale medio rilevato in una ROI (n°3) dell'emisfero destro (in rosso) e la rispettiva nell'emisfero sinistro (in blu).

Per ogni coppia di ROI corrispondenti (ovvero la i -esima ROI dell'emisfero destro, con la i -esima ROI dell'emisfero sinistro) si sono ricavate due misure di differenza delle serie temporali del segnale medio.

La prima è una differenza media, ovvero calcolata come:

media temporale di (segnale medio nella ROI dell'emisfero controlaterale al movimento - segnale medio nella ROI dell'emisfero omolaterale al movimento)

Ovvero, nel caso di movimento dell'arto destro, si calcola la media temporale della differenza data dal valore medio relativo all'emisfero sinistro meno il segnale medio relativo all'emisfero destro; viceversa se il movimento avviene con l'arto sinistro. Si è fatta questa scelta sulla base dell'evidenza che il movimento di un arto è controllato dall'emisfero controlaterale. Con questa convenzione, un valore positivo della differenza media tra il segnale medio delle ROI corrispondenti, significa che l'emisfero controlaterale al movimento è effettivamente più attivato rispetto a quello omolaterale; il contrario se la differenza risulta negativa.

Oltre alla media temporale della differenza tra i segnali medi nelle ROI corrispondenti dei due emisferi, si è calcolata anche la radice quadrata della somma dei quadrati di tali differenze in ogni istante (volume acquisito). Questa seconda misura di differenza è stata considerata per evitare che la presenza di differenze di segno opposto determinino una loro media nulla, mascherando il fatto che in realtà i segnali presentano differenze; per contro, però, questo indice perde la possibilità di individuare in quale dei due emisferi si è misurato un segnale maggiore.

In conclusione, per ogni sessione di acquisizione fMRI, si sono calcolati per ognuno dei 4 *run* (ovvero le sequenze di blocchi "rest/task", con *task A* o *B* sia per l'arto paretico che per quello sano) 2 diverse misure per ognuna delle 58 ROI che suddividono l'intero volume cerebrale (464 indici per acquisizione).

A partire dal calcolo di queste differenze, si sono proposti tre indici che possono permettere di descrivere e quantificare l'attività neurale ed il recupero in seguito alla terapia riabilitativa.

Il primo di questi, $\Delta diff_Post-Pre$, è rappresentato dalla variazione delle differenze degli emisferi rilevate prima e dopo il trattamento riabilitativo, in modo tale che un suo segno negativo sia indice di peggioramento della differenza tra il segnale dei due emisferi, e un suo valore positivo sottenda un miglioramento. Per miglioramento, si intende la situazione in cui dopo la terapia si osserva un maggior coinvolgimento del lato controlaterale al movimento; infatti, basandosi sulla letteratura, ci si aspetta che l'emisfero controlaterale all'arto che esegue il *task* sia maggiormente attivato rispetto all'emisfero omolaterale. Una situazione nella quale l'emisfero omolaterale al movimento sia reclutato più dell'altro, è indice di patologia. Per questo, se la terapia non induce il ripristino della condizione normale, non si può affermare che abbia un effetto benefico a livello neurale.

Per ottenere il secondo indice, si è considerata la variazione percentuale della differenza dei segnali dei due emisferi tra il movimento dell'arto paretico e quello dell'arto sano, che ci si aspetta essere circa nulla se si suppone che il cervello risponda in maniera simmetrica nel movimento dei due arti. Il secondo indice, $\Delta diff_Post-Pre_CL-OL$, è stato quindi calcolato come la modifica indotta nel tempo sulla misura di questa variazione della differenza tra la risposta neurale al movimento dei due arti: un valore negativo indica un effetto migliorativo da parte della terapia.

Il terzo indice, $\Delta diff_A-P$, è rappresentativo della variazione della differenza del segnale tra gli emisferi, tra il movimento attivo e quello passivo. Un suo valore positivo potrebbe indicare quali ROI sono effettivamente coinvolte nell'esecuzione volontaria del movimento. Tuttavia, come si discuterà nel paragrafo 6.3.2, questo indice si è rilevato essere difficilmente interpretabile.

Una più dettagliata discussione riguardo il significato di questi indici, sarà esposta assieme ai risultati relativi ai soggetti analizzati in questa Tesi nel paragrafo 6.3.2.

5.1.6 Analisi di correlazione

L'obiettivo finale di questo studio è quello di valutare se la terapia con *biofeedback* elettromiografico abbia determinato benefici sul paziente. In particolare, si vuole stabilire se gli eventuali miglioramenti siano attribuibili ad un ripristino a livello periferico, o del sistema nervoso centrale, e che grado di legame esiste fra essi. Per far questo, si sono individuati degli indici della *gait analysis* e dell'indagine fMRI che possano essere confrontabili; di conseguenza si sono scelti i rispettivi primo indice proposti per le due tipologie di analisi. Entrambi gli indici scelti, infatti, esprimono in percentuale il miglioramento, o peggioramento, dei rispettivi parametri ai quali si riferiscono.

Prima di questa analisi, si è voluto verificare la correlazione esistente tra le diverse condizioni sperimentali, per giustificarne la loro acquisizione. Infatti, se statisticamente i risultati ottenuti dai diversi *task* analizzati non si dimostrano fortemente correlati, si conferma che le informazioni a cui portano riguardano diverse caratteristiche associate

al movimento ed al recupero delle funzionalità compromesse dalla lesione. In particolare, per ogni soggetto, per quanto riguarda:

- la *gait analysis*, si è valutata la correlazione tra i risultati di miglioramento/peggioramento ottenuti per tutti i parametri relativi:

- all'arto paretico e quello sano;
- alla camminata a velocità normale e a quella massimale;
- all'arto paretico e quello sano, per la sola camminata normale;
- all'arto paretico e quello sano, per la sola camminata massimale;
- alla camminata a velocità normale e a quella massimale per il solo arto controlaterale alla lesione;

- alla camminata a velocità normale e a quella massimale per il solo arto omolaterale alla lesione;

- l'analisi fMRI, si è valutata la correlazione tra i risultati di miglioramento/peggioramento ottenuti per tutti i parametri relativi al movimento:

- dell'arto paretico e di quello sano;
- passivo e quello attivo;
- dell'arto paretico e di quello sano del solo *task* passivo;
- dell'arto paretico e di quello sano del solo *task* attivo;
- passivo e attivo del solo arto controlaterale alla lesione;
- passivo e attivo del solo arto omolaterale alla lesione.

In totale si sono ottenuti, per i dati relativi ad ogni soggetto, 6 coefficienti di *correlazione di Pearson* per entrambe le tipologie di analisi. Indici di correlazione bassi, indicano che il protocollo sperimentale è adeguato, nel senso che non si prevedono prove di diverso tipo che racchiudono lo stesso significato.

Successivamente, si è analizzata la *correlazione di Pearson* tra i valori dei parametri di miglioramento della performance motoria individuati per ognuno dei tre soggetti; lo stesso si è fatto considerando gli indici relativi all'attivazione neurale. Questa indagine ha lo scopo di stabilire se la terapia riabilitativa ha indotto un recupero confrontabile nei diversi soggetti e se questo è osservabile in entrambi gli esami.

Infine si è verificato, tramite *Wilcoxon Rank Sum test* (o *Wilcoxon-Mann-Whitney* o, più precisamente, si è eseguito il *Mann-Whitney U-test*), se le variazioni indotte dalla terapia sull'*outcome* motorio si possono considerare confrontabili con quelle relative al pattern di attivazione neurale.

6. RISULTATI

In questa Tesi si sono considerati i tre soggetti descritti al paragrafo 4.1. La limitatezza del campione analizzato è dovuta principalmente a due fattori. Il primo è la durata complessiva della valutazione di un singolo soggetto che, come detto, richiede circa 8 mesi. Il secondo è la necessità di coinvolgere pazienti il cui quadro clinico sia in linea con i criteri di inclusione ed esclusione specificati.

Inoltre, per questi 3 soggetti, non si sono potute eseguire tutte e quattro le acquisizioni previste dal protocollo sperimentale (T0, T1, T2 e T3). In particolare, nella tabella 6.1, si propone uno schema riassuntivo delle acquisizioni disponibili.

Soggetto	T0 – test Pre-terapia	T1 – ri-test Pre-terapia	T2 – Post-terapia	T3 – Follow up
1	<i>gait analysis</i> e fMRI	<i>gait analysis</i> e fMRI	<i>gait analysis</i> e fMRI	n.d.
2	n.d.	<i>gait analysis</i> e fMRI	n.d.	<i>gait analysis</i> e fMRI
3	n.d.	<i>gait analysis</i> e fMRI	<i>gait analysis</i> e fMRI	n.d.

Tabella 6.1 Acquisizioni di *gait analysis* e di fMRI disponibili per i soggetti coinvolti nello studio.

Non avendo a disposizione tutte le acquisizioni previste dal protocollo sperimentale per ognuno dei soggetti coinvolti, in questa Tesi si sono potute considerare e confrontare solamente le analisi effettuate prima del trattamento terapeutico (*Pre*, quindi T0 o T1) con quelle acquisite dopo di esso (*Post*, quindi T2 o T3).

Il fatto che non siano disponibili, per tutti i soggetti, sia le acquisizioni a T0 che quelle a T1, non rappresenta un limite di questo studio. Infatti, i pazienti sono reclutati in fase cronica accertata e non hanno partecipato a terapie riabilitative tra T0 e T1; evidenze scientifiche portano a supporre che, in questa situazione, molto presumibilmente non si siano manifestati importanti modificazioni neurali e che di conseguenza gli studi fMRI siano ripetibili.

Al contrario, il fatto che non siano disponibili entrambe le acquisizioni relative a T2 e T3 rappresenta un limite a questo studio. Infatti non è stato possibile valutare come il *motor learning* indotto dalla terapia con EMG BFB sul breve periodo (T2), si sia mantenuto nel tempo (T3). Il confronto tra soggetti è poi influenzato dal fatto che per alcuni di essi come esame post-terapia si considera quello a T2, per altri quello a T3. In tal modo, però, non è possibile valutare se l'eventuale apprendimento motorio si è mantenuto nel tempo. Se il quadro neurologico e/o l'*outcome* motorio varia tra T2 e T3, ipotesi che si sarebbe voluta valutare con questo studio, il confronto della situazione a T2 di alcuni soggetti con quella a T3 di altri può perdere di significato.

Per quanto riguarda il soggetto n°1 si è scelto di considerare le acquisizioni a T1 e non a T0, in quanto si può ipotizzare che, essendo già stato sottoposto ad una precedente acquisizione, in T1 il soggetto sia stato meno influenzato dall'apparato sperimentale.

Inoltre, nelle *gait analysis* del soggetto n°3 si sono analizzati soltanto i parametri relativi al lato paretico. Originariamente il protocollo sperimentale prevedeva l'analisi del solo lato paretico; è stato modificato, estendendolo anche all'arto omolaterale alla lesione neurale, solo dopo aver completato le acquisizioni del soggetto n°3, che è stato il primo a partecipare allo studio. Infatti, in pazienti paretici si possono osservare alterazioni anche nella funzionalità dell'arto sano, messe in atto per permettere la deambulazione compensando i vincoli di cui soffre il lato paretico. Di conseguenza, gli effetti della terapia riabilitativa si possono ripercuotere anche sull'arto non paretico; è quindi interessante valutare e quantificare il rapporto tra le conseguenze che il protocollo con BFB EMG induce sull'arto paretico e su quello sano. È sulla base di queste considerazioni che si è deciso di valutare anche i parametri cinematici e dinamici relativi all'arto sano che, come sarà esposto al prossimo paragrafo, saranno confrontati con quelli dell'arto paretico costituendo un indice per la valutazione del recupero motorio.

L'unico soggetto di controllo disponibile per questo studio è stato sottoposto ad un'unica sessione di risonanza magnetica funzionale. Non avendo sottoposto il controllo ad una *gait analysis*, non è possibile correlare gli indici ricavati dai dati di fMRI con i parametri che avrebbero caratterizzato il suo cammino. Inoltre, l'acquisizione di fMRI non ha rispettato in toto quanto previsto nel protocollo. Infatti, le immagini funzionali disponibili sono relative al movimento passivo ed attivo di uno solo dei due arti. Ciò limita la possibilità di discriminazione delle normali differenze che si manifestano a livello neurologico durante l'esecuzione dello stesso *task* da parte dei due diversi arti.

6.1 Risultati di *gait analysis*

I dati di *gait analysis* acquisiti sono stati elaborati come descritto al paragrafo 5.1.4 per poter ottenere dei parametri che rappresentino la cinematica e la dinamica della camminata. I risultati di questa analisi sono stati raccolti in una tabella riassuntiva ed un *report* costituito dalla visualizzazione grafica dell'andamento temporale delle principali caratteristiche cinematiche e dinamiche del movimento calcolate, sovrapposte alla fascia di normalità.

Di seguito si riportano tali tabelle e *report* relativi alle acquisizioni considerate dei soggetti studiati in questa Tesi.

I grafici, come spiegato al paragrafo 5.1.4, riportano in blu gli andamenti temporali relativi all'arto destro, in rosso quelli rappresentativi del lato sinistro e sono sovrapposti ai valori (in verde) o alle fasce di normalità (in grigio).

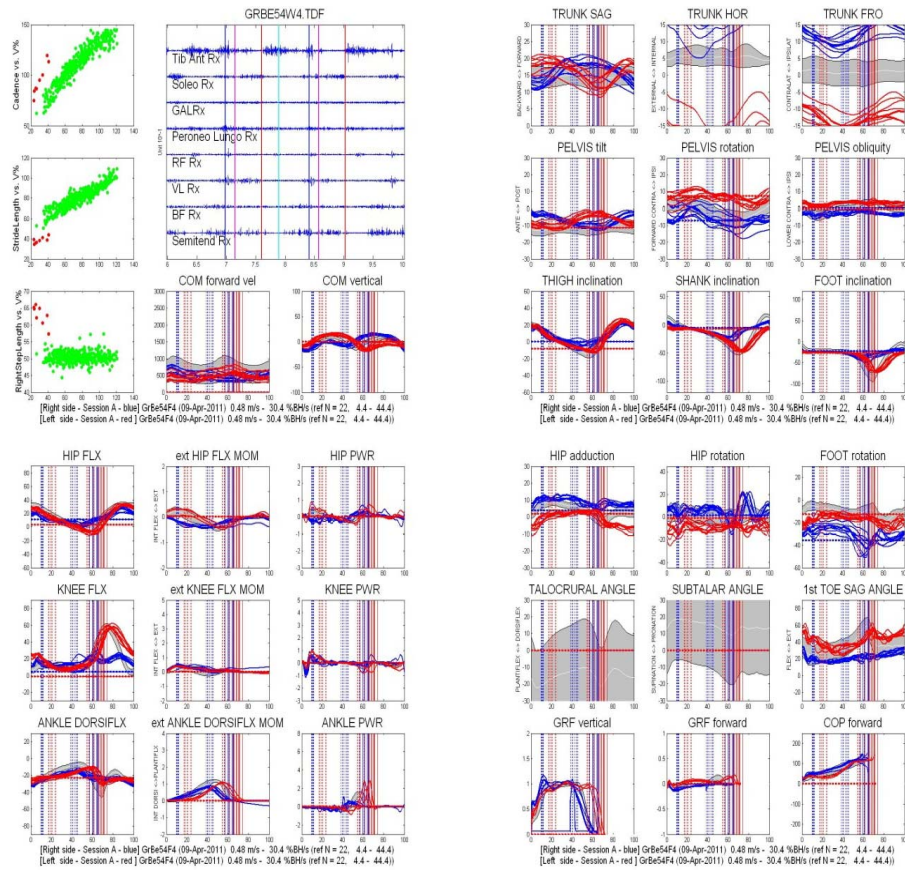


Figura 6.1 Soggetto n°1: report pre-terapia (T1).

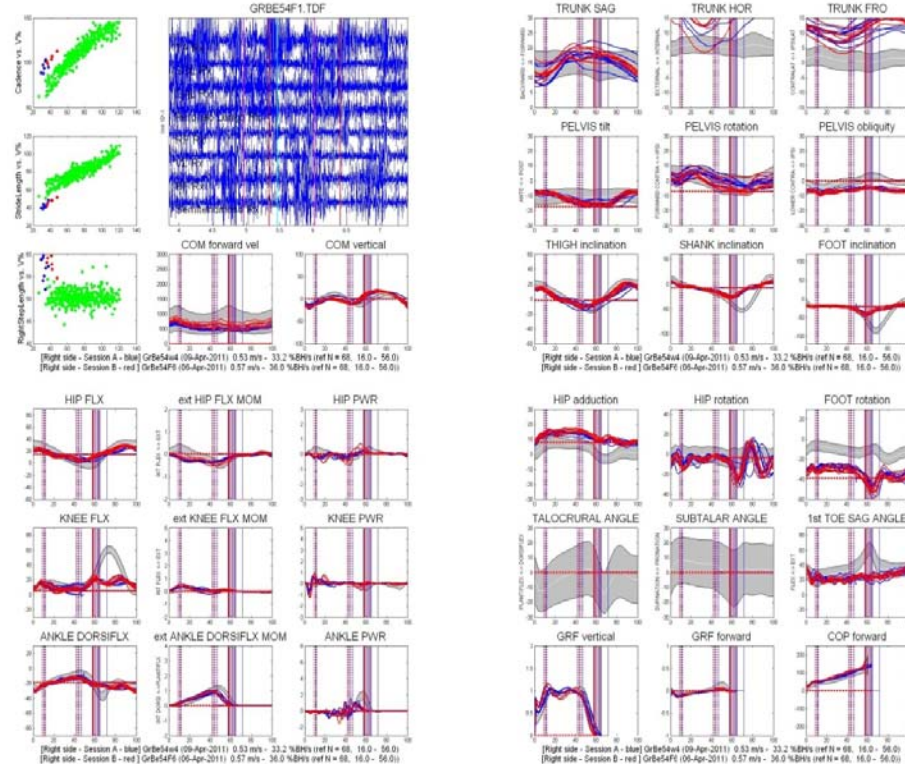


Figura 6.2 Soggetto n°1: report post-terapia (T2).

Side	Soggetto 1 (lesione sx) - Pre (T1)				Soggetto 1 (lesione sx) - Post (T2)			
	N		F		N		F	
	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)
Tipo camminata								
SpeedRaw	0.39	0.42	0.53	0.65	0.54	0.54	0.72	0.62
SpeedNor	24.79	26.29	32.99	40.99	34.50	33.96	45.06	39.21
CadenceRaw	42.11	43.96	48.82	57.57	45.91	49.81	54.03	51.05
CadenceNor	42.11	43.96	48.82	57.57	45.91	49.81	54.03	51.05
StepLengthRaw	0.35	0.20	0.39	0.27	0.39	0.29	0.45	0.30
StepLengthNor	64.28	33.86	60.60	39.93	54.86	44.74	55.59	42.09
StrideLengthRaw	0.55	0.58	0.64	0.67	0.71	0.64	0.80	0.72
StrideLengthNor	34.5	36.60	40.30	42.19	45.05	40.70	50.44	45.69
StanceTimeRaw	0.91	0.94	0.76	0.72	0.80	0.81	0.64	0.78
StanceTimeNor	63.86	68.50	61.85	68.40	60.94	66.78	57.54	65.88
StrideTimeRaw	1.42	1.37	1.24	1.04	1.31	1.21	1.12	1.18
SwingTimeRaw	0.51	0.43	0.47	0.33	0.51	0.40	0.48	0.40
DoubleSupTimeRaw	0.17	0.29	0.13	0.18	0.15	0.25	0.12	0.22
DoubleSupTimeNor	11.93	20.88	10.16	17.27	11.47	21.03	10.34	18.35
SwingVelRaw	1.06	1.35	1.37	2.05	1.40	1.61	1.70	1.80
SwingVelNor	67	85.12	86.46	128.86	88.21	101.75	107.09	114.18
AnklePowerPeak	0.423	1.85	0.57	2.83	1.30	1.94	1.00	2.44
AnklePositiveWork	0.045	0.20	0.07	0.17	0.12	0.15	0.11	0.18
AnkleNegativeWork	-0.061	-0.10	-0.09	-0.09	-0.12	-0.12	-0.13	-0.14
AnklePowerPeakFromOmoLateralHS	51.579	63.74	49.68	63.83	48.82	62.47	45.86	61.78
AnklePowerPeakFromControLateralHS	7.719	6.96	7.93	6.22	5.06	7.17	2.17	5.95
AnklePowerOnsetFromOmoLateralHS	46.316	56.41	42.75	55.68	44.57	55.17	40.54	52.42
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	2.456	-0.37	1.00	-1.94	0.80	-0.13	-3.15	-3.40
KneeFlexionPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
KneeFlexionAtAnklePowerPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
KneeFlexionOnsetFromOmoLateralHS	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
KneeFlexionOnsetFromControLateralHS	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
HipFlexionPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
HipExtensionPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
HipFrontalMomentAtControLateralTO	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
PelvisRotationAtOmoLateralHS	2.238	6.18	-8.35	9.39	2.94	0.37	2.07	1.71
PelvisRotationAtOmoLateralTO	-4.716	3.38	-8.88	6.52	-0.43	-0.56	-4.91	-1.39
PelvisRotationAtControLateralHS	-1.622	6.49	-5.35	7.89	3.70	0.56	-2.22	-0.86
PelvisRotationAtControLateralTO	1.464	5.65	-7.26	10.73	3.15	3.42	1.67	1.18
PelvisElevationAtOmoLateralHS	-2.753	2.61	-3.18	2.57	-7.35	5.43	-7.38	5.75
PelvisElevationAtOmoLateralTO	-2.189	4.30	-1.80	3.43	-4.99	6.71	-4.53	7.20
PelvisElevationAtControLateralHS	-2.565	3.97	-2.95	2.84	-5.90	6.25	-6.15	6.36
PelvisElevationAtControLateralTO	-6.233	2.55	-3.39	1.06	-8.15	4.54	-7.53	5.45
HipPowerPeak	0.089	0.40	0.30	0.71	0.22	0.54	0.56	0.65
HipPositiveWork	0.032	0.06	0.07	0.17	0.04	0.11	0.08	0.13
HipNegativeWork	-0.076	-0.09	-0.10	-0.08	-0.10	-0.10	-0.12	-0.12
FootOnPlat	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
BW	51.1	51.10	51.10	51.10	52.40	52.40	52.40	52.40
BH	158.7	158.70	158.70	158.70	158.10	158.10	158.10	158.10
Sex	F	F	F	F	F	F	F	F
Age	58.00	58.00	58.00	58.00	58.00	58.00	58.00	58.00

Tabella 6.2 Soggetto n°1: tabella riassuntiva dei parametri pre (T1) e post (T2) terapia.

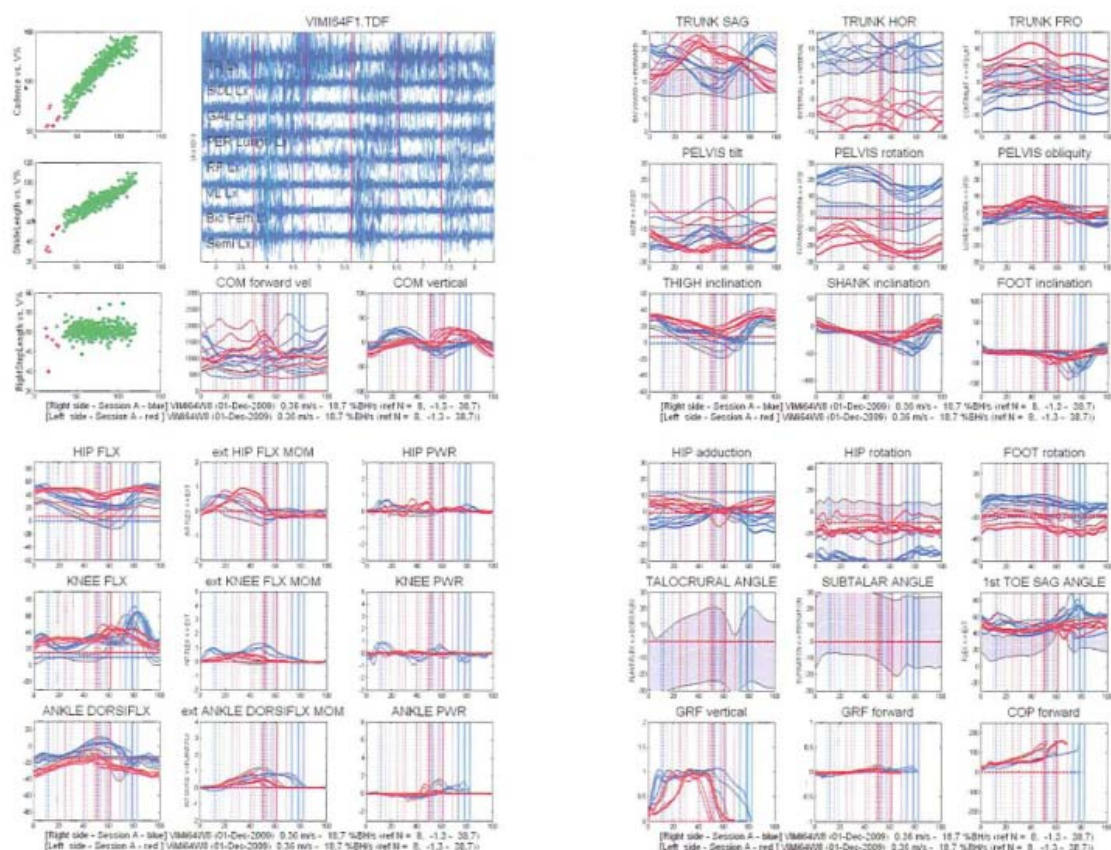


Figura 6.3 Soggetto n°2: report pre-terapia (T1).

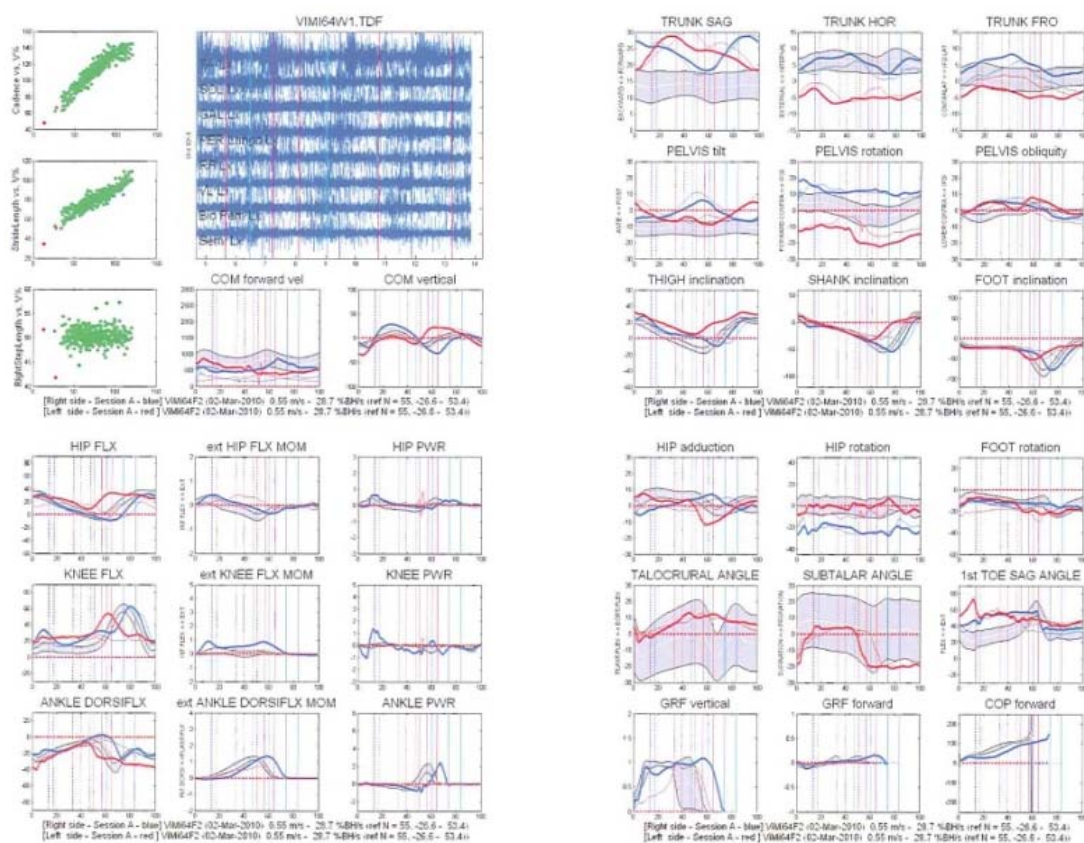


Figura 6.4 Soggetto n°2: report post-terapia (T3).

Side Tipo camminata	Soggetto 2 (lesione dx) - Pre (T1)				Soggetto 2 (lesione dx) - Post (T3)			
	N		F		N		F	
	CL (sx)	OL (dx)	CL (sx)	OL (dx)	CL (sx)	OL (dx)	CL (sx)	OL (dx)
SpeedRaw	0.34	0.29	0.55	0.57	nd	0.49	0.81	0.70
SpeedNor	17.87	15.40	28.84	30.17	nd	25.68	42.52	37.17
CadenceRaw	31.75	30.38	31.66	33.15	39.09	37.15	42.55	36.36
CadenceNor	31.75	30.38	31.66	33.15	39.09	37.15	42.55	36.36
StepLengthRaw	0.37	0.37	0.56	0.40	0.40	0.33	0.62	0.53
StepLengthNor	58.32	61.15	55.52	39.61	49.26	41.42	54.97	46.27
StrideLengthRaw	0.64	0.61	1.01	1.02	0.82	0.79	1.13	1.14
StrideLengthNor	33.67	32.19	53.29	53.72	43.16	41.73	59.79	60.35
StanceTimeRaw	1.05	1.58	1.00	1.34	0.97	1.29	0.69	1.26
StanceTimeNor	55.56	80.25	52.77	74.03	63.19	79.88	48.94	76.06
StrideTimeRaw	1.89	1.97	1.90	1.81	1.53	1.61	1.41	1.65
SwingTimeRaw	0.84	0.39	0.90	0.47	0.56	0.32	0.72	0.39
DoubleSupTimeRaw	0.46	0.36	0.31	0.32	0.29	0.27	0.18	0.22
DoubleSupTimeNor	24.34	18.48	16.62	17.40	19.22	16.72	12.41	13.33
SwingVelRaw	0.76	1.57	1.13	2.17	1.45	2.43	1.57	2.90
SwingVelNor	40.08	82.54	59.54	114.29	76.39	128.41	83.05	152.80
AnklePowerPeak	0.65	0.60	1.08	2.43	1.11	2.10	1.48	2.73
AnklePositiveWork	0.074	0.15	0.12	0.36	0.12	0.37	0.12	0.46
AnkleNegativeWork	-0.086	-0.13	-0.19	-0.21	-0.14	-0.25	-0.12	-0.27
AnklePowerPeakFromOmoLateralHS	49.735	75.70	46.17	67.40	54.40	73.07	44.33	70.00
AnklePowerPeakFromControLateralHS	7.937	29.62	5.81	6.91	6.19	12.38	7.80	5.46
AnklePowerOnsetFromOmoLateralHS	45.238	51.39	43.54	57.46	50.81	62.54	38.65	60.30
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	3.439	5.32	3.17	-3.04	2.61	1.86	2.13	-4.24
KneeFlexionPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
KneeFlexionAtAnklePowerPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
KneeFlexionOnsetFromOmoLateralHS	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
KneeFlexionOnsetFromControLateralHS	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
HipFlexionPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
HipExtensionPeak	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
HipFrontalMomentAtControLateralITO	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
PelvisRotationAtOmoLateralHS	-18.231	15.97	-15.47	17.71	-14.97	6.95	-15.68	12.04
PelvisRotationAtOmoLateralITO	-23.149	14.83	-16.46	10.71	-17.29	5.69	-23.12	12.42
PelvisRotationAtControLateralHS	-15.327	20.19	-17.87	12.35	-10.42	13.12	-15.67	14.45
PelvisRotationAtControLateralITO	-17.733	22.70	-13.12	14.26	-6.69	17.84	-15.23	16.97
PelvisElevationAtOmoLateralHS	-9.706	-7.41	-2.93	-1.90	-2.99	-6.30	-1.30	-3.73
PelvisElevationAtOmoLateralITO	-0.187	-8.01	0.93	-2.42	-1.14	-5.41	0.06	-3.87
PelvisElevationAtControLateralHS	6.797	-0.50	2.02	2.00	6.24	4.28	6.12	3.10
PelvisElevationAtControLateralITO	5.772	0.38	3.16	3.30	4.32	2.82	5.17	1.96
HipPowerPeak	0.287	0.51	0.39	0.65	0.29	1.04	0.70	0.99
HipPositiveWork	0.089	0.17	0.19	0.24	0.11	0.31	0.16	0.36
HipNegativeWork	-0.07	-0.01	-0.03	-0.05	-0.03	-0.02	-0.06	-0.07
FootOnPlat	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1	-1
BW	104.8	104.80	104.80	104.80	107.10	107.10	107.10	107.10
BH	190	190.00	190.00	190.00	189.50	189.50	189.50	189.50
Sex	M	M	M	M	M	M	M	M
Age	46.00	46.00	46.00	46.00	46.00	46.00	46.00	46.00

Tabella 6.3 Soggetto n°2: tabella riassuntiva dei parametri pre (T1) e post (T3) terapia.

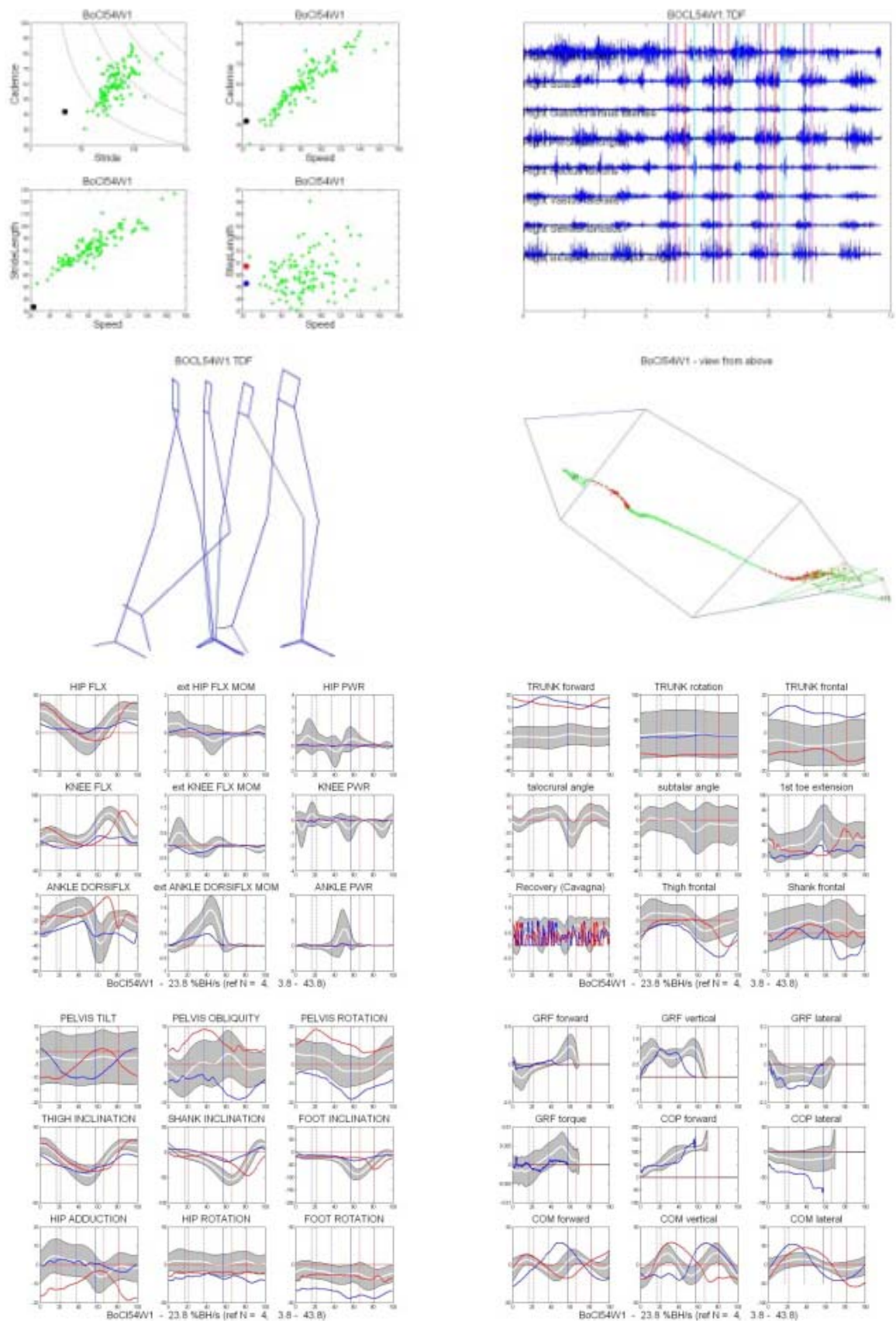


Figura 6.5 Soggetto n°3: *report* pre-terapia (T1) della sola camminata a velocità normale.

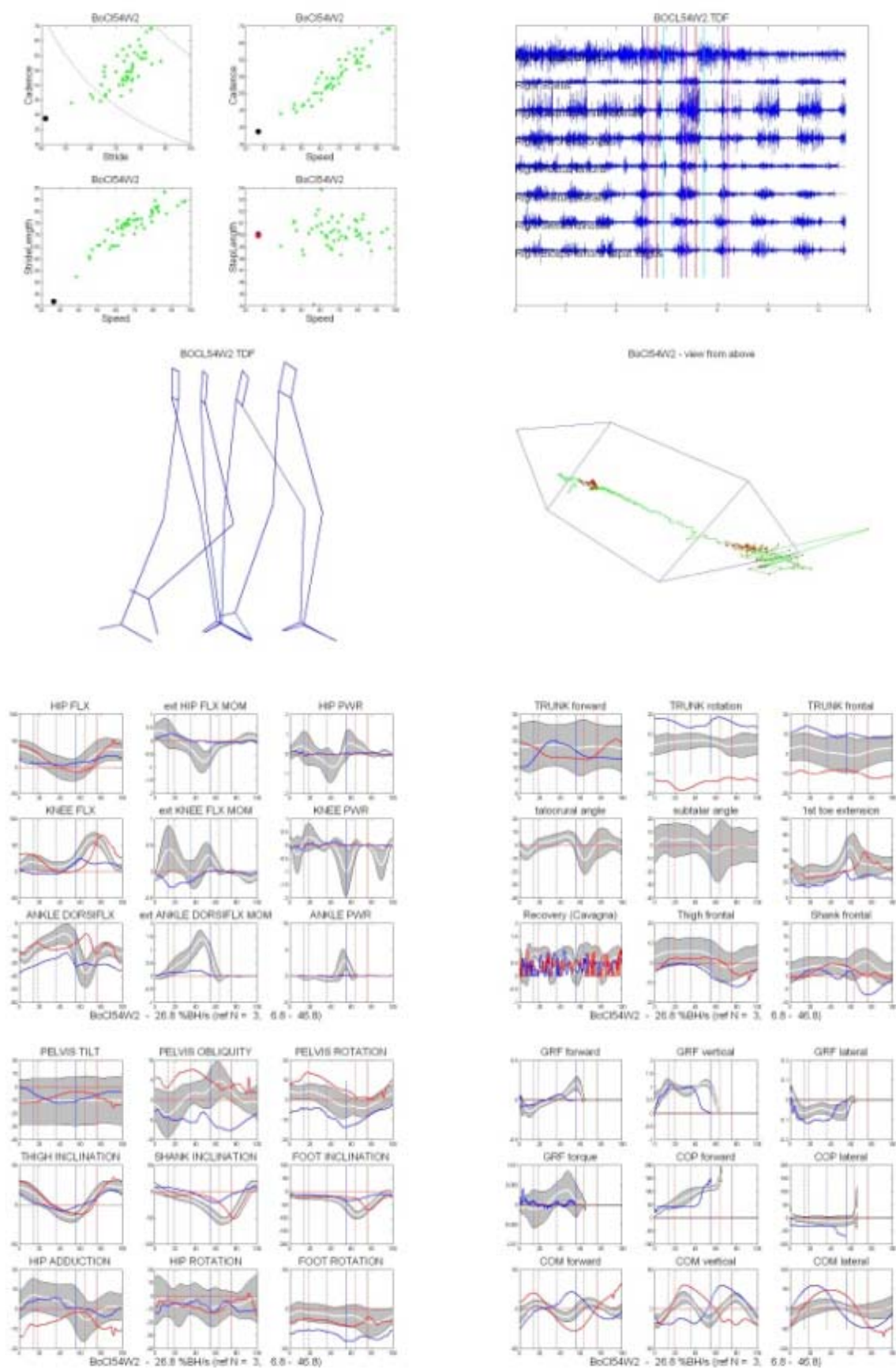


Figura 6.6 Soggetto n°3: *report* post-terapia (T2) della sola camminata a velocità normale.

Side	Soggetto 3 (lesione sx) - Pre (T1)				Soggetto 3 (lesione sx) - Post (T2)			
	N		F		N		F	
Tipo camminata	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)
SpeedRaw	0.46	nd	0.65	nd	0.48	nd	0.64	nd
SpeedNor	24.79	nd	35.10	nd	25.89	nd	34.96	nd
CadenceRaw	40.82	nd	48.39	nd	38.96	nd	43.17	nd
CadenceNor	40.82	nd	48.39	nd	38.96	nd	43.17	nd
StepLengthRaw	0.32	nd	0.44	nd	0.39	nd	0.46	nd
StepLengthNor	48.77	nd	54.72	nd	54.99	nd	51.49	nd
StrideLengthRaw	0.65	nd	0.80	nd	0.71	nd	0.89	nd
StrideLengthNor	35.11	nd	43.59	nd	38.83	nd	48.20	nd
StanceTimeRaw	0.84	nd	0.69	nd	0.84	nd	0.79	nd
StanceTimeNor	57.14	nd	55.24	nd	54.87	nd	56.47	nd
StrideTimeRaw	1.47	nd	1.24	nd	1.54	nd	1.39	nd
SwingTimeRaw	0.63	nd	0.55	nd	0.70	nd	0.60	nd
DoubleSupTimeRaw	0.24	nd	0.18	nd	0.21	nd	0.17	nd
DoubleSupTimeNor	16.67	nd	14.52	nd	13.31	nd	12.23	nd
SwingVelRaw	1.03	nd	1.45	nd	1.03	nd	1.47	nd
SwingVelNor	55.73	nd	78.53	nd	55.87	nd	79.67	nd
AnklePowerPeak	0.425	nd	0.18	nd	0.16	nd	0.00	nd
AnklePositiveWork	0.04	nd	0.01	nd	0.01	nd	0.04	nd
AnkleNegativeWork	-0.054	nd	-0.05	nd	-0.04	nd	-0.06	nd
AnklePowerPeakFromOmoLateralHS	47.279	nd	50.00	nd	49.35	nd	56.48	nd
AnklePowerPeakFromControLateralHS	10.204	nd	11.29	nd	13.64	nd	20.50	nd
AnklePowerOnsetFromOmoLateralHS	43.537	nd	46.77	nd	46.43	nd	55.40	nd
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	6.463	nd	8.07	nd	10.71	nd	19.42	nd
KneeFlexionPeak		nd		nd		nd		nd
KneeFlexionAtAnklePowerPeak		nd		nd		nd		nd
KneeFlexionOnsetFromOmoLateralHS		nd		nd		nd		nd
KneeFlexionOnsetFromControLateralHS		nd		nd		nd		nd
HipFlexionPeak		nd		nd		nd		nd
HipExtensionPeak		nd		nd		nd		nd
HipFrontalMomentAtControLateralTO		nd		nd		nd		nd
PelvisRotationAtOmoLateralHS	-5.21	nd	-3.08	nd	-6.75	nd	-3.24	nd
PelvisRotationAtOmoLateralTO	-18.193	nd	-12.74	nd	-13.67	nd	-21.27	nd
PelvisRotationAtControLateralHS	-10.109	nd	-8.07	nd	-7.49	nd	-14.18	nd
PelvisRotationAtControLateralTO	-5.234	nd	-3.23	nd	-4.65	nd	-2.54	nd
PelvisElevationAtOmoLateralHS	-4.734	nd	-4.41	nd	-3.06	nd	-4.76	nd
PelvisElevationAtOmoLateralTO	-6.729	nd	-7.23	nd	-5.27	nd	-6.17	nd
PelvisElevationAtControLateralHS	-3.356	nd	-5.35	nd	-5.64	nd	-4.11	nd
PelvisElevationAtControLateralTO	-3.255	nd	-4.90	nd	-4.28	nd	-5.15	nd
HipPowerPeak	0.11	nd	0.18	nd	0.17	nd	0.46	nd
HipPositiveWork	0.033	nd	0.06	nd	0.04	nd	0.07	nd
HipNegativeWork	-0.008	nd	-0.02	nd	-0.01	nd	-0.03	nd
FootOnPlat	-1	nd	-1	nd	-1	nd	-1	nd
BW	93.2	93.20	93.20	93.20	93.20	93.20	93.20	93.20
BH	184	184.00	184.00	184.00	184.00	184.00	184.00	184.00
Sex	M	M	M	M	M	M	M	M
Age	56.00	56.00	56.00	56.00	56.00	56.00	56.00	56.00

Tabella 6.4 Soggetto n°3: tabella riassuntiva dei parametri pre (T1) e post (T2) terapia.

6.2 Risultati di fMRI

Le immagini di risonanza magnetica funzionale, dopo la loro pre-elaborazione, sono state sottoposte a test statistici per individuare le aree maggiormente coinvolte nell'esecuzione dei *task* previsti. I risultati sono qui sintetizzati.

6.2.1 Risultati GLM

La prima analisi statistica effettuata sulle immagini funzionali, ha impiegato il metodo standard basato sul GLM (paragrafo 5.1.5.2). Si sono ottenute le mappe di attivazione relative ad ognuno dei 4 *task*, sia *pre* che *post*-terapia, per tutti e tre i soggetti patologici. Per l'unico soggetto di controllo, si sono ottenute le mappe di attivazione relative all'esecuzione attiva e passiva da parte di un unico arto. In figura 6.7 si riporta un esempio, nel quale è possibile individuare l'attivazione di M1 e del cervelletto durante l'esecuzione del *task* in modo attivo.

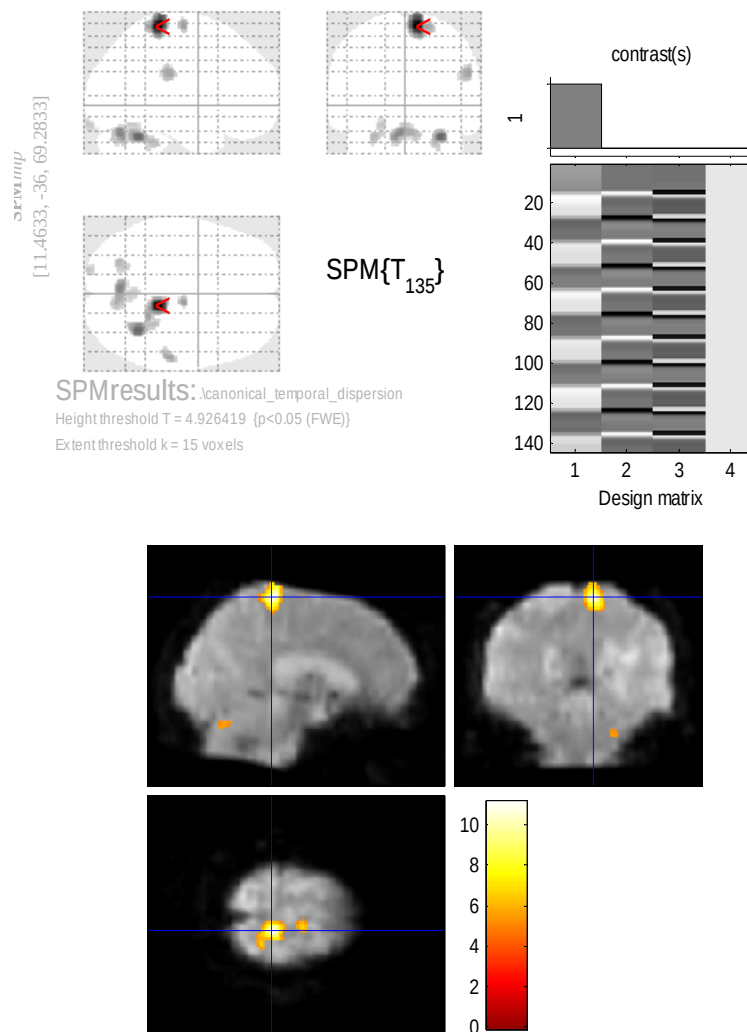


Figura 6.7 Esempio di mappa statistica parametrica, relativa all'esecuzione del *task* in modo attivo. È possibile individuare l'attivazione di M1 e del cervelletto.

Tuttavia, in molti casi non è stato possibile rilevare alcuna attivazione, nemmeno eliminando la correzione FWE ed annullando la “*extent threshold*” (che permette di considerare attivi solo gruppi di *voxel* contigui della dimensione specificata dalla soglia). Pertanto, si è verificato se questo risultato anomalo fosse dovuto al fatto che, a causa di eccessivi movimenti della testa, gli algoritmi di coregistrazione non fossero stati in grado di riallineare correttamente le immagini, causando pesanti errori nelle elaborazioni successive. Invece, i movimenti della testa si sono sempre dimostrati essere minimi (traslazioni inferiori al millimetro e rotazioni minori di un grado), con valori tali da non permettere di considerare questi come causa del fallimento dell’applicazione del test statistico standard. Visto il numero elevato di prove acquisite si riporta solo l’esempio in figura 6.8, rappresentativo anche di tutte le altre acquisizioni, per le quali l’andamento dei movimenti della testa è del tutto simile a questo.

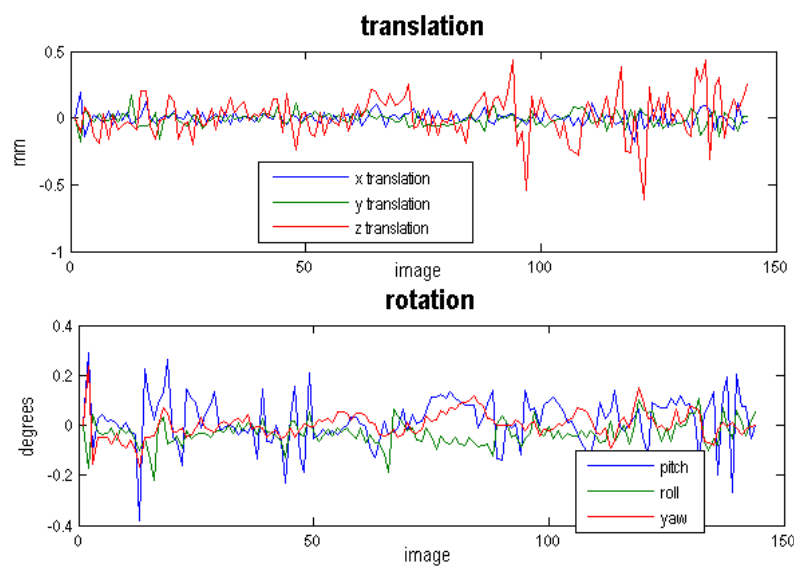


Figura 6.8 Esempio dell’andamento dei movimenti della testa durante l’acquisizione dei 144 volumi. Le roto-traslazioni hanno ampiezza limitata.

Pertanto, per cercare di determinare la causa che impedisce di ottenere dei risultati validi applicando il metodo GLM, si è indagato il segnale grezzo *pre*-elaborato. In particolare, si è individuata l’area motoria M1 sul *template* MNI a cui tutte le immagini funzionali sono normalizzate. La scelta di quest’area cerebrale è stata giustificata dal fatto che essa è ipoteticamente la più coinvolta con l’esecuzione del movimento e quindi ci si aspetterebbe che il test statistico la consideri come attiva. Si è quindi calcolato il segnale medio tra tutti i voxel costituenti la M1, distinguendola tra emisfero destro e sinistro, e poi analizzata la sua evoluzione nel tempo, ovvero nella successione dei 144 volumi acquisiti. In figura 6.9 si riporta in rosso il segnale medio relativo alla M1 destra, in blu quello associato alla M1 sinistra. I quattro grafici rappresentano l’andamento del segnale medio nelle quattro condizioni sperimentali analizzate.

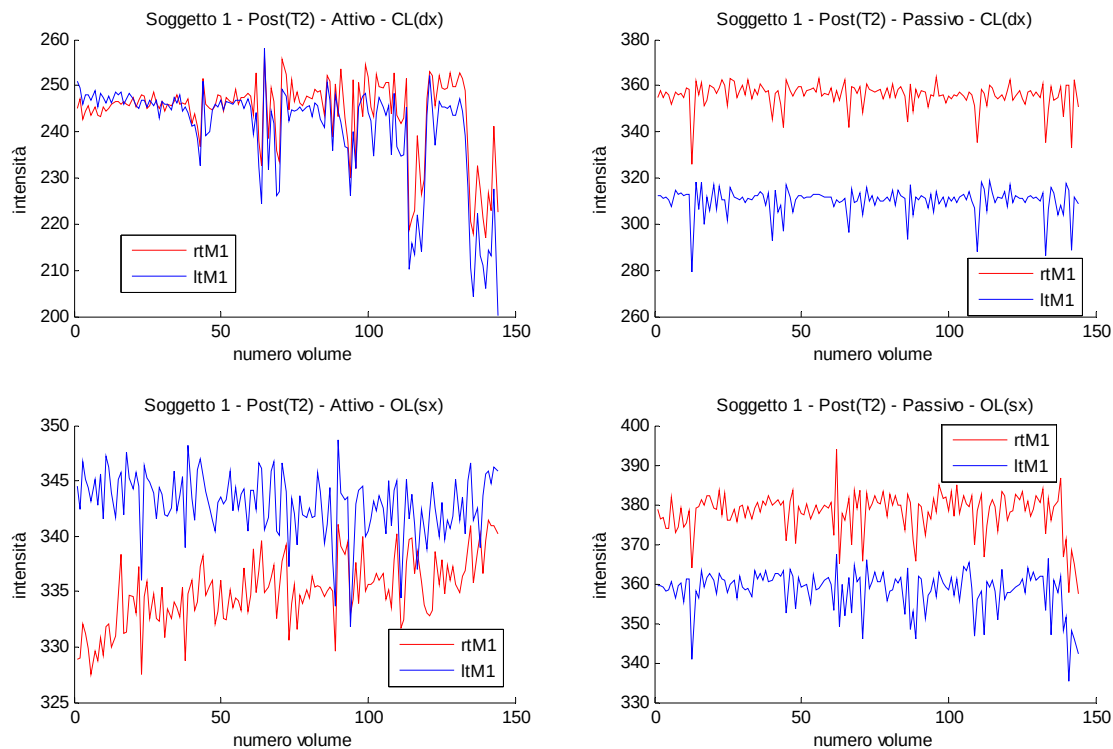


Figura 6.9 Esempio dell'andamento del segnale medio dell'area M1 (in rosso quello relativo all'emisfero destro, in blu quello relativo all'emisfero sinistro) in risposta ai quattro diversi task acquisiti.

Come si può notare, quando il movimento è compiuto passivamente è possibile distinguere i

12 intervalli temporali costituenti il *run*, rappresentanti le 6 ripetizioni di alternanza tra un blocco di *rest* ed uno di *task*. I segnali rilevati durante il movimento attivo, invece, presentano un andamento molto meno regolare: gli intervalli sono quasi indistinguibili, c'è la presenza di drift e le ampiezze durante i *task* variano fortemente tra le ripetizioni del blocco. Un test statistico GLM su questo segnale fallisce; la corrispondente SPM (figura 6.10), infatti, non presenta attivazioni nel caso di movimento attivo eseguito con l'arto controlaterale (ovvero il destro).

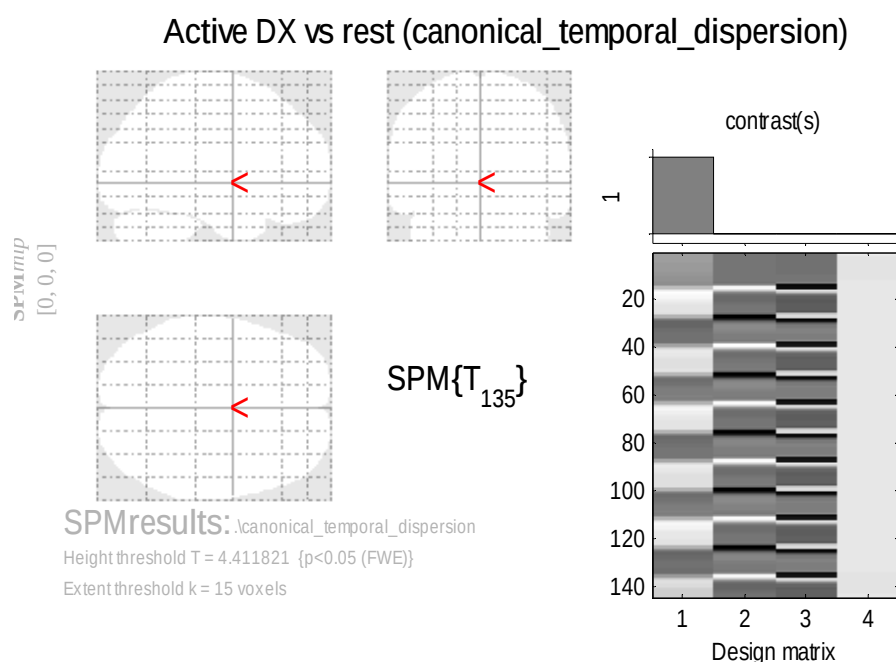


Figura 6.10 Esempio di fallimento del metodo basato su GLM: la SPM corrispondente non mostra alcuna attivazione durante l'esecuzione del movimento attivo da parte dell'arto controlaterale (dx).

Il motivo per il quale il segnale in diversi casi appare come quello rilevato per il movimento attivo del lato controlaterale di figura 6.10 è da ricercare nella modalità con la quale il *task* è eseguito. Infatti, il paziente paretico dopo ictus tipicamente presenta difficoltà nell'eseguire accuratamente il movimento di flessione-estensione dorsale dell'articolazione tibio-tarsica. In particolare, nonostante sia parzialmente immobilizzato e istruito da parte del personale che assiste l'acquisizione, il soggetto spesso non è in grado di evitare forti movimenti diversi da quelli previsti dal *task* (che riguardano sia la gamba, che la coscia, fino anche agli arti superiori), che corrispondono alle compensazioni messe in atto dal paziente per bypassare i limiti funzionali. In più, questi movimenti sono molto eterogenei e variabili tra i diversi blocchi di *task* acquisiti. Vista la causa che lo determina, si spiega il motivo per il quale il fallimento del test GLM si osserva principalmente per i movimenti attivi e per quelli che coinvolgono l'arto paretico. Tuttavia, anche i segnali funzionali rilevati durante il movimento passivo possono essere influenzati da una non corretta esecuzione del *task*. Infatti, soprattutto nel caso dell'arto paretico, il soggetto non rimane completamente a riposo: durante le prime ripetizioni tende ad opporre resistenza e/o a seguire il movimento imposto dall'operatore. Ciò influenza i risultati funzionali acquisiti, in quanto tale sforzo risulta in attivazioni neurali non ricercate nell'esperimento. Un'ultima causa che determina un segnale funzionale acquisito diverso da quello atteso è rappresentata dal fatto che per i pazienti post-ictus può essere difficile rispettare l'ampiezza e la temporizzazione prevista per i *task*. Tipicamente, durante il movimento attivo il soggetto mantiene una frequenza inferiore a quella imposta durante quello passivo; tale frequenza, poi, non è costante per i 30 secondi di durata del blocco e tra i 6 diversi blocchi: con il passare del tempo l'affaticamento (muscolare e nervoso) si traduce in una diminuzione della frequenza del movimento. Il movimento attivo si mostra poi essere meno omogeneo rispetto a

quello passivo, in quanto caratterizzato da accelerazioni e decelerazioni non costanti nel *range* del movimento.

Il modello GLM, per stimare correttamente i parametri beta, deve essere in grado di riconoscere dal segnale di attivazione neurale, i blocchi di *rest* da quelli di *task*, che devono essere simili tra loro. I motivi sopra citati, però, causano un segnale di attivazione neurale molto differente da quello stimato dalla convoluzione della risposta emodinamica con il disegno sperimentale adottato ed utilizzato nella valutazione statistica. Di conseguenza, il modello GLM porta a stimare dei parametri determinando risultati fortemente degradati.

In conclusione, i risultati ottenuti con il metodo *standard* GLM hanno mostrato l'inadeguatezza del suo utilizzo nell'ambito studiato in questa Tesi; per questo motivo si sono impiegate altre tecniche di analisi e dunque qui non si riportano tutte le SPM ottenute dallo studio dei tre soggetti patologici e da quello sano di controllo.

6.2.2 Risultati cluster analysis

Il primo approccio che si è considerato, alternativo al metodo standard basato su GLM, è stata la *cluster analysis* della serie temporale dei singoli voxel, qui effettuata tramite *kmeans* (paragrafo 5.1.5.3). Con questo metodo non è necessario premettere ipotesi, ma si confrontano fra loro gli andamenti temporali del segnale di tutti i voxel, raggruppandoli secondo criteri di similarità. Lo scopo è quello di individuare l'insieme di voxel che rispondono in maniera omogenea allo stimolo, e che quindi possono essere considerati come quelli direttamente coinvolti nel movimento. Per confrontare le variazioni indotte dall'esecuzione del *task*, al segnale di ogni voxel si è sottratta la sua media temporale.

Vista la criticità della scelta del numero di *cluster*, si sono fatte tre prove suddividendo l'insieme di voxel rispettivamente in 6, 10 e 14 *cluster*.

Delle 91 *slice* con le quali è stato diviso il volume cerebrale, si riporta la suddivisione in *cluster* di due sole di queste (la 18esima e la 38esima), utilizzando un numero di *cluster* pari a 14 (figura 6.11 e 6.12), e i relativi centroidi (figure 6.13, 6.14, 6.15)

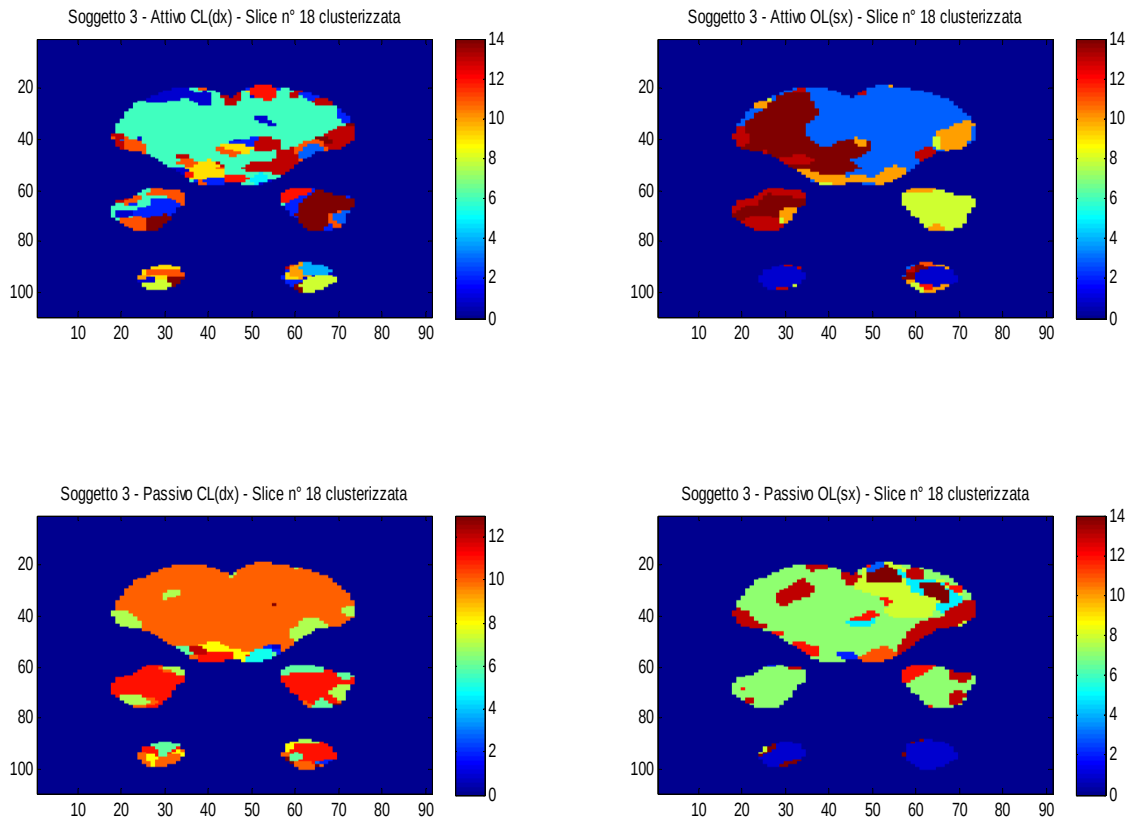


Figura 6.11 Esempio di cluster analysis: suddivisione della slice 18 in 14 cluster, per ognuno dei 4 task acquisiti.

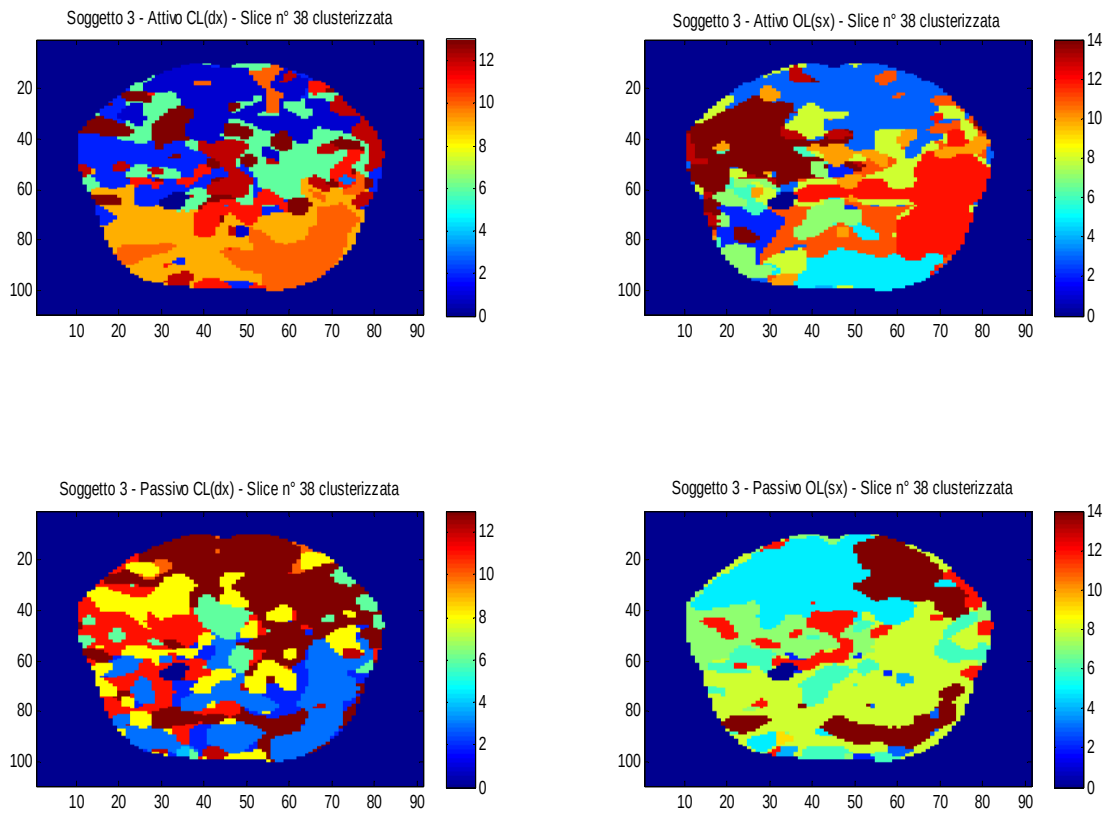


Figura 6.12 Esempio di cluster analysis: suddivisione della slice 38 in 14 cluster, per ognuno dei 4 task acquisiti.

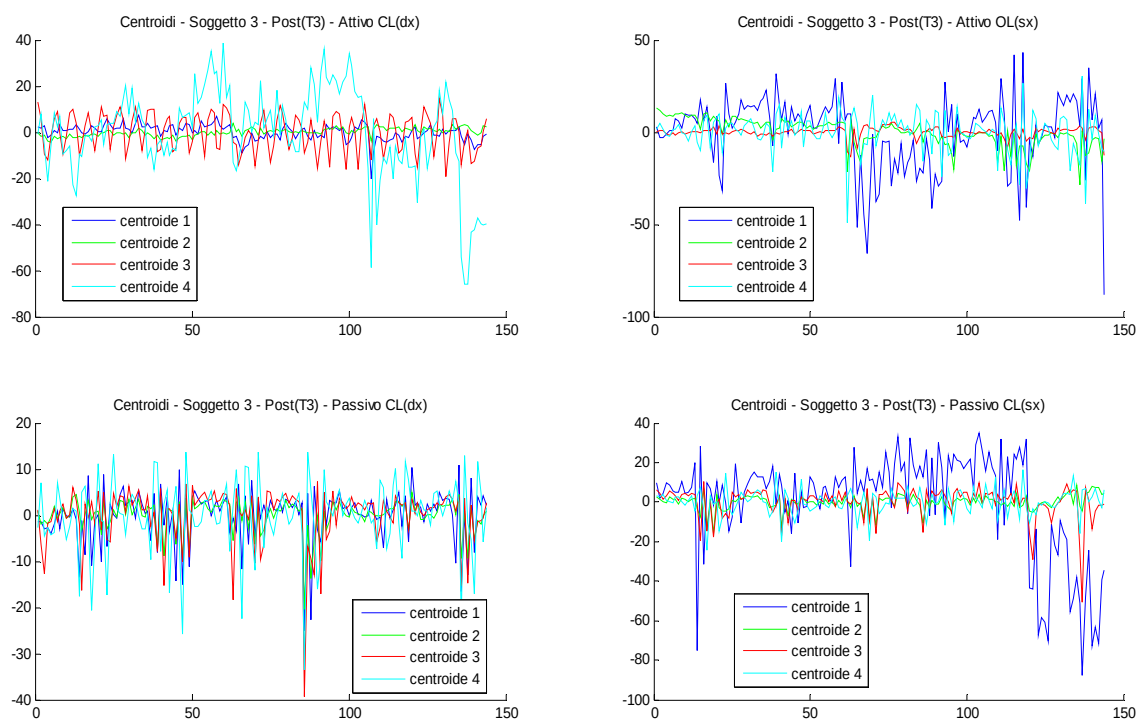


Figura 6.13 Esempio di *cluster analysis*: cinetica dei primi 4 centroidi individuati, per ognuno dei 4 task acquisiti.

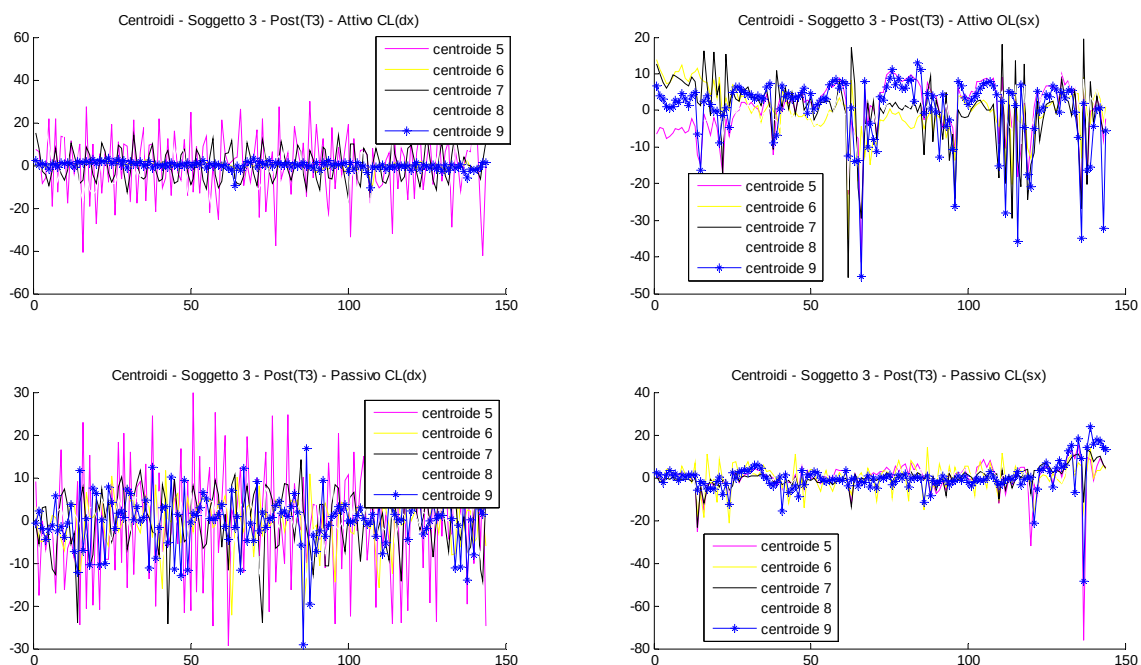


Figura 6.14 Esempio di *cluster analysis*: cinetica dei centroidi 5-9 individuati, per ognuno dei 4 task acquisiti.

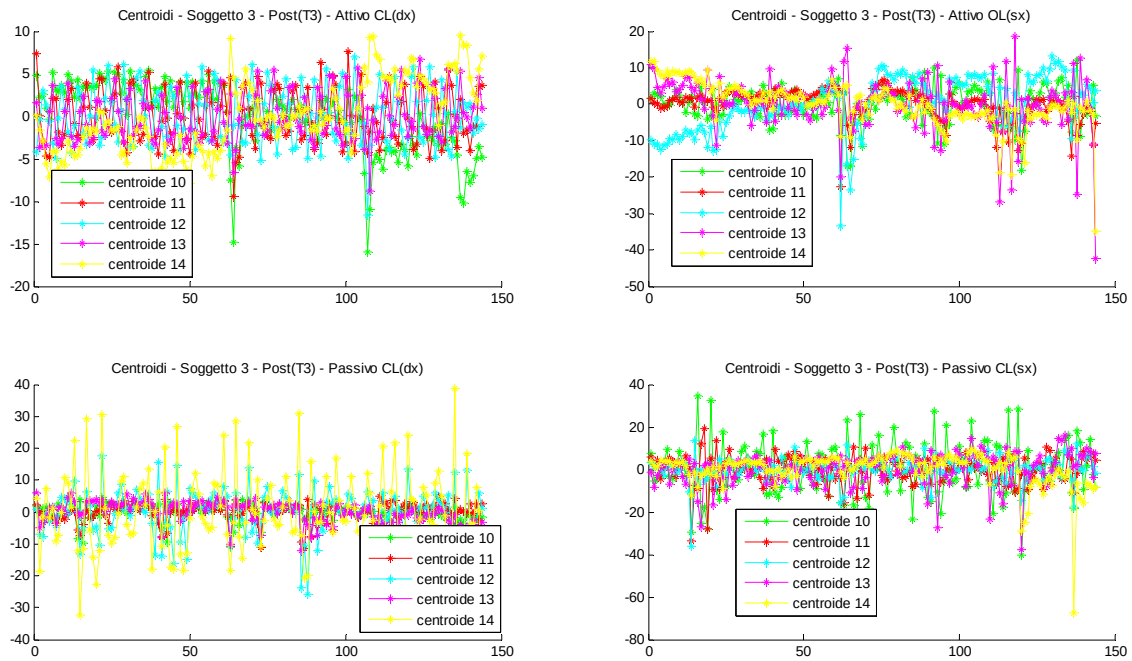


Figura 6.15 Esempio di *cluster analysis*: cinetica dei centroidi 10-14 individuati, per ognuno dei 4 task acquisiti.

Osservando i risultati, si nota come anche una suddivisione in 14 *cluster* (questi aspetti sono ancora più distinguibili se si suddivide in 10 o 6 *cluster*) non sia sufficiente ad individuare in modo dettagliato le aree di attivazione. In particolare, i centroidi che presentano una variazione maggiore del segnale, cioè quelli che potrebbero essere più legati all'attivazione cerebrale, corrispondono invece ad aree cerebrali certamente non coinvolte nei vari *task*, come quella uditiva e visiva, che si attivano in modo inevitabile, ma non sono correlate al movimento. Gli andamenti degli altri centroidi non riescono a permettere l'individuazione delle aree di attivazione, sia perché le cinetiche stesse dei centroidi rimangono comunque molto simili tanto da non permettere la selezione di uno o due di essi in modo univoco, sia perché le aree corrispondenti ad ogni centroide sono troppo vaste ad indicare che il numero di 14 *cluster* non è sufficiente per una corretta e precisa individuazione delle aree di attivazione. Del resto, però, risulta impraticabile clusterizzare i dati con un numero di *cluster* maggiore di 14 con il metodo del k-means, visto che i centroidi risulterebbero ancora meno distinguibili tra loro. Per questi motivi, la *cluster analysis* non si è dimostrata essere una strategia adottabile nel contesto di questo studio.

6.3 Analisi di correlazione

Al fine di eseguire l'analisi di correlazione tra i dati di fMRI e *gait analysis* è stato necessario individuare dei parametri rappresentativi di entrambe le analisi. Ci si è concentrati sui parametri caratterizzanti la mobilità dell'articolazione tibiotarsica, che rappresenta il parametro più strettamente correlabile con il *task* svolto in fMRI e maggiormente rappresentativo della capacità di cammino. I suddetti parametri sono stati calcolati come di seguito.

6.3.1 Indici riassuntivi relativi alla valutazione tramite *gait analysis*

Di tutti i valori dei parametri cinematici e dinamici della camminata esposti in precedenza, in questa Tesi si sono utilizzati, per le successive valutazioni, solo:

SpeedRaw (indicata come Speed), CadenceRaw (indicata come Cadence),
StrideLength, AnklePowerPeak, AnklePositiveWork,
AnkleNegativeWork, AnklePowerPeakFromControLateralHS.

I valori di normalità utilizzati (paragrafo 5.1.4), relativi ai parametri considerati, sia per la camminata a velocità normale che per quella massimale, sono riportati in tabella 6.5.

Tipo camminata	N	F
Speed	1,04	1,49
Cadence	49,90	61,18
StrideLength	73,29	86,82
AnklePowerPeak	2,42	3,24
AnklePositiveWork	0,30	0,33
AnkleNegativeWork	-0,07	-0,04
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	-10,86	-13,28

Tabella 6.5 Valori di normalità dei parametri considerati di *gait analysis*.

Per ogni parametro considerato, si è calcolato lo scostamento tra il valore relativo alla camminata patologica analizzata ed il corrispondente valore di normalità. In seguito si riportano i valori di tale scostamento (denominato $\Delta_{\text{norm-pat}}$) calcolati per tutte le prove (sia *F* che *N*, sia *Pre* che *Post*) di ognuno dei tre soggetti analizzati.

Per quanto riguarda il soggetto n° 1:

Soggetto 1 (lesione sx) - Pre (T1)											
Tipo camminata	N			N			F			F	
Side	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor
Speed	0.39	1.04	-62.39	0.42	1.04	-59.50	0.53	1.49	-64.77	0.65	1.49
Cadence	42.11	49.90	-15.61	43.96	49.90	-11.90	48.82	61.18	-20.20	57.57	61.18
StrideLength	34.50	73.29	-52.93	36.60	73.29	-50.06	40.30	86.82	-53.58	42.19	86.82
AnklePowerPeak	0.42	2.42	-82.51	1.85	2.42	-23.36	0.57	3.24	-82.36	2.83	3.24
AnklePositiveWork	0.05	0.30	-84.98	0.20	0.30	-34.91	0.07	0.33	-79.53	0.17	0.33
AnkleNegativeWork	-0.06	-0.07	13.88	-0.10	-0.07	-44.00	-0.09	-0.04	-99.04	-0.09	-0.04
AnklePowerOnsetFromControLateral	2.46	-10.86	122.62	-0.37	-10.86	96.63	1.00	-13.28	107.53	-1.94	-13.28

Soggetto 1 (lesione sx) - Post (T2)											
Tipo camminata	N			N			F			F	
Side	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor
Speed	0.54	1.04	-47.60	0.54	1.04	-47.92	0.72	1.49	-52.01	0.62	1.49
Cadence	45.91	49.90	-8.00	49.81	49.90	-0.17	54.03	61.18	-11.69	51.05	61.18
StrideLength	45.05	73.29	-38.53	40.70	73.29	-44.47	50.44	86.82	-41.90	45.69	86.82
AnklePowerPeak	1.30	2.42	-46.35	1.94	2.42	-19.83	1.00	3.24	-69.28	2.44	3.24
AnklePositiveWork	0.12	0.30	-60.83	0.15	0.30	-50.49	0.11	0.33	-68.47	0.18	0.33
AnkleNegativeWork	-0.12	-0.07	-63.29	-0.12	-0.07	-68.94	-0.13	-0.04	-194.62	-0.14	-0.04

Tabella 6.6 Soggetto 1: scostamento dal valore di normalità, dei parametri di *gait analysis* considerati, sia pre che post-terapia.

Da un rapido confronto dei grafici in figura 6.1-2 si conferma quanto rappresentato dal valore dei parametri. Per le diverse prove la *Speed* è molto inferiore ad un valore normale e la causa sembra essere attribuibile maggiormente alla *StrideLength* che è molto più scarsa di quanto lo è la *Cadence*. Dai grafici si osserva anche che i picchi di potenza alla caviglia sono inferiori di quelli normali ed anticipati nel tempo.

Per quanto riguarda il soggetto n° 2:

Soggetto 2 (lesione dx) - Pre (T1)											
Tipo camminata	N			N			F			F	
Side	CL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	CL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (dx)	rif_nor
Speed	0.34	1.04	-67.21	0.29	1.04	-72.03	0.55	1.49	-63.09	0.57	1.49
Cadence	31.75	49.90	-36.37	30.38	49.90	-39.11	31.66	61.18	-48.25	33.15	61.18
StrideLength	33.67	73.29	-54.06	32.19	73.29	-56.08	53.29	86.82	-38.62	53.72	86.82
AnklePowerPeak	0.65	2.42	-73.13	0.60	2.42	-75.03	1.08	3.24	-66.66	2.43	3.24
AnklePositiveWork	0.07	0.30	-75.30	0.15	0.30	-50.93	0.12	0.33	-64.14	0.36	0.33
AnkleNegativeWork	-0.09	-0.07	-21.41	-0.13	-0.07	-77.88	-0.19	-0.04	-336.31	-0.21	-0.04
AnklePowerOnsetFromControLateral	3.44	-10.86	131.67	5.32	-10.86	148.95	3.17	-13.28	123.84	-3.04	-13.28

Soggetto 2 (lesione dx) - Post (T3)											
Tipo camminata	N			N			F			F	
Side	CL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	CL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (dx)	rif_nor
Speed	NP	1.04	NP	0.49	1.04	-52.75	0.81	1.49	-45.64	0.70	1.49
Cadence	39.09	49.90	-21.66	37.15	49.90	-25.55	42.55	61.18	-30.45	36.36	61.18
StrideLength	43.16	73.29	-41.11	41.73	73.29	-43.06	59.79	86.82	-31.13	60.35	86.82
AnklePowerPeak	1.11	2.42	-54.03	2.10	2.42	-13.40	1.48	3.24	-54.47	2.73	3.24
AnklePositiveWork	0.12	0.30	-59.61	0.37	0.30	21.84	0.12	0.33	-64.44	0.46	0.33
AnkleNegativeWork	-0.14	-0.07	-93.41	-0.25	-0.07	-247.29	-0.12	-0.04	-174.38	-0.27	-0.04

Tabella 6.7 Soggetto 2: scostamento dal valore di normalità, dei parametri di *gait analysis* considerati, sia pre che post-terapia.

Come per il primo, anche per questo secondo soggetto le velocità (*Speed*) sono inferiori, nettamente pre-terapia, ai valori di normalità. Tuttavia, in questo caso, frequenza (*Cadence*) e lunghezza (*StrideLength*) del passo sono quasi equivalentemente inferiori rispetto alla situazione di riferimento. Inoltre, si osserva un recupero del massimo valore di potenza espresso dalla caviglia ed un debole

miglioramento del *timing*, anche se sempre in anticipo rispetto ad una situazione non patologica. In Pre i valori di potenza e di lavoro sono meno distanti da quelli di normalità di quanto lo siano quelli del primo soggetto, in post le differenze tra i due soggetti sono meno evidenti.

Per quanto riguarda il soggetto n° 3:

Soggetto 3 (lesione sx) - Pre (T1)											
Tipo camminata	N			N			F			F	
Side	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor
Speed	0.46	1.04	-55.64	n.d.	1.04	n.d.	0.65	1.49	-56.38	n.d.	1.49
Cadence	40.82	49.90	-18.19	n.d.	49.90	n.d.	48.39	61.18	-20.91	n.d.	61.18
StrideLength	35.11	73.29	-52.09	n.d.	73.29	n.d.	43.59	86.82	-49.79	n.d.	86.82
AnklePowerPeak	0.43	2.42	-82.43	n.d.	2.42	n.d.	0.18	3.24	-94.45	n.d.	3.24
AnklePositiveWork	0.04	0.30	-86.65	n.d.	0.30	n.d.	0.01	0.33	-96.41	n.d.	0.33
AnkleNegativeWork	-0.05	-0.07	23.76	n.d.	-0.07	n.d.	-0.05	-0.04	-16.95	n.d.	-0.04
AnklePowerOnsetFromControlateral	6.46	-10.86	159.52	n.d.	-10.86	n.d.	8.07	-13.28	160.72	n.d.	-13.28

Soggetto 3 (lesione sx) - Post (T2)											
Tipo camminata	N			N			F			F	
Side	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor	Δnorm-pat	CL (dx)	rif_nor	Δnorm-pat	OL (sx)	rif_nor
Speed	0.48	1.04	-53.71	n.d.	1.04	n.d.	0.64	1.49	-57.05	n.d.	1.49
Cadence	38.96	49.90	-21.92	n.d.	49.90	n.d.	43.17	61.18	-29.44	n.d.	61.18
StrideLength	38.83	73.29	-47.02	n.d.	73.29	n.d.	48.20	86.82	-44.48	n.d.	86.82
AnklePowerPeak	0.16	2.42	-93.59	n.d.	2.42	n.d.	0.00	3.24	-99.97	n.d.	3.24
AnklePositiveWork	0.01	0.30	-95.66	n.d.	0.30	n.d.	0.04	0.33	-86.85	n.d.	0.33
AnkleNegativeWork	-0.04	-0.07	50.59	n.d.	-0.07	n.d.	-0.06	-0.04	-43.94	n.d.	-0.04

Tabella 6.8 Soggetto 3: scostamento dal valore di normalità, dei parametri di *gait analysis* considerati, sia pre che post-terapia.

Questo terzo soggetto presenta, come per il primo, un valore errato di *StrideLength* molto più sensibile di quello di *Cadence*; la *Speed* risultante è scarsa soprattutto per questa incapacità di compiere passi di lunghezza adeguata. Inoltre, in Pre i valori di potenza e lavoro si discostano maggiormente dai valori di normalità rispetto a quelli osservati nei tre soggetti, soprattutto per quanto riguarda la camminata a velocità massimale. Infine, da una prima osservazione dei parametri, non sembra che la situazione pre-terapia sia molto differente da quella post-terapia.

A partire dal valore calcolato di tali scostamenti, si sono poi proposti tre diversi indici, che possono permettere di valutare come la terapia con EMG BFB abbia influenzato il recupero motorio dell'articolazione di caviglia, in quanto questo risulta il parametro più strettamente correlabile col *task* svolto in fMRI. Qui di seguito si riportano i valori di questi indici ottenuti per ciascuno dei tre soggetti in studio.

Il primo indice, denominato "*var_Post-Pre*", esprime la variazione dello scostamento percentuale dal valore normale tra la condizione pre (*Pre*) e quella dopo (*Post*) terapia. Ci si attende che il trattamento riabilitativo, migliorando la performance motoria, riduca tale scostamento: questo caso è rappresentato con un valore negativo dell'indice "*var_Post-Pre*". È possibile che la variazione non sia omogenea tra i diversi parametri, ovvero alcuni di essi possono essere migliorati ed altri peggiorati, o il miglioramento può essere più sensibile per alcuni, meno per altri. Questo comportamento può significare che il trattamento con EMG BFB agisce maggiormente

su alcune caratteristiche neuro-motorie associate al cammino, o più semplicemente che la terapia ha permesso un ripristino più evidente dei parametri più compromessi.

Per il primo soggetto si sono ottenuti i valori del primo indice indicati in tabella 6.9:

Soggetto 1 (lesione sx)				
Tipo camminata	N		F	
Side	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)
Indice	var_Post-Pre	var_Post-Pre	var_Post-Pre	var_Post-Pre
Speed	-14.79	-11.57	-12.75	2.24
Cadence	-7.61	-11.73	-8.52	10.65
StrideLength	-14.40	-5.59	-11.68	-4.04
AnklePowerPeak	-36.17	-3.53	-13.08	12.31
AnklePositiveWork	-24.14	15.58	-11.06	-2.94
AnkleNegativeWork	49.41	24.94	95.58	114.70
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	-15.24	2.13	-31.25	-11.06

Tabella 6.9 Soggetto 1: valori del primo indice di *gait analysis*.

I risultati di questo soggetto rivelano che, per tutte le diverse tipologie di camminata, la produzione di lavoro negativo da parte della caviglia è risultata essere incrementata (in valore assoluto) nel tempo, ovvero è maggiore l'energia assorbita dalla caviglia.

I pochi valori positivi misurati per il lato omolaterale, quindi quello sano, indicano un peggioramento dei parametri; tuttavia sono probabilmente meno significativi di quelli relativi all'arto paretico, in quanto possono essere causati da una naturale variabilità tra diversi passi, soprattutto considerando il fatto che *Speed* non è variata tra *Pre* e *Post* terapia (precisamente, è diminuita in modo non significativo).

A parte l'eccezione costituita da *AnkleNegativeWork*, tutti gli altri parametri mostrano un *trend* di miglioramento nel tempo, più accentuato per le camminate a velocità normale che per quelle massimali. La terapia con EMG BFB ha quindi prodotto significativi risultati per tutti i parametri neuro-muscolari e coordinativi analizzati, osservando un miglioramento sia delle potenze prodotte che del *timing* della loro applicazione.

Per il secondo soggetto si sono ottenuti i valori del primo indice indicati in tabella 6.10:

Soggetto 2 (lesione dx)				
Tipo camminata	N		F	
Side	CL (sx)	OL (dx)	CL (sx)	OL (dx)
Indice	var_Post-Pre	var_Post-Pre	var_Post-Pre	var_Post-Pre
Speed	NP	-19.29	-17.45	-8.72
Cadence	-14.71	-13.57	-17.80	-5.25
StrideLength	-12.95	-13.02	-7.49	-7.64
AnklePowerPeak	-19.10	-61.63	-12.18	-9.22
AnklePositiveWork	-15.69	-29.10	0.30	27.79
AnkleNegativeWork	72.00	169.41	-161.93	150.68
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	-7.67	-31.84	-7.82	-9.06

Tabella 6.10 Soggetto 2: valori del primo indice di *gait analysis*.

Come per il primo soggetto, anche per questo secondo si nota come i miglioramenti siano stati maggiormente evidenti per le camminate *N* più che per quelle *F* e, a

velocità elevata, più per il lato paretico che per quello sano nel caso di camminata veloce, ma al contrario nel caso di camminata normale.

In ogni caso si conferma il *trend* di miglioramento di tutti i parametri, tranne, come già osservato per il primo soggetto, per quanto riguarda *AnkleNegativeWork*. La variazione di questo parametro indica che dopo terapia si ha un suo peggioramento (a differenza della camminata *F* del lato *CL*, ma potrebbe compensare il valore di *AnklePositiveWork* che in questo caso non è in linea con il *trend*), nel senso che l'energia assorbita è cresciuta (sempre più maggiore del valore di normalità).

Per il terzo soggetto si sono ottenuti i valori del primo indice indicati in tabella 6.11:

Soggetto 3 (lesione sx)				
Tipo camminata	N		F	
Side	CL (dx)	OL (sx)	CL (dx)	OL (sx)
Indice	var_Post-Pre	var_Post-Pre	var_Post-Pre	var_Post-Pre
Speed	-1.93	n.d.	0.67	n.d.
Cadence	3.73	n.d.	8.53	n.d.
StrideLength	-5.08	n.d.	-5.31	n.d.
AnklePowerPeak	11.16	n.d.	5.52	n.d.
AnklePositiveWork	9.01	n.d.	-9.56	n.d.
AnkleNegativeWork	26.82	n.d.	26.99	n.d.
AnklePowerOnsetFromControLateralHS	39.15	n.d.	85.52	n.d.

Tabella 6.11 Soggetto 3: valori del primo indice di *gait analysis*.

Quest'ultimo soggetto, di cui sono disponibili solo i valori relativi all'arto paretico, non sembra aver beneficiato della terapia con EMG BFB.

In particolare, sia per la camminata *N* che per quella *F*, nel tempo la Speed appare invariata, mentre si registra un leggero miglioramento del valore di StrideLength, evidentemente compensato dal peggioramento della Cadence: per mantenere la stessa velocità il soggetto compie passi più lunghi, ma con una cadenza inferiore.

L'anticipo patologico dell'onset di espressione della potenza massima della caviglia, che dopo terapia è inferiore, è forse giustificato da questa diversa strategia adottata per generare la velocità del passo.

Il lavoro positivo compiuto dalla caviglia appare discorde, nel senso che sembra essere migliorato per la camminata *F* ma peggiorato per quella *N*.

Per ottenere il secondo indice, si considerano le variazioni percentuali (*diff_F-N*) tra il valore di ogni parametro calcolato per la camminata a velocità massimale (*F*) e quello calcolato per la camminata a velocità normale (*N*). Un suo valore positivo significa che la camminata patologica analizzata si discosta da quella normale di riferimento in modo più netto nel caso di velocità elevate, rispetto alla cammina a velocità naturale.

Il secondo indice, *var_diff_F-N_Post-Pre*, è calcolato come variazione percentuale tra i valori assoluti di *diff_F-N* misurato prima della terapia (*Pre*) e quello misurato dopo la terapia (*Post*). Un valore positivo di questo indice significa che dopo la terapia si è accentuata la differenza tra gli scostamenti dal valore normale dei parametri della camminata *N* e quelli della camminata *F*.

Per il primo soggetto si sono ottenuti i valori del secondo indice indicati in tabella 6.12:

Soggetto 1 (lesione sx)						
Indice	CL (dx)			OL (dx)		
	Pre (T1)	Post (T2)	var_diff_F-N_Post-Pre	Pre (T1)	Post (T2)	var_diff_F-N_Post-Pre
	diff_F-N	diff_F-N		diff_F-N	diff_F-N	
Speed	2.38	4.41	2.04	-3.12	10.69	7.57
Cadence	4.60	3.69	-0.91	-6.00	16.38	10.39
StrideLength	0.66	3.37	2.72	1.34	2.90	1.56
AnklePowerPeak	-0.16	22.93	22.78	-10.79	5.05	-5.74
AnklePositiveWork	-5.45	7.64	2.19	14.14	-4.38	-9.77
AnkleNegativeWork	85.15	131.32	46.17	51.66	141.42	89.76

Tabella 6.12 Soggetto 1: valori del secondo indice di *gait analysis*.

Dai valori di *diff_F-N*, che sono tipicamente positivi, si osserva che nella quasi totalità dei casi i parametri per la camminata *F* si discostano maggiormente dai valori normali rispetto allo scostamento misurato per le camminate *N*. Ciò indica come le difficoltà nella camminata si amplificano al crescere della velocità.

In contrasto con questa affermazione, è il comportamento del parametro *AnklePowerOnsetFromControlateralHS*: per le camminate *N* assume un valore più lontano dalle fasce di normalità di quanto nella camminata *F*. Un motivo può essere che il soggetto, per poter aumentare la velocità, sia costretto a mettere in atto un *timing* più corretto, che in condizioni di cammino normale tende a non rispettare.

In accordo con quanto osservato dal primo indice, i miglioramenti sono stati in generale più significativi per *N* che per *F*; infatti dai valori di *var_diff_F-N_Post-Pre*, si vede come le differenze tra gli errori compiuti in cammino normale e cammino massimale si siano accentuate nel tempo. Evidentemente il paziente ha recuperato maggiormente una più corretta camminata "basale", mentre rimangono limitazioni più evidenti per quanto riguarda la capacità di aumentare la velocità di cammino. Ciò potrebbe indicare come la terapia con EMG BFB possa essere più determinante nel recupero e nel rafforzamento di una motricità di base, piuttosto che per migliorare performance massimali.

Per il secondo soggetto si sono ottenuti i valori del secondo indice indicati in tabella 6.13:

Soggetto 2 (lesione dx)						
Indice	CL (dx)			OL (dx)		
	Pre (T1)	Post (T3)	var_diff_F-N_Post-Pre	Pre (T1)	Post (T3)	var_diff_F-N_Post-Pre
	diff_F-N	diff_F-N		diff_F-N	diff_F-N	
Speed	-4.12	NP	NP	-10.29	0.27	-10.01
Cadence	11.88	8.79	-3.09	6.70	15.02	8.32
StrideLength	-15.44	-9.98	-5.46	-17.95	-12.57	-5.38
AnklePowerPeak	-6.47	0.44	-6.03	-49.98	2.43	-47.56
AnklePositiveWork	-11.16	4.83	-6.33	-42.76	14.13	-28.63
AnkleNegativeWork	314.89	80.97	-233.93	287.66	268.93	-18.73

Tabella 6.13 Soggetto 2: valori del secondo indice di *gait analysis*.

A differenza del primo soggetto, in questo caso i valori di *diff_F-N* hanno segno molto più eterogeneo. Prima della terapia solo *Cadence* e *AnkleNegativeWork* hanno valore positivo, ovvero il valore in *F* è più lontano dalle fasce di normalità di quello in *N*; tutti gli altri parametri sono meno devianti dal valore normale per le camminate a velocità naturale. Dopo la terapia, invece, per diversi parametri si inverte la situazione, ma in

questi casi gli scostamenti dal valore normale diventano pressoché equivalenti nel caso di camminata *N* o camminata *F*.

Per quanto riguarda il lato controlaterale, ovvero quello paretico, *var_diff_F-N_Post-Pre* ha valore tendenzialmente negativo, o poco positivo nel caso di *AnkleNegativeWork*; di questi, però, l'unica variazione significativa riguarda *AnkleNegativeWork*. Infatti, la differenza tra lo scostamento del lavoro negativo compiuto dalla caviglia ed il valore di normalità, dopo la terapia appare essere più simile tra le camminate a diversa velocità.

Per quanto riguarda il lato omolaterale, come osservato per *CL*, *var_diff_F-N_Post-Pre* ha valore tendenzialmente negativo, più importante per i parametri di potenza e lavoro.

Rispetto al primo soggetto, si potrebbe pensare che questo secondo abbia realizzato un processo di recupero più omogeneo tra le due condizioni analizzate, confermando quanto già sottolineato dall'osservazione dei rispettivi primi indici.

Per il terzo soggetto si sono ottenuti i valori del secondo indice indicati in tabella 6.14:

Soggetto 3 (lesione sx)						
Side	CL (dx)			OL (dx)		
Time	Pre (T1)	Post (T2)		Pre (T1)	Post (T2)	
Indice	diff_F-N	diff_F-N	var_diff_F-N_Post-Pre	diff_F-N	diff_F-N	var_diff_F-N_Post-Pre
Speed	0.74	3.34	2.60	n.d.	n.d.	n.d.
Cadence	2.71	7.52	4.80	n.d.	n.d.	n.d.
StrideLength	-2.30	-2.54	0.23	n.d.	n.d.	n.d.
AnklePowerPeak	12.02	6.38	-5.64	n.d.	n.d.	n.d.
AnklePositiveWork	9.77	-8.81	-0.96	n.d.	n.d.	n.d.
AnkleNegativeWork	-6.82	-6.65	-0.16	n.d.	n.d.	n.d.

Tabella 6.14 Soggetto 3: valori del secondo indice di *gait analysis*.

Anche per questo terzo soggetto i risultati del secondo indice riflettono quanto già espresso dal primo: la terapia con EMG BFB non ha determinato significative variazioni della camminata.

Solo per *AnklePowerOnsetFromControlateralHS* si osserva che, mentre in *Pre* lo scostamento dal valore di normalità era simile tra le due velocità di cammino, in *Post* tale differenza si è accentuata, come già osservato dall'analisi del primo indice.

Per questo soggetto, essendo disponibili solo i valori relativi all'arto paretico, non è possibile valutare se le variazioni di scostamento alle diverse velocità di cammino siano più evidenti per l'arto non paretico. Questa ipotesi è, però, poco prevedibile; piuttosto si può ipotizzare che anche i parametri relativi all'altro arto non siano variati.

Per ottenere il terzo indice, si considerano le variazioni percentuali (*diff_OL-CL*) tra il valore di ogni parametro calcolato relativamente al lato omolaterale alla lesione (*OL*) e quello relativo al lato controlaterale (*CL*). Ci si attende un valore negativo di *diff_OL-CL*, che significa che la camminata patologica analizzata si discosta maggiormente da quella normale di riferimento se si considera l'arto *CL*, più che per l'arto *OL*.

Il terzo indice, chiamato *var_diff_OL-CL_Post-Pre*, è calcolato come variazione percentuale tra i valori assoluti di *diff_OL-CL* misurato prima della terapia (*Pre*) e quello misurato dopo la terapia (*Post*). Ci si attende che la terapia diminuisca le differenze tra arto paretico ed arto sano e ciò è rappresentato da un valore negativo di *var_diff_OL-CL_Post-Pre*; tuttavia la riabilitazione determina delle alterazioni del

pattern motorio anche dell'arto sano per compensare il *decifit* di quello paretico, per cui un valore positivo di *var_diff_OL-CL_Porst-Pre* può essere giustificato da questo motivo.

Per il primo soggetto si sono ottenuti i valori del terzo indice indicati in tabella 6.15:

Soggetto 1 (lesione sx)						
Tipo camminata	N			F		
Time	Pre (T1)	Post (T2)		Pre (T1)	Post (T2)	
Indice	diff_OL-CL	diff_OL-CL	var_diff_OL-CL_Post-Pre	diff_OL-CL	diff_OL-CL	var_diff_OL-CL_Post-Pre
Speed	-2.89	0.32	-2.57	-8.39	6.60	-1.79
Cadence	-3.71	-7.83	4.12	-14.30	4.87	-9.44
StrideLength	-2.87	5.94	3.07	-2.18	5.47	3.29
AnklePowerPeak	-59.15	-26.51	-32.64	-69.78	-44.39	-25.39
AnklePositiveWork	-50.07	-10.35	-39.72	-30.48	-22.36	-8.12
AnkleNegativeWork	30.12	5.65	-24.47	-3.37	15.74	12.37

Tabella 6.15 Soggetto 1: valori del terzo indice di *gait analysis*.

Dai valori di *diff_OL-CL* si nota, confermando le attese, come in *Pre* la quasi totalità dei parametri relativi all'arto paretico siano maggiormente distanti dal valore normale di quanto lo siano i valori relativi all'arto sano. Unica eccezione è rappresentata da *AnkleNegativeWork* prima della terapia.

Post-terapia, invece, questa situazione è meno evidente. I parametri *Speed*, *Cadence* e *StrideLength*, che già in *Pre* assumono un valore ridotto, in *Post* cambiano segno, ma sempre mantenendo un valore assoluto basso: per questo motivo non sono particolarmente significativi. Al contrario, i parametri relativi alla potenza, al lavoro e al *timing*, sono contraddistinti da un comportamento più differente tra *OL* e *CL*.

Tutte queste osservazioni sono confermate da *var_diff_OL-CL_Porst-Pre*, che mostra valori negativi significativi solo per quanto riguarda *AnklePowerPeak*, *AnklePositiveWork*. *AnkleNegativeWork* ed *AnklePowerOnsetFromControlateralHS*.

Infine, è da sottolineare come le variazioni determinate dalla terapia siano maggiormente osservabili nel cammino a velocità normale, piuttosto che in quello a velocità elevata; tale aspetto è stato già messo in risalto dai primi due indici.

Per il secondo soggetto si sono ottenuti i valori del terzo indice indicati in tabella 6.16:

Soggetto 2 (lesione dx)						
Tipo camminata	N			F		
Time	Pre (T1)	Post (T3)		Pre (T1)	Post (T3)	
Indice	diff_OL-CL	diff_OL-CL	var_diff_OL-CL_Post-Pre	diff_OL-CL	diff_OL-CL	var_diff_OL-CL_Post-Pre
Speed	4.82	NP	NP	-1.34	7.38	6.04
Cadence	2.75	3.89	1.14	-2.44	10.12	7.68
StrideLength	2.02	1.95	-0.07	-0.50	-0.65	0.15
AnklePowerPeak	1.90	-40.63	38.73	-41.61	-38.65	-2.96
AnklePositiveWork	-24.37	-37.77	13.41	-55.97	-28.47	-27.49
AnkleNegativeWork	56.47	153.88	97.41	29.24	341.85	312.61

Tabella 6.16 Soggetto 2: valori del terzo indice di *gait analysis*.

Per questo secondo soggetto, come anche per il primo, *Speed*, *Cadence* e *StrideLength* non presentano particolari differenze tra *OL* e *CL* (per quanto riguarda lo scostamento del valore da quello di normalità). Solo per la camminata F si registra, tra *Pre* e *Post*, un aumento dello scostamento, comunque non elevato.

Al contrario del soggetto precedente, in questo caso non si ha un andamento nel tempo prettamente di diminuzione delle differenze tra gli arti. Infatti, *var_diff_OL-CL_Post-Pre* assume valore significativamente positivo per quanto riguarda *AnkleNegativeWork* in *Pre* e *Post* e per quanto riguarda *AnklePositiveWork* e *AnklePowerPeak* sono in *Pre*. Ciò può essere dovuto al fatto che il soggetto, per incrementare l'*outcome* motorio, ha messo in atto strategie compensative, modificando l'utilizzo dell'arto sano per sopperire le difficoltà di quello paretico.

Per il terzo soggetto non è stato possibile calcolare quest'ultimo indice, data l'assenza dei valori relativi all'arto omolaterale alla lesione neurale.

6.3.2 Indici riassuntivi relativi alla valutazione tramite fMRI

Come descritto al paragrafo 6.2, i metodi di analisi basati su GLM e su *cluster analysis* hanno mostrato forti limitazioni per la loro applicabilità al contesto di questa Tesi. Per questo motivo, si è proposto un metodo innovativo di analisi delle immagini funzionali. Le immagini funzionali pre-elaborate, sono state suddivise in 116 ROI (58 coppie simmetriche tra emisfero destro e sinistro) individuate su base anatomica nel template MNI T1-pesato a cui tutte sono state normalizzate. Per ogni ROI si è ottenuta la serie temporale della media dei segnali relativi ai diversi *voxel* che la compongono e per ogni coppia di ROI corrispondenti si sono ricavate due misure di differenza delle serie temporali del segnale medio, calcolate come descritto al paragrafo 5.1.5.4. In Appendice A si propongono i risultati ottenuti per tutte le 58 coppie di ROI dei quattro diversi *task* di ognuno dei tre soggetti patologici studiati e dell'unico di controllo.

In questa Tesi ci si limita a considerare 4 delle 58 ROI rappresentanti le aree cerebrali che, secondo letteratura, dovrebbero corrispondere a quelle maggiormente coinvolte durante l'esecuzione di un *task* motorio. In particolare, le quattro aree analizzate sono quelle motoria (numero 26), pre-motoria (numero 7), senso-motoria (numero 17) e il cervelletto (numero 58). Come esempio, si riportano (figure 6.16-19) gli andamenti temporali del segnale medio delle 4 ROI analizzate, distinguendo il segnale proveniente dall'emisfero destro (in rosso) da quello dell'emisfero sinistro (in blu), dei quattro *task* relativi all'acquisizione post-terapia del terzo soggetto.

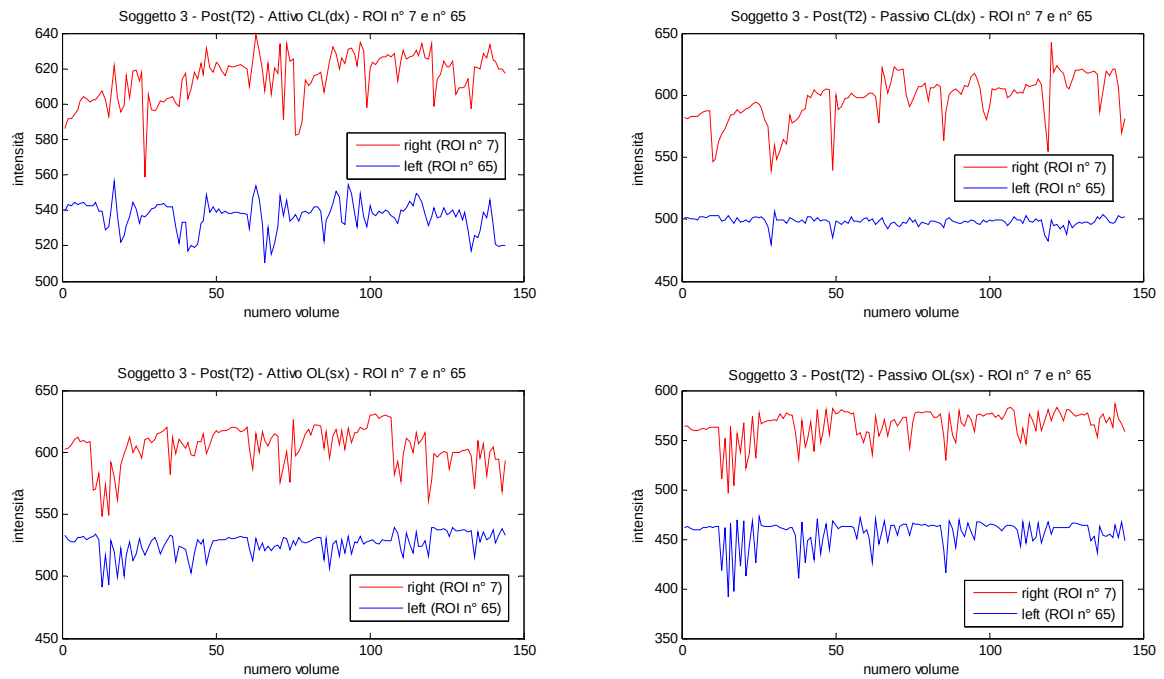


Figura 6.16 Esempio (soggetto 3 - Post) di segnale medio dell'area pre-motoria dell'emisfero destro (in rosso) e sinistro (in blu) durante il movimento attivo dell'arto controlaterale.

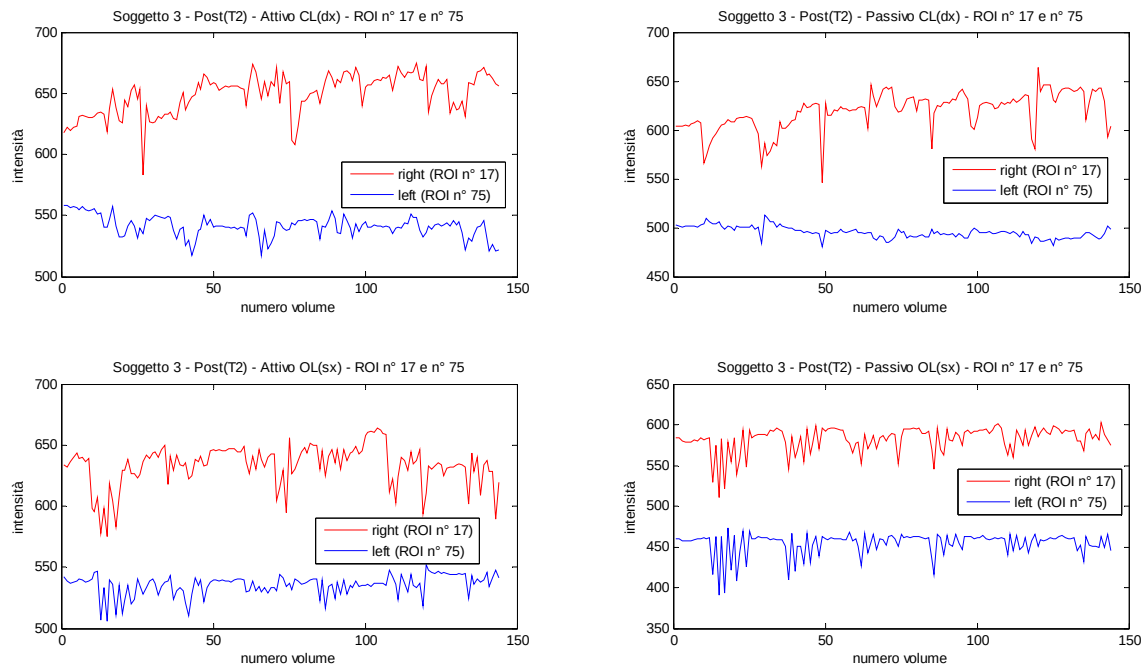


Figura 6.17 Esempio (soggetto 3 - Post) di segnale medio dell'area senso-motoria dell'emisfero destro (in rosso) e sinistro (in blu) durante il movimento attivo dell'arto controlaterale.

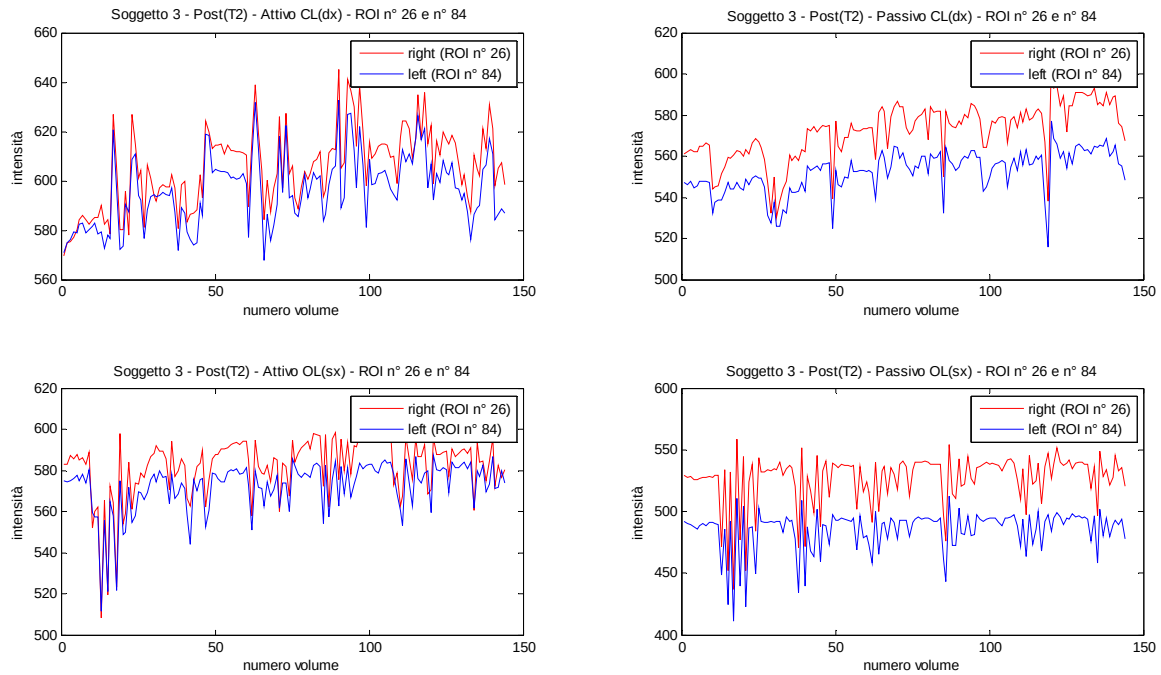


Figura 6.18 Esempio (soggetto 3 - Post) di segnale medio dell'area motoria dell'emisfero destro (in rosso) e sinistro (in blu) durante il movimento attivo dell'arto controlaterale.

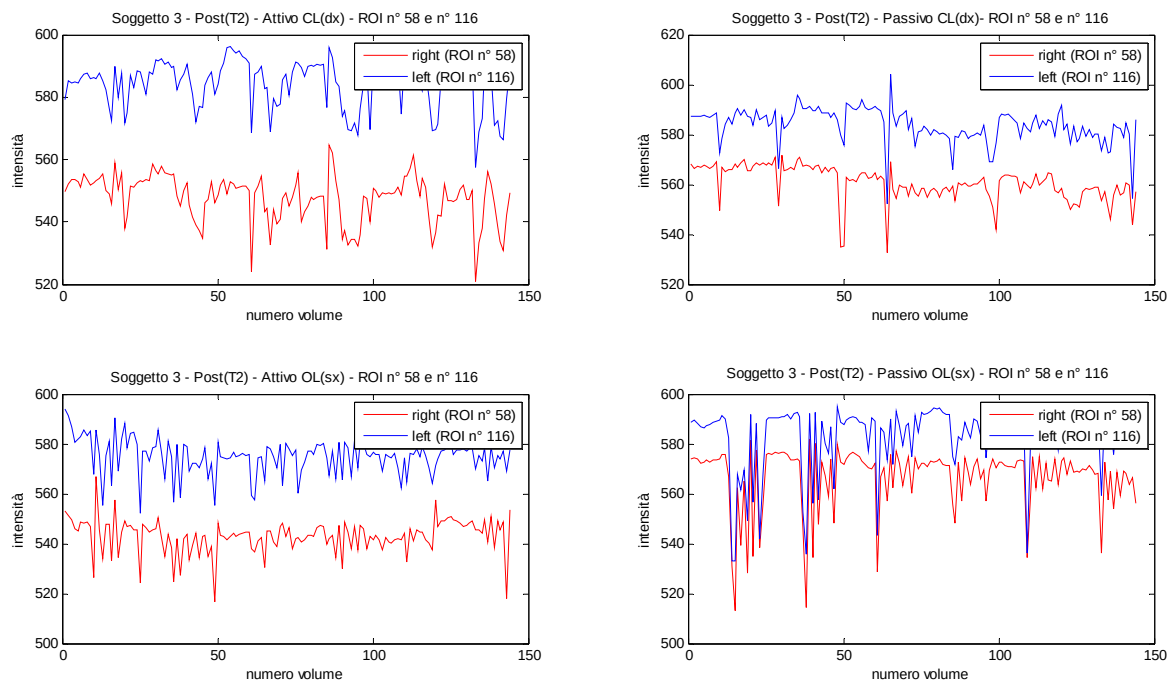


Figura 6.19 Esempio (soggetto 3 - Post) di segnale medio della porzione di cervelletto nell'emisfero destro (in rosso) e sinistro (in blu) durante il movimento attivo dell'arto controlaterale.

Si riportano in tabella 6.17 i valori delle due differenze calcolate per queste quattro ROI nell'acquisizione del task attivo (A) e passivo (P) eseguito dal soggetto di controllo.

Controllo		A		P	
ROI		diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	10.57	127.02	11.02	132.44
17	senso-motoria	1.99	25.15	2.79	34.63
26	area motoria	11.91	143.37	13.90	167.24
58	cervelletto	17.79	213.62	15.73	188.96

Tabella 6.17 Soggetto di controllo: valori delle differenze tra le 4 coppie di ROI considerate.

In tabella 6.18-20, le differenze calcolate per le quattro ROI relative ai tre soggetti in studio. Si riportano i valori di tutti e quattro i *task* (ricordando che con *A* si fa riferimento al movimento attivo, mentre con *P* a quello passivo; con *CL* il movimento compiuto dall'arto controlaterale alla lesione, mentre con *OL* quello effettuato dall'arto omolaterale), sia per l'acquisizione precedente, che quella successiva alla somministrazione del protocollo riabilitativo.

Soggetto 1		Pre (T1)							
		A - CL(dx)		A - OL(sx)		P - CL(dx)		P - OL(sx)	
ROI		diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	-70.1	843.5	55.4	665.9	-67.1	806.2	43.6	526.1
17	senso-motoria	-93.7	1128.7	76.6	920.2	-92.1	1106.2	65.1	784.8
26	area motoria	-16.4	199.0	10.6	129.0	-14.5	176.0	10.7	134.3
58	cervelletto	9.9	121.9	-3.0	37.5	18.0	216.5	17.9	215.9

Soggetto 1		Post (T2)							
		A - CL(dx)		A - OL(sx)		P - CL(dx)		P - OL(sx)	
ROI		diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	-48.6	589.3	41.7	504.4	-46.0	552.9	42.4	510.5
17	senso-motoria	-71.2	859.0	72.7	875.5	-76.4	917.6	69.7	836.7
26	area motoria	-32.3	389.1	20.1	241.7	-19.3	232.0	18.5	222.7
58	cervelletto	-2.5	56.5	43.1	518.6	-34.3	412.7	37.6	451.6

Tabella 6.18 Soggetto 1: valori delle differenze tra le 4 coppie di ROI considerate, per ognuno dei 4 task, sia in Pre che in Post.

Soggetto 2		Pre (T1)							
		A - CL(sx)		A - OL(dx)		P - CL(sx)		P - OL(dx)	
ROI		diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	-23.7	285.3	34.9	418.7	-30.1	361.5	31.1	374.4
17	senso-motoria	-32.7	393.6	38.8	466.2	-33.9	407.0	35.8	430.7
26	area motoria	24.6	295.2	-15.7	189.2	18.2	219.7	-14.7	178.7
58	cervelletto	13.7	165.5	-50.4	604.7	25.5	306.6	-34.9	419.5

Soggetto 2		Post (T3)							
		A - CL(sx)		A - OL(dx)		P - CL(sx)		P - OL(dx)	
ROI		diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	-83.9	1008.9	64.2	770.5	-63.1	757.3	65.6	787.9
17	senso-motoria	-79.8	960.6	68.0	816.8	-66.0	792.6	72.0	864.8
26	area motoria	3.1	53.7	-15.8	190.5	16.7	201.6	-13.7	166.5
58	cervelletto	-48.1	578.7	41.4	497.6	-60.3	724.5	37.0	444.6

Tabella 6.19 Soggetto 2: valori delle differenze tra le 4 coppie di ROI considerate, per ognuno dei 4 task, sia in Pre che in Post.

Soggetto 3		Pre (T1)							
		A - CL(dx)		A - OL(sx)		P - CL(dx)		P - OL(sx)	
ROI		diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	15.8	196.7	-16.7	201.1	20.7	249.3	-17.4	211.1
17	senso-motoria	10.9	142.2	-8.3	102.1	15.1	183.0	-11.0	135.5
26	area motoria	12.5	151.2	-13.6	163.6	15.8	191.2	-12.1	147.5
58	cervelletto	1.5	27.7	-6.0	73.3	5.1	62.6	-1.2	20.7

Soggetto 3		Post (T2)							
		A - CL(dx)		A - OL(sx)		P - CL(dx)		P - OL(sx)	
ROI		diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd	diff	ssd
7	pre-motoria	-77.9	949.8	77.7	950.9	-98.3	1201.6	108.5	1305.3
17	senso-motoria	-108.0	1316.8	97.8	1189.7	-124.0	1514.1	127.8	1535.8
26	area motoria	-9.1	126.3	10.0	137.4	-19.6	241.2	41.6	503.1
58	cervelletto	36.7	443.7	-31.9	386.9	23.1	284.0	-17.1	212.1

Tabella 6.20 Soggetto 3: valori delle differenze tra le 4 coppie di ROI considerate, per ognuno dei 4 task, sia in Pre che in Post.

La seconda misura di differenza (*ssd*, radice quadrata della somma nel tempo dei quadrati delle differenze del segnale medio tra i due emisferi) è stata calcolata per evitare un problema che può essere riscontrato con l'utilizzo del primo indice, ovvero che la presenza di differenze di segno opposto determini una loro media nulla, mascherando il fatto che in realtà i segnali medi siano diversi fra loro; per contro, però, questo indice non permette di discriminare in quale dei due emisferi si è misurato un segnale maggiore. Si è verificato, però, che in tutti i casi analizzati, il primo indice non va in contro al problema ipotizzato e dunque, per le successive elaborazioni, si è deciso di utilizzare il primo indice, anche alla luce dell'importanza della sua capacità di indicare l'emisfero con il segnale maggiore. Visto il suo impiego, si ribadisce che l'indice di differenza *diff*, rappresenta la media temporale della differenza tra il segnale medio nella ROI dell'emisfero controlaterale al movimento ed il segnale medio nella ROI dell'emisfero omolaterale al movimento.

Le differenze del segnale medio tra gli emisferi osservate nel soggetto di controllo indicano, come ci si aspetta, un maggior coinvolgimento del lato controlaterale al movimento (visto il segno positivo di tutte le differenze) per ognuna delle quattro aree cerebrali considerate, sia per il movimento attivo che per quello passivo. Tuttavia, essendo disponibili le immagini funzionali relative ad un solo soggetto sano di controllo, non è possibile definire dei valori di normalità relativi alle attivazioni delle diverse aree e quindi i valori rilevati per i soggetti patologici non saranno confrontati direttamente con questi, a differenza di quanto è stato possibile fare per i dati di *gait analysis*. Al contrario, i valori relativi ai soggetti patologici mostrano numerose differenze negative. Ciò si ritiene sia indice di patologia e su questa assunzione si basano le analisi successive.

A partire dal valore calcolato di tali differenze, si sono poi proposti tre diversi indici, che possono permettere di valutare come la terapia con EMG BFB abbia influenzato una modifica delle attivazioni neurali durante l'esecuzione delle varie condizioni di flesso-estensione dell'articolazione tibio-tarsica, individuato come movimento paradigmatico del cammino e quindi confrontabile con gli indici di *gait analysis* individuati.

Il primo indice, denominato " $\Delta\text{diff_Post-Pre}$ ", è calcolato, per ogni *task* compiuto dal soggetto, come la variazione delle differenze degli emisferi rilevate prima e dopo il trattamento riabilitativo, in modo tale che un suo segno negativo sia indice di peggioramento della differenza tra il segnale dei due emisferi, e un suo valore positivo sottenda un miglioramento.

Per il primo soggetto si sono ottenuti i valori del primo indice indicati in tabella 6.21:

Soggetto 1		CL (dx)		OL (sx)	
		A	P	A	P
ROI		$\Delta\text{diff_Post-Pre}$ [%]	$\Delta\text{diff_Post-Pre}$ [%]	$\Delta\text{diff_Post-Pre}$ [%]	$\Delta\text{diff_Post-Pre}$ [%]
7	pre-motoria	30.7	31.5	-24.7	-2.7
17	senso-motoria	24.1	17.1	-5.0	7.1
26	area motoria	-97.5	-32.7	89.1	72.3
58	cervelletto	74.6	-90.9	1342.0	109.5

Tabella 6.21 Soggetto 1: valori del primo indice di fMRI.

Il primo soggetto mostra, per le aree motoria, pre-motoria e senso-motoria, delle differenze negative tra gli emisferi durante il movimento (sia attivo che passivo) dell'arto paretico, che rappresentano un segno patologico. Tali differenze diventano positive nel momento in cui l'azione viene svolta dal lato omolaterale la lesione, indicando che il cervello in questo caso attua un controllo non patologico.

Questa situazione si osserva sia precedentemente che dopo la somministrazione del protocollo riabilitativo, anche se alcune differenze sembrano significative. In particolare, per il movimento dell'arto paretico, $\Delta\text{diff_Post-Pre}$ assume un valore positivo relativamente all'area pre-motoria e senso-motoria durante il movimento del lato controlaterale, indicando un recupero dell'attivazione neurale verso una situazione di normalità. Al contrario, l'attivazione dell'area motoria pare ancor più compromessa dopo la terapia, visto l'aumento della differenza negativa tra gli emisferi. Infine, il cervelletto è caratterizzato da un'evoluzione non uniforme: per il movimento passivo questa ROI mostra un peggioramento della differenza di attivazione tra i due emisferi; al contrario, durante l'azione volontaria si osserva un miglioramento. Visto il ruolo del cervelletto nel permettere l'adattamento dello schema motorio alle diverse condizioni esterne, sembra essere più significativo il valore assunto relativamente al *task* attivo.

Osservando i valori ricavati riguardo il movimento dell'arto omolaterale alla lesione, si riscontrano delle variazioni probabilmente non significative riguardo le aree pre-motoria e senso-motoria; aumenta, invece, l'attivazione del lato controlaterale al movimento, sia del cervelletto che dell'area motoria.

In conclusione, la terapia riabilitativa con BFB EMG sembra aver indotto dei miglioramenti neurali nel soggetto, indicando un possibile motor *re-learning* della funzionalità compromessa dalla patologia. Per quanto riguarda l'area motoria, il suo pattern di attivazione può indicare che la porzione sana di M1 si attiva durante l'esecuzione del movimento da parte di entrambi gli arti, assolvendo anche il compito precedentemente svolto dall'area lesionata.

Per il secondo soggetto si sono ottenuti i valori del primo indice indicati in tabella 6.22:

Soggetto 2		CL (sx)		OL (dx)	
		A	P	A	P
ROI		$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$
7	pre-motoria	-253.5	-109.7	84.0	110.7
17	senso-motoria	-143.8	-94.8	75.2	101.0
26	area motoria	-87.2	-8.1	-0.8	7.1
58	cervelletto	-251.5	-136.3	182.3	206.0

Tabella 6.22 Soggetto 2: valori del primo indice di fMRI.

Prima del trattamento riabilitativo, il secondo soggetto presenta un'attivazione patologica (differenza negativa tra il segnale medio dell'emisfero controlaterale e quello omolaterale) dell'area pre-motoria e senso-motoria nel caso di movimento dell'arto controlaterale alla lesione, e dell'area motoria e del cervelletto nel caso di movimento dell'arto sano. Dopo la somministrazione del protocollo riabilitativo, il soggetto sembra aver peggiorato significativamente l'attivazione di tutte le aree considerate durante l'esecuzione del movimento con l'arto paretico. Le attivazioni rilevate durante il movimento del lato sano, invece, mostrano un'attivazione maggiore dell'emisfero controlaterale al movimento, tranne che per l'area motoria che mostra differenze minime; tuttavia questi miglioramenti sono meno accentuati dei peggioramenti descritti per il lato paretico.

Questi risultati mostrano un quadro neurologico peggiorato dopo la terapia riabilitativa con EMG BFB, nonostante i valori iniziali indicassero una situazione più vicina alla normalità di quanto lo fosse quella del primo soggetto. In particolare, il paziente coinvolge in modo molto più massiccio l'emisfero sano del cervello.

Per il terzo soggetto si sono ottenuti i valori del primo indice indicati in tabella 6.23:

Soggetto 3		CL (dx)		OL (sx)	
		A	P	A	P
ROI		$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre [\%]}$
7	pre-motoria	-392.0	-375.4	366.6	523.2
17	senso-motoria	-890.6	-723.2	1078.0	1058.0
26	area motoria	-27.0	-24.0	26.0	245.0
58	cervelletto	2354.3	353.6	-427.2	-1300.5

Tabella 6.23 Soggetto 3: valori del primo indice di fMRI.

Il terzo soggetto, prima del trattamento riabilitativo, presenta un'attivazione apparentemente corretta durante il movimento dell'arto paretico, nel senso che coinvolge maggiormente (anche se di poco) l'emisfero controlaterale al movimento (ovvero quello lesionato) rispetto all'altro. Invece, l'attivazione che si riscontra con il *task* eseguito dal lato sano, è patologica. Dopo la terapia il quadro neurologico appare invertito: l'attività delle aree pre-motoria, senso-motoria e motoria assume valori patologici durante l'esecuzione del movimento da parte dell'arto paretico, mentre presenta valori normali considerando l'esecuzione del lato sano.

Come per il secondo, anche per questo terzo soggetto, ed in modo molto più evidente, il quadro neurologico sembra peggiorato dopo la terapia.

Per ottenere il secondo indice si considerano le variazioni percentuali delle differenze dei segnali dei due emisferi tra il movimento dell'arto paretico (CL) e quello dell'arto

sano (OL), indicate con $\Delta diff_CL-OL$. Non avendo a disposizione le immagini funzionali relative ai movimenti di entrambi gli arti da parte del soggetto di controllo, non è possibile stabilire il valore che $\Delta diff_CL-OL$ assume in condizioni non patologiche. Se si suppone che il cervello risponda in maniera simmetrica nel movimento dei due arti, allora ci si dovrebbe attendere che $\Delta diff_CL-OL$ assuma valore prossimo allo zero.

Sulla base di questa ipotesi si calcola il secondo indice, indicato con $\Delta diff_Post-Pre_CL-OL$, che indica l'evoluzione nel tempo di $\Delta diff_CL-OL$, ovvero la sua variazione tra la condizione rilevata prima e quella dopo la somministrazione del protocollo riabilitativo; ci si attende che in seguito alla terapie diminuiscano le differenze di attivazione neurale tra il movimento dell'arto sano e quello paretico.

Per il primo soggetto si sono ottenuti i valori del secondo indice indicati in tabella 6.24:

Soggetto 1		A			P		
		Pre (T1)	Post (T2)		Pre (T1)	Post (T2)	
ROI		$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_Post-Pre_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_Post-Pre_CL-OL$ [%]
7	pre-motoria	26.4	16.4	-10.1	53.9	8.4	-45.5
17	senso-motoria	22.4	-2.2	-20.3	41.6	9.7	-31.9
26	area motoria	54.1	60.9	6.9	35.3	4.3	-31.1
58	cervelletto	230.1	-94.2	-135.9	0.2	-8.7	8.5

Tabella 6.24 Soggetto 1: valori del secondo indice di fMRI.

Il primo soggetto manifesta una diminuzione dell'indice per tutte le ROI, a parte un debole incremento di quello relativo all'area motoria nel caso di *task* attivo e di quello relativo al cervelletto nel caso di *task* passivo. Secondo il significato ipotizzato, tali risultati sono in linea con quanto indicato anche dal primo indice, ovvero della manifestazione di un recupero neurologico, che però pare coinvolgere meno l'area motoria. I valori di questo indice sono più significativi nel caso di movimento passivo, per il quale dopo la terapia $\Delta diff_CL-OL$ assume valore quasi nullo; unica eccezione è rappresentato dalla variazione rilevata per il cervelletto durante il *task* attivo, che assume valore largamente preponderante su tutte le altre calcolate.

Per il secondo soggetto si sono ottenuti i valori del secondo indice indicati in tabella 6.25:

Soggetto 2		A			P		
		Pre (T1)	Post (T3)		Pre (T1)	Post (T3)	
ROI		$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_Post-Pre_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_CL-OL$ [%]	$\Delta diff_Post-Pre_CL-OL$ [%]
7	pre-motoria	-31.9	30.8	-1.2	-3.4	-3.9	0.5
17	senso-motoria	-15.7	17.3	1.7	-5.5	-8.4	2.9
26	area motoria	56.6	-80.1	23.6	23.4	22.1	-1.3
58	cervelletto	-72.8	16.0	-56.8	-27.0	62.8	35.8

Tabella 6.25 Soggetto 2: valori del secondo indice di fMRI.

Per il secondo soggetto, l'indice è sostanzialmente invariato nel caso di *task* passivo, a parte l'area motoria per la quale si osserva un peggioramento. Anche per il *task* attivo si osservano poche variazioni, limitate ad un peggioramento relativo all'area motoria e un più sensibile miglioramento per quanto concerne il cervelletto. Tra attivo e passivo, quindi, è interessante sottolineare la differenza dell'evoluzione nel tempo del cervelletto. A differenza del primo indice, che assumeva valori di netto peggioramento

del quadro neurologico, questo secondo indice descrive una situazione meno definita, nel quale un significativo peggioramento si rileva solo per l'area motoria.

Per il terzo soggetto si sono ottenuti i valori del secondo indice indicati in tabella 6.26:

Soggetto 3		A			P		
		Pre (T1)	Post (T2)		Pre (T1)	Post (T2)	
ROI		$\Delta\text{diff_CL-OL [\%]}$	$\Delta\text{diff_CL-OL [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre_CL-OL [\%]}$	$\Delta\text{diff_CL-OL [\%]}$	$\Delta\text{diff_CL-OL [\%]}$	$\Delta\text{diff_Post-Pre_CL-OL [\%]}$
7	pre-motoria	-4.9	0.3	-4.7	18.8	-9.4	-9.4
17	senso-motoria	31.3	10.4	-20.9	36.6	-2.9	-33.6
26	area motoria	-8.1	-9.3	1.2	30.7	-53.0	22.3
58	cervelletto	-75.3	15.1	-60.2	318.5	35.5	-282.9

Tabella 6.26 Soggetto 3: valori del secondo indice di fMRI.

Per il terzo soggetto, l'indice è negativo per tutte le ROI considerate, sia per il movimento compiuto volontariamente che passivamente; unica eccezione è rappresentata dal valore positivo riscontrato per l'area motoria, debole per i movimenti attivi, più sensibile nel *task* passivo. In completo contrasto con il primo indice, questo secondo rappresenta una situazione tendenzialmente di miglioramento.

Si ribadisce che le valutazioni, fatte sui valori riscontrati nei soggetti patologici, non si basano né su letteratura, né su dati ricavati da soggetti sani di controllo. Ci si è basati su un'ipotesi verosimile, ma non verificata, della complessa fisiologia cerebrale. Pertanto, questo indice non sarà considerato nella valutazione del quadro neurologico e degli effetti del trattamento riabilitativo sul pattern di attivazione neurale. Sembra, però, poter essere un indice significativo. Futuri studi potranno indagare più approfonditamente il suo significato.

Il terzo indice, $\Delta\text{diff_A-P}$, è rappresentato dalla variazione percentuale della differenza del segnale tra gli emisferi, tra il movimento attivo e quello passivo.

È l'unico dei tre indici di valutazione della fMRI che è possibile calcolare per l'unico soggetto di controllo, per il quale si sono rilevate delle variazioni debolmente negative per le aree pre-motoria, senso-motoria e motoria, mentre leggermente positiva per il cervelletto 6.27.

Controllo		
ROI		$\Delta\text{diff_A-P}$
7	pre-motoria	-4.1
17	senso-motoria	-28.6
26	area motoria	-14.4
58	cervelletto	13.1

Tabella 6.27 Soggetto di Controllo: valori del terzo indice di fMRI.

Da questi valori si potrebbe ipotizzare che solo per il cervelletto la parte dell'emisfero controlaterale si incrementi maggiormente di quella dell'emisfero omolaterale al movimento durante il movimento attivo rispetto a quanto avviene per il movimento passivo. Al contrario, ci si potrebbe aspettare che questa condizione si verifichi per tutte le quattro aree analizzate. Si potrebbe anche considerare il valore assoluto dell'indice: in tal modo, un suo valore sopra una certa soglia potrebbe indicare che la

ROI è in qualche modo coinvolta con il movimento volontario del piede; il problema sta nell'individuare una soglia di variazione che indichi le aree di attivazione. Vista la disponibilità di un solo soggetto di controllo, non statisticamente significativo, e date le deboli variazioni che per questo sono state riscontrate, nel seguito della Tesi non si terrà in considerazione questo indice per la valutazione del recupero neurale e degli effetti della terapia riabilitativa analizzata. Si riportano comunque i valori di questo indice calcolati per i tre soggetti patologici studiati.

Per il primo soggetto si sono ottenuti i valori del terzo indice indicati in tabella 6.28:

Soggetto 1		CL(dx)		OL(sx)	
		Pre (T1)	Post (T2)	Pre (T1)	Post (T2)
ROI		$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]
7	pre-motoria	4.4	5.5	27.1	-1.7
17	senso-motoria	1.8	-6.8	17.7	4.4
26	area motoria	12.7	67.8	-1.0	8.7
58	cervelletto	-45.1	-92.7	-83.3	14.7

Tabella 6.28 Soggetto di Controllo: valori del terzo indice di fMRI.

Si osservano variazioni significative soprattutto per quanto riguarda l'area motoria, ma solo durante i movimenti dell'arto paretico, e per quanto riguarda il cervelletto, anche se con segno eterogeneo tra i *task*.

Per il secondo soggetto si sono ottenuti i valori del terzo indice indicati in tabella 6.29:

Soggetto 2		CL(sx)		OL(dx)	
		Pre (T1)	Post (T3)	Pre (T1)	Post (T3)
ROI		$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]
7	pre-motoria	21.1	-33.1	12.0	-2.2
17	senso-motoria	3.3	-21.0	8.3	-5.6
26	area motoria	35.2	-81.2	-6.6	-15.6
58	cervelletto	-46.4	20.3	-44.2	11.9

Tabella 6.29 Soggetto 1: valori del terzo indice di fMRI.

Come per il primo soggetto, anche per il secondo si osservano variazioni significative della variazione di differenza di attivazione dell'area motoria, ma sempre principalmente associate ai movimenti dell'arto paretico, e del cervelletto. In più, anche l'area pre-motoria mostra dei valori di una certa importanza e con segno opposto tra il *Pre* ed il *Post*.

Per il terzo soggetto si sono ottenuti i valori del terzo indice indicati in tabella 6.30:

Soggetto 3		CL(dx)		OL(sx)	
		Pre (T1)	Post (T2)	Pre (T1)	Post (T2)
ROI		$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]	$\Delta\text{diff_A-P}$ [%]
7	pre-motoria	-23.4	20.8	4.4	-28.4
17	senso-motoria	-27.6	12.9	24.8	-23.5
26	area motoria	-21.0	53.5	-12.3	-75.9
58	cervelletto	-70.7	58.7	-396.3	-86.8

Tabella 6.30 Soggetto 2: valori del terzo indice di fMRI.

Il terzo soggetto mostra dei valori di variazione molto più elevati di quelli riscontrati precedentemente; il cervelletto ha un andamento eterogeneo.

Dai valori osservati per il soggetto di controllo e da quelli patologici, si potrebbe concludere che il cervelletto sia l'area tra quelle considerate che più entra in gioco nell'esecuzione volontaria del movimento; tuttavia i dati a disposizione non permettono di giustificare tale ipotesi.

Il significato di questo indice necessita di uno studio più approfondito (valutandone anche l'evoluzione nel tempo), che non è stato possibile affrontare in questa Tesi.

6.3.3 Risultati delle analisi di correlazione

La prima analisi di correlazione è stata eseguita al fine di verificare la non ridondanza delle informazioni derivanti dalle diverse condizioni sperimentali, per giustificare la loro acquisizione.

Per quanto riguarda la *gait analysis*, per ogni soggetto si sono calcolati i coefficienti di correlazione di Pearson tra i valori del primo indice di tutti i parametri. In particolare, i 6 coefficienti calcolati per ogni soggetto riguardano la correlazione tra risultati di miglioramento/peggioramento ottenuti per tutti i parametri relativi: all'arto paretico e quello sano (*CL-OL*); alla camminata a velocità normale e a quella massimale (*N-F*); all'arto paretico e quello sano, per la sola camminata normale (*N_CL-OL*); all'arto paretico e quello sano, per la sola camminata massimale (*F_CL-OL*); alla camminata a velocità normale e a quella massimale per il solo arto controlaterale alla lesione (*CL_N-F*); alla camminata a velocità normale e a quella massimale per il solo arto omolaterale alla lesione (*OL_N-F*). Per il terzo soggetto, disponendo dei valori dei parametri relativi al solo arto controlaterale, è stato possibile calcolare solo la correlazione tra camminata *N* ed *F*. I valori ricavati sono riportati in tabella 6.31.

gait analysis	CL-OL	N-F	N_CL-OL	F_CL-OL	CL_N-F	OL_N-F
Soggetto 1	0.890	0.801	0.605	0.989	0.925	0.667
Soggetto 2	-0.165	0.327	0.982	-0.950	-0.988	0.953
Soggetto 3	nd	0.885	nd	nd	0.885	nd

Tabella 6.31 Analisi di correlazione tra i diversi task acquisiti in *gait analysis*.

I valori di correlazione confermano quanto già osservato dai risultati dei singoli parametri. Per il primo soggetto, il recupero dell'*outcome* motorio è molto simile per entrambi gli arti (*CL-OL*), più a velocità elevate (*F_CL-OL*) che per velocità normale (*N_CL-OL*); il recupero è stato meno omogeneo alle diverse velocità (*N-F*), con differenze maggiori nel caso dell'arto sano (*OL_N-F*). Il secondo soggetto, invece,

presenta una debole correlazione negativa tra *CL* e *OL*, confermando che il recupero ha determinato un miglioramento dell'arto sano, molto meno evidente (al limite di peggioramento) per l'arto paretico. Questa situazione è specificata meglio osservando il diverso indice di correlazione alle due velocità: a velocità normale i due arti manifestano un miglioramento molto simile (*N_CL-OL*), che diventa opposto per velocità massimali (*F_CL-OL*). A conferma di ciò, la correlazione tra i miglioramenti alle due velocità (*N-F*) è bassa, e con segno opposto considerandola limitatamente ai due diversi arti (*CL-N-F* e *OL-N-F*). L'unico coefficiente di correlazione relativo al terzo soggetto conferma delle variazioni abbastanza simili del comportamento dell'arto paretico alle diverse velocità (*CL_N-F*).

Per quanto le immagini di fMRI, per ogni soggetto si sono calcolati i coefficienti di correlazione di Pearson tra i valori del primo indice di tutti i parametri. In particolare, i 6 coefficienti calcolati per ogni soggetto riguardano la correlazione tra risultati di miglioramento/peggioramento ottenuti per tutti i parametri relativi al movimento: dell'arto paretico e di quello sano (*CL-OL*); passivo e quello attivo (*P-A*); dell'arto paretico e di quello sano del solo *task* passivo (*P_CL-OL*); dell'arto paretico e di quello sano del solo *task* attivo (*A_CL-OL*); passivo e attivo del solo arto controlaterale alla lesione (*CL_P-A*); passivo e attivo del solo arto omolaterale alla lesione (*OL_P-A*). I valori ricavati sono riportati in tabella 6.32.

fMRI	CL-OL	P-A	P_CL-OL	A_CL-OL	CL_P-A	OL_P-A
Soggetto 1	0.190	0.646	-0.987	0.541	-0.131	0.828
Soggetto 2	-0.561	0.978	-0.946	-0.818	0.891	0.997
Soggetto 3	-0.641	0.663	-0.944	-0.870	0.914	0.912

Tabella 6.32 Analisi di correlazione tra i diversi *task* acquisiti in fMRI.

I coefficienti calcolati confermano che le modifiche neurali non avvengono in egual modo quando la flessione-estensione della caviglia è compiuta dall'arto paretico o da quello sano (*CL-OL*): per il primo soggetto c'è una sostanziale non correlazione (fortemente negativa per il *task* passivo, *P_CL-OL*, debolmente positiva per quello attivo, *A_CL-OL*), per gli altri due una correlazione negativa (più forte per il *task* passivo che per quello attivo). Minori differenze, ovvero più correlazione, è riscontrata confrontando le variazioni neurali indotte tra l'esecuzione volontaria e involontaria del movimento (*P-A*); in particolare, per il secondo soggetto si registra una forte correlazione.

In conclusione, questa prima analisi di correlazione ha confermato l'adeguatezza dell'acquisizione di tutti i diversi *task* previsti dal protocollo sperimentale di *gait analysis* e di fMRI. Infatti, i risultati ottenuti dai diversi *task* analizzati non si dimostrano fortemente correlati, confermando che le informazioni a cui portano riguardano diverse caratteristiche associate al movimento ed al recupero delle funzionalità compromesse dalla lesione.

La seconda analisi di correlazione, ha voluto verificare se la terapia ha indotto un recupero omogeneo tra i soggetti.

I coefficienti di correlazione calcolati tra i valori dei parametri di miglioramento della performance motoria individuati per ognuno dei tre soggetti, sono riportati in tabella 6.33.

<i>gait analysis</i>	Soggetto 1	Soggetto 2	Soggetto 3
Soggetto 1	1.000	0.233	0.078
Soggetto 2	0.233	1.000	-0.038
Soggetto 3	0.078	-0.038	0.078

Tabella 6.33 Analisi di correlazione tra i soggetti, rispetto ai valori dei parametri di miglioramento di *gait analysis*.

Questi valori confermano come le modifiche del comportamento motorio osservate nel primo soggetto, non siano confrontabili con quelle indotte negli altri due; solo una debole correlazione è individuata con il secondo soggetto.

I coefficienti di correlazione calcolati tra i valori dei parametri di miglioramento dell'attivazione neurale individuati per ognuno dei tre soggetti, sono riportati in tabella 6.34.

fMRI	Soggetto 1	Soggetto 2	Soggetto 3
Soggetto 1	1.000	0.395	-0.178
Soggetto 2	0.395	1.000	-0.177
Soggetto 3	-0.178	-0.177	1.000

Tabella 6.34 Analisi di correlazione tra i soggetti, rispetto ai valori dei parametri di miglioramento di fMRI.

Questi valori confermano come le modifiche dell'attivazione neurale osservate nel primo soggetto siano solo debolmente confrontabili con quelle indotte nel secondo. Le variazioni riscontrate per il terzo soggetto sono debolmente correlate negativamente con quelle degli altri pazienti.

In conclusione, questa seconda analisi di correlazione conferma che la terapia con *biofeedback* elettromiografico ha indotto un recupero non omogeneo tra diversi soggetti studiati, sia per quanto concerne l'*outcome* motorio, sia per quanto riguarda il pattern di attivazione neurale. Dunque, non è possibile stabilire in modo definitivo il ruolo che tale protocollo terapeutico può avere nel processo riabilitativo.

L'ultimo test statistico vuole verificare se la terapia induce variazioni dell'*outcome* motorio simile a quelle indotte sul pattern di attivazione neurale, ovvero se eventuali miglioramenti di uno sono osservabili in misura simile anche nell'altro esame. Si è adottato il test di *Wilcoxon-Mann-Whitney* per verificare se i valori dei due gruppi di indici esprimono lo stesso effetto della terapia. I valori del *p-value* calcolati dal test sono pari a: 0.0328 per il primo soggetto, 0.3864 per il secondo, 0.803 per il terzo. Di conseguenza, assumendo un livello di significatività pari al 5%, l'ipotesi nulla è accettata per il secondo e terzo soggetto, mentre è rifiutata per il primo. Ciò significa che, per il secondo e per il terzo soggetto, le variazioni nella *gait analysis* sono considerate statisticamente simili a quelle nella fMRI; al contrario, per il primo soggetto il test rileva un differente comportamento tra l'evoluzione degli esiti dei sue esami.

CONCLUSIONI

Questa Tesi, svolta presso il Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione ed in collaborazione con il Polo Tecnologico dell'IRCCS S. Maria Nascente della Fondazione Don Carlo Gnocchi di Milano, è stata sviluppata al fine di permettere una valutazione della correlazione esistente tra le variazioni dell'*outcome* motorio e gli eventuali cambiamenti a livello di attivazione neurale, indotti da un trattamento terapeutico basato sull'impiego di *biofeedback* uditivo elettromiografico, in pazienti con emiparesi cronica in seguito ad ictus. I tre soggetti patologici studiati sono stati sottoposti ad acquisizioni di *gait analysis* e risonanza magnetica funzionale, precedentemente e successivamente alla somministrazione della terapia. Per permettere il raggiungimento dell'obiettivo prefissato, si è verificata l'applicabilità delle metodologie di indagine utilizzate tipicamente e se ne sono proposte di innovative per ottenere dei parametri che permettano di descrivere in modo quantitativo, oggettivo, accurato e robusto, sia l'attività neurologica, sia il comportamento motorio, considerando la tipologia della patologia.

La flessione estensione dell'articolazione tibio-tarsica è il movimento che maggiormente determina la capacità di deambulazione; per tale motivo in fMRI si è analizzata la risposta neurale durante l'esecuzione di tale *task*, che è stata poi confrontata con i parametri di *gait analysis* riguardanti la cinematica e la dinamica della caviglia, gli unici che sono stati considerati. Di quest'ultimi, si è proposto il calcolo di tre indici. Il primo valuta la variazione nel tempo della distanza del valore di ciascun parametro da un riferimento di normalità: un valore negativo rappresenta l'avvicinarsi ad una situazione non patologica, quindi un recupero della funzionalità motoria. Il secondo indice quantifica la diversa influenza della terapia sulla camminata naturale rispetto a quella a velocità massima. Il terzo indice vuole stabilire se l'eventuale recupero dell'*outcome* motorio sia determinato da un miglioramento della capacità di movimento dell'arto paretico o dall'azione compensatoria di quello sano.

Per il primo soggetto patologico, il primo indice di *gait analysis* calcolato mostra un miglioramento sia delle caratteristiche cinematiche del passo, che delle potenze prodotte e del timing della loro applicazione, associate però ad un peggioramento dell'energia assorbita dalla caviglia. Il secondo indice quantifica come le difficoltà nella camminata si fanno più evidenti al crescere della velocità e che questa differenza è aumentata dopo la terapia, indicando che il paziente ha recuperato una più corretta camminata "basale", mentre rimangono limitazioni più evidenti per quanto riguarda la capacità di aumentare la velocità di cammino. L'unico parametro in controtendenza è rappresentato dal timing di applicazione della potenza massima; un motivo può essere che il soggetto, per poter aumentare la velocità, sia costretto a mettere in atto una temporizzazione degli eventi del passo più corretta, che in condizioni di cammino normale tende a non rispettare. Come esplicitato dal terzo indice, il recupero motorio osservato determina, dopo terapia, un pattern dell'arto paretico più simile a quello sano.

Come per il primo, anche per il secondo soggetto patologico il primo indice mostra un miglioramento sia nelle caratteristiche cinematiche del passo, che delle potenze prodotte e del timing della loro applicazione, ancora però associate ad un peggioramento dell'energia assorbita dalla caviglia. Invece, a differenza del primo, per questo secondo soggetto si osserva dal secondo indice un processo di recupero più omogeneo tra le camminate a velocità diversa e dal terzo indice una tendenza a mantenere la differenza di funzionalità dei due arti.

Infine, per il terzo soggetto gli indici di dell'analisi del cammino non mostrano differenze significative tra i valori misurati prima e quelli dopo il trattamento terapeutico.

Per determinare, a partire dalle immagini funzionali acquisite, le aree neurali coinvolte nell'esecuzione del *task* motorio, il metodo basato sul GLM si è rivelato non essere applicabile. I soggetti, in seguito alla loro patologia, spesso non sono in grado di compiere il movimento di flessione-estensione dell'articolazione tibio-tarsica in modo corretto e senza coinvolgere gli altri distretti corporei, determinando un segnale qualitativamente molto difforme dall'andamento atteso della risposta emodinamica ipotizzata a partire dal disegno sperimentale adottato; in tale situazione il metodo GLM fallisce. I forti movimenti diversi da quelli previsti dal *task* (che riguardano sia la gamba, che la coscia, fino anche agli arti superiori), corrispondono alle compensazioni messe in atto dal paziente per bypassare i limiti funzionali. In più, questi movimenti sono molto eterogenei e variabili tra i diversi blocchi di *task* acquisiti. Per questo motivo, il fallimento del test GLM si osserva principalmente per i movimenti attivi e per quelli che coinvolgono l'arto paretico.

Vista l'inadeguatezza dell'utilizzo del metodo standard GLM nell'ambito studiato in questa Tesi, si è testata l'applicazione diretta delle tecniche di clustering alle serie temporali di dati fMRI, che quindi rappresenta un metodo immediato di analisi statistica che incorpora sia informazioni spaziali che temporali e non richiede l'esplicitazione dell'andamento atteso del segnale fMRI. Tuttavia non si è dimostrata una strategia adottabile. Testando il metodo *kmeans* suddividendo le regioni cerebrali in un numero crescente di cluster (6, 10, 14), si è osservato che i centroidi che presentano variazioni più significative del segnale, appartengono ad aree, come quella uditiva e visiva, inevitabilmente attivate, ma non correlate al movimento; quindi rappresentano del rumore. Le cinetiche dei segnali relativi agli altri cluster, invece, sono poco distinguibili fra loro. Il numero di cluster è, quindi, già troppo elevato per permettere una corretta interpretazione della suddivisione. Al contrario, però, il numero di cluster con cui si è suddiviso il volume appare troppo ridotto per permettere di individuare dettagliatamente le aree di attivazione: infatti le zone cerebrali corrispondenti ad ogni cluster sono eccessivamente grandi. Inoltre, l'impiego del metodo *kmeans* di *cluster analysis*, utilizzato perché converge più rapidamente rispetto ad altre tecniche più raffinate, può non aver raggiunto l'ottimo globale. Per questi motivi, la *cluster analysis* non si è dimostrata essere una strategia adottabile nel contesto di questo studio.

Visti i limiti di applicabilità del test basato su GLM e della *cluster analysis*, si è proposto un metodo innovativo di indagine a partire dal segnale grezzo, pre-elaborato solo per ottenere delle immagini confrontabili tra i diversi soggetti. Tale strategia di analisi considera l'andamento del segnale medio rilevato per ognuna delle 58 ROI con le quali si è suddiviso in egual modo ognuno dei due emisferi cerebrali. A partire da

questi dati, è stato possibile individuare degli indici che possono caratterizzare la fisiologia del cervello nei diversi *task*, verificando come la patologia altera i processi normali. In particolare, si sono considerate le ROI individuanti l'area motoria principale, quella pre-motoria, quella somatosensoriale ed il cervelletto che, in soggetti normali, sono le zone più coinvolte con il movimento. Gli indici proposti hanno permesso di valutare le differenze di attivazione neurale che si evidenziano quando il soggetto muove, passivamente o attivamente, il piede sano o quello paretico.

Di ognuna delle 4 ROI, si è calcolata la media temporale della differenza tra il segnale medio nella ROI dell'emisfero controlaterale al movimento ed il segnale medio nella ROI dell'emisfero omolaterale al movimento. Basandosi sui dati relativi all'unico soggetto sano di controllo e sulla letteratura, le successive valutazioni ipotizzano che, in assenza di patologia, l'emisfero controlaterale al movimento sia maggiormente attivato rispetto a quello omolaterale. Evidentemente, ampliando il campione di soggetti di controllo, sarà possibile confermare questa assunzione.

Il primo indice è calcolato come la variazione delle differenze degli emisferi rilevate prima e dopo il trattamento riabilitativo, in modo tale che un suo segno negativo sia indice di peggioramento della differenza tra il segnale dei due emisferi, e un suo valore positivo sottenda un miglioramento. Il secondo indice rappresenta l'evoluzione nel tempo della variazione delle differenze dei segnali dei due emisferi tra il movimento dell'arto paretico e quello dell'arto sano. Se si suppone che il cervello risponda in maniera simmetrica nel movimento dei due arti, un segno del recupero di un corretto pattern di attivazione neurale è rappresentato dalla tendenza ad annullare queste differenze. Non avendo a disposizione le immagini funzionali relative ai movimenti di entrambi gli arti da parte del soggetto di controllo, non è possibile verificare quest'assunzione; sviluppi futuri avranno questo come uno dei principali obiettivi. Il terzo indice è rappresentato dalla variazione percentuale della differenza del segnale tra gli emisferi, tra il movimento attivo e quello passivo e potrebbe permettere di individuare quale ROI siano coinvolte nel movimento volontario del piede. È l'unico dei tre indici di valutazione della fMRI che è possibile calcolare per l'unico soggetto di controllo; tuttavia, si registrano deboli variazioni di non chiara interpretazione. Non avendo un campione più numeroso non è possibile da esso determinare una soglia per determinare le attivazioni in modo statisticamente valido.

Per il primo soggetto patologico, il primo indice individua un recupero dell'attivazione neurale verso una situazione di normalità relativamente all'area pre-motoria e senso-motoria durante il movimento del lato controlaterale. Al contrario, l'attivazione dell'area motoria pare ancor più compromessa dopo la terapia. Il cervelletto, invece, è caratterizzato da un'evoluzione non uniforme: per il movimento passivo si ha un peggioramento, mentre durante l'azione volontaria si osserva un miglioramento. Visto il ruolo del cervelletto nel permettere l'adattamento dello schema motorio alle diverse condizioni esterne, sembra essere più significativo il valore assunto relativamente al *task* attivo. Le differenze negative, quindi patologie, del segnale delle aree motoria, senso-motoria e pre-motoria osservate durante il movimento dell'arto paretico, diventano positive nel momento in cui l'azione viene svolta dal lato omolaterale alla lesione, indicando che il cervello in questo caso attua un controllo non patologico. Secondo il significato ipotizzato, i risultati del secondo indice sono in linea con quanto indicato anche dal primo, ovvero della manifestazione di un recupero neurologico generalizzato, con l'unica eccezione rappresentata dall'area motoria nel caso di movimento passivo. Il terzo indice mostra variazioni significative soprattutto per

quanto riguarda l'area motoria, ma solo durante i movimenti dell'arto paretico, e per quanto riguarda il cervelletto, anche se con segno eterogeneo tra i *task*. Il significato è incerto, ma sembra confermare che queste due regioni siano le più coinvolte nell'esecuzione volontaria del *task*.

Per il secondo soggetto patologico, il primo indice mostra che, dopo la somministrazione del protocollo riabilitativo, il soggetto sembra aver peggiorato significativamente l'attivazione di tutte le aree considerate durante l'esecuzione del movimento con l'arto paretico, nonostante l'area motoria ed il cervelletto fossero caratterizzate da un'attivazione corretta prima del trattamento terapeutico. Considerando il movimento dell'arto sano, il coinvolgimento dell'area motoria non è significativamente variato, mentre le altre aree mostrano un'attivazione maggiore dell'emisfero controlaterale al movimento; tuttavia questi miglioramenti sono meno accentuati dei peggioramenti descritti per il lato paretico. A differenza del primo indice, che assume valori di netto peggioramento del quadro neurologico, il secondo indice descrive una situazione meno definita. Un significativo peggioramento si rileva solo per l'area motoria, mentre l'evoluzione nel tempo del cervelletto è differente tra *task* attivo e passivo; per le altre aree, non si registrano variazioni significative della condizione patologica. Il terzo indice, come per il primo soggetto, potrebbe indicare il coinvolgimento attivo dell'area motoria e del cervelletto; in più, anche l'area pre-motoria mostra dei valori di una certa importanza e con segno opposto tra il Pre ed il Post.

Il terzo soggetto, prima del trattamento riabilitativo, presenta un'attivazione apparentemente corretta durante il movimento dell'arto paretico e patologica durante l'esecuzione del *task* da parte dell'arto sano. Tuttavia, dopo la terapia il primo indice descrive un quadro neurologico invertito: l'attività delle aree pre-motoria, senso-motoria e motoria assume valori patologici durante l'esecuzione del movimento da parte dell'arto paretico, mentre presenta valori normali considerando l'esecuzione del lato sano. Come per il secondo, anche per questo terzo soggetto, ed in modo molto più evidente, il quadro neurologico sembra peggiorato dopo la terapia. In completo contrasto con il primo indice, il secondo rappresenta una situazione tendenzialmente di miglioramento: l'indice è negativo per tutte le ROI considerate, sia per il movimento compiuto volontariamente che passivamente; unica eccezione è rappresentata dal valore positivo riscontrato per l'area motoria, debole per i movimenti attivi, più sensibile nel *task* passivo. Il terzo indice presenta dei valori molto più elevati di quelli riscontrati per gli altri soggetti; potrebbe significare un coinvolgimento più diffuso di aree più vaste del cervello, indice di patologia.

I risultati delle *gait analysis* hanno mostrato, per tutti e tre i soggetti analizzati, una condizione patologica caratterizzata da una velocità di cammino inferiore a quella normale sia precedentemente che successivamente alla somministrazione del trattamento terapeutico. La terapia con EMG BFB ha indotto risultati eterogenei, tra i soggetti, dei parametri neuro-muscolari e coordinativi analizzati: il primo soggetto sembra aver recuperato uno schema motorio più corretto rispetto a quello del secondo soggetto, anche se

a discapito della performance motoria che invece pare maggiormente incrementata in quest'ultimo; il terzo soggetto, invece, non ha modificato la sua capacità di deambulazione. Dagli effetti sul primo soggetto si potrebbe supporre che la terapia con EMG BFB possa essere più determinante nel recupero e nel rafforzamento di una

motricità di base, piuttosto che per migliorare performance massimali. Diversamente, per il secondo soggetto la terapia ha migliorato la capacità di cammino anche a velocità elevate, ma non ha indotto un ripristino dell'*outcome* normale, bensì ha stimolato l'instaurarsi di strategie compensative, modificando l'utilizzo dell'arto sano per sopperire le difficoltà di quello paretico. Restano da valutare i motivi per i quali il terzo soggetto non abbia tratto beneficio alcuno.

Anche i risultati delle fMRI, come quelli di *gait analysis*, descrivono processi riabilitativi differenti tra i soggetti. Per il primo soggetto si rileva un recupero neurologico generalizzato, indicando un possibile *motor re-learning* della funzionalità compromessa dalla patologia, in linea con quanto manifestato dalle relative *gait analysis*. In particolare, le modifiche del suo pattern di attivazione possono indicare che la porzione sana di M1 si attiva durante l'esecuzione del movimento da parte di entrambi gli arti, assolvendo anche il compito precedentemente svolto dall'area lesionata.

Per quanto riguarda il secondo soggetto, i risultati mostrano un quadro neurologico peggiorato dopo la terapia riabilitativa, nonostante i valori iniziali indicassero una situazione più vicina alla normalità di quanto lo fosse quella del primo soggetto. In particolare, il paziente coinvolge in modo molto più massiccio l'emisfero sano del cervello. Questo peggioramento può essere in linea con quanto esplicitato dagli indici di *gait analysis*, nel senso che il miglioramento dell'*outcome* motorio, reso possibile dall'intervento compensatorio dell'arto sano, può riflettersi nell'importante incremento di attivazioni dell'emisfero sano.

Il terzo soggetto manifesta un sostanziale peggioramento dell'attività neurale, molto più diffusa e principalmente nell'emisfero sano. Questo peggioramento, però, non si riflette nell'*outcome* motorio che, tuttavia, è quello che, tra tutti i soggetti, si discosta maggiormente dai valori di normalità.

Le variazioni nel tempo degli indici di *gait analysis* e di fMRI sono risultati essere, effettuando su essi dei Wilcoxon rank sum test, statisticamente simili per il secondo e per il terzo soggetto; al contrario, per il primo soggetto il test rileva un differente comportamento tra l'evoluzione degli esiti dei suoi esami, ovvero una diversa influenza della terapia a livello centrale e periferico. I risultati di questo test statistico, però, sono opposti rispetto a quanto osservato nelle considerazioni fatte precedentemente sulla base dei valori degli indici dei due esami.

Test statistici più adeguati e raffinati saranno messi a punto solo disponendo di un campione di soggetti più ampio.

La eterogeneità degli effetti della terapia osservati nei tre soggetti è supportata anche dall'analisi di correlazione che ha evidenziato variazioni diverse tra soggetti, sia per quanto riguarda l'*outcome* motorio che l'attivazione neurale. In particolare, i valori degli indici del terzo soggetto sono quasi-scorrelati ($r < 0.08$), o debolmente correlati negativamente ($r = -0.22$), con quelli osservati per i primi due soggetti, indicando che per esso la terapia non abbia determinato i miglioramenti osservati (in misura diversa, $r < 0.4$) per i primi due.

In conclusione, i metodi di acquisizione ed analisi delle due diverse tipologie di acquisizione sembrano validi. L'analisi di correlazione dei valori degli indici di miglioramento riscontrati per le diverse condizioni sperimentali, ne giustificano l'acquisizione. Infatti, i coefficienti di Pearson calcolati sono prossimi all'unità solo in

pochi casi (ma non per tutti i soggetti), mentre tipicamente esprimono una correlazione debole se non nulla. Pertanto, si dimostra che i diversi *task* acquisiti sono in grado di fornire delle indicazioni differenti riguardo il recupero motorio e neurale. Gli indici di *gait analysis* proposti, rendono possibile una caratterizzazione più completa delle modalità con le quali si realizza il processo di recupero dell'*outcome*. Inoltre, il metodo proposto ha permesso di considerare i dati di fMRI acquisiti che, con le tecniche di analisi tradizionali, non si sarebbero potuti utilizzare in quanto non soddisfacenti i vincoli imposti dalle ipotesi statistiche su cui si basano. Tuttavia, i risultati ottenuti sono comunque influenzati dalle problematiche riscontrate durante l'acquisizione. Per le future acquisizioni di fMRI, bisognerà provvedere ad immobilizzare ulteriormente il paziente, in modo da minimizzare i movimenti non voluti. In tal modo, però, molto probabilmente non si eliminerebbe il tentativo del paziente di compiere quei gesti compensatori, che determinerebbero attivazioni neurali non volute. Pertanto, la soluzione ottimale, ma di più difficile attuazione, sarebbe quella di trovare una strategia che consenta di tenere in considerazione e di spiegare anche tali comportamenti patologici. Inoltre, avendo osservato che durante i primi movimenti passivi del piede il soggetto tende a partecipare attivamente e/o ad apporre resistenza, le ripetizioni acquisite andrebbero fatte precedere da alcune di training, per evitare che tali sforzi indesiderati degradino i dati con attivazioni neurali non ricercate nell'esperimento. Infine, si è osservato che per i pazienti post-ictus può essere difficile rispettare l'ampiezza e la temporizzazione prevista per i *task*. Tipicamente, durante il movimento attivo il soggetto mantiene una frequenza inferiore a quella imposta durante quello passivo; tale frequenza, poi, non è costante per i 30 secondi di durata del blocco e tra i 6 diversi blocchi: con il passare del tempo l'affaticamento (muscolare e nervoso) si traduce in una diminuzione della frequenza del movimento. Il movimento attivo si mostra poi essere meno omogeneo rispetto a quello passivo, in quanto caratterizzato da accelerazioni e decelerazioni non costanti nel range del movimento. Tale problematica è fonte di rumore, anche se meno importante delle precedenti esposte; si potrebbe prevedere di modificare il protocollo sperimentale richiedendo una temporizzazione del movimento più alla portata dei soggetti patologici.

L'interpretazione dei risultati degli indici di fMRI proposti in questa Tesi è incompleta e da verificare; ciò sarà possibile solo proseguendo lo studio includendo un'ampia popolazione di soggetti sani da cui ottenere dei valori di normalità dei vari indici proposti. In modo particolare, si dovrà prevedere l'acquisizione fMRI relativa al movimento di entrambi gli arti, per consentire l'individuazione delle normali variazioni tra il segnale misurato nei due emisferi durante il movimento dei due arti. Inoltre, il metodo proposto di indagine delle immagini fMRI potrebbe essere esteso analizzando tutte le ROI, non solo le quattro selezionate in questa Tesi. Il movimento, infatti, coinvolge anche altre aree cerebrali; inoltre, la riorganizzazione plastica neurale post-ictus non è omogenea tra pazienti e può coinvolgere anche regioni lontane da quella lesionata, che intervengono per ripristinare la funzionalità persa.

Solo disponendo di valori di normalità relativi all'indagine fMRI, e correlandoli con quelli già disponibili di *gait analysis*, si potranno interpretare con più precisione i valori calcolati di correlazione tra i miglioramenti dell'*outcome* motorio e quelli del pattern di attivazione neurale, per i tre soggetti patologici studiati. È questa la condizione essenziale, associata all'acquisizione di un numero decisamente superiore di soggetti patologici, per poter stabilire con più certezza se la terapia riabilitativa basata

sull'applicazione di *biofeedback* uditivo elettromiografico influisca maggiormente il recupero a livello centrale o periferico.

Infine, sarà necessario disporre di entrambe le acquisizioni relative a T2 e T3, per poter valutare se l'eventuale *motor learning* indotto dalla terapia con EMG BFB sul breve periodo (T2), sia in grado di mantenersi nel tempo (T3).

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. Mackay and G. Mensah, *The Atlas of Heart Disease and Stroke*. World Health Organization, 2004.
- [2] Research Group of the Project 'Italian National Register of Coronary and Cerebrovascular Events', "The Italian register of cardiovascular diseases: Attack rates and case fatality for cerebrovascular events.," *Cerebrovascular Diseases*, vol. 24, no. 24, pp. 530-539, 2007.
- [3] SPREAD: Stroke Prevention and Educational Awareness Diffusion, "Ictus cerebrale: linee guida italiane di prevenzione e trattamento." - VI Edizione, Pierrel Research Italy, 2010.
- [4] American Heart Association, "Heart Disease and Stroke Statistics. - 2011 Update", Circulation, 2011.
- [5] Sistema Epidemiologico Regionale del Veneto, "Progetto ictus: Il sistema di sorveglianza regionale dell'ictus basato sui dati amministrativi.", Bollettino Informazione Epidemiologia Salute, vol. 1, no. 1, pp. 2-4, 2004.
- [6] Sistema Epidemiologico Regionale del Veneto, "Le malattie cerebrovascolari nel veneto: ospedalizzazione e mortalità.", Bollettino Informazione Epidemiologia Salute, vol. 1, no. 1, pp. 4-6, 2011.
- [7] Sistema Epidemiologico Regionale del Veneto, "L'ospedalizzazione nel veneto dal 2000 al 2009.", Bollettino Informazione Epidemiologia Salute, vol. 1, no. 3, pp. 1-164, 2011.
- [8] V. Toso, "L'assistenza all'ictus: esperienze regionali e nazionali delle stroke unit.", in 'Convegno Nazionale: L'ictus nel Veneto: dall'epidemiologia alla programmazione sanitaria.', Vicenza, Italia, 2004.
- [9] AA.VV., "Stroke in an elderly population: Incidence and impact on survival and daily function - the Italian longitudinal study on aging.", *Cerebrovascular Diseases*, vol. 16, no. 16, pp. 141-150, 2003.
- [10] S. Molinelli, "Stroke: Epidemiologia patofisiologia classificazione.", 2007.
- [11] A. Lustrino, "La riorganizzazione plastica nel recupero del paziente emiplegico.", *FisiOnline*, vol. 6, no. 6, pp. 1-2, 2002.
- [12] Ministero della Sanità, "Linee guida per le attività di riabilitazione.", *Gazzetta Ufficiale*, vol. 124, pp. 1-10, 1998.
- [13] Royal College of Physicians, "Guidelines of Stroke.", National Health Service, 2002.
- [14] E. Taub and S. Wolf, "Constraint induced movement techniques to facilitate upper extremity use in stroke patients.", *Stroke Rehabilitation*, vol. 4, pp. 38-61, 1997.
- [15] M. M. Merzenich, J. H. Kaas, J. T. Wall, M. Sur, R. J. Nelson, and D. J. Felleman, "Progression of change following median nerve section in the cortical representation of the hand in areas 3b and 1 in adult owl and squirrel monkeys." *Neuroscience*, vol. 10, no. 3, pp. 639-65, 1983.
- [16] M. M. Merzenich, R. J. Nelson, M. P. Stryker, M. S. Cynader, and J. M. Z. A Schoppmann, "Somatosensory cortical map changes following digit amputation in adult monkeys.", *Journal of Comparative Neurology*, vol. 224, pp. 591-605, 1984.

- [17] R. J. Nudo, B. M. Wise, F. Sifuentes, and G. W. Milliken, "Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct.", *Science*, vol. 272, pp. 1791–1794, 1996.
- [18] J. Liepert, H. Blauder, W. Miltner, E. Taub, and C. Weiller, "Treatment-induced cortical reorganization after stroke in humans.", *Stroke*, vol. 31, pp. 1210–1216, 2000.
- [19] R. G. Lee and P. vanDonkelaar, "Mechanisms underlying functional recovery following stroke.", *Can J Neurol Sci*, vol. 22, no. 4, pp. 257–63, 1995.
- [20] R. J. Seitz, Y. Huang, U. Knorr, L. Tellmann, H. Herzog, and H. J. Freund, "Large-scale plasticity of the human motor cortex.", *Neuroreport*, vol. 6, pp. 742–744, 1995.
- [21] A. Feydy, R. Carlier, A. Roby-Brami, B. Bussel, F. Cazalis, L. Pierot, Y. Burnod, and M. A. Maier, "Longitudinal study of motor recovery after stroke: recruitment and focusing of brain activation.", *Stroke*, vol. 33, pp. 1610–1617, 2002.
- [22] A. Roby-Brami, A. Feydy, M. Combeaud, E. V. Biryukova, B. Bussel, and M. F. Levin, "Motor compensation and recovery for reaching in stroke patients.", *Acta Neurologica Scandinavica*, vol. 107, pp. 369–381, 2003.
- [23] K. M. Friel and R. J. Nudo, "Recovery of motor function after focal cortical injury in primates: compensatory movement patterns used during rehabilitative training.", *Somatosens Mot Res*, vol. 15, no. 3, pp. 173–89, 1998.
- [24] G. Chen, C. Patten, D. H. Kothari, and F. E. Zajac, "Gait deviations associated with post-stroke hemiparesis: improvement during treadmill walking using weight support, speed, support stiffness, and handrail hold.", *Gait Posture*, vol. 22, no. 1, pp. 57–62, 2005.
- [25] J. Jonsdottir, M. Recalcati, M. Rabuffetti, A. Casiraghi, S. Boccardi, and M. Ferrarin, "Functional resources to increase gait speed in people with stroke: strategies adopted compared to healthy controls.", *Gait Posture*, vol. 29, pp. 355–359, 2009.
- [26] R. Dickstein, "Rehabilitation of gait speed after stroke: a critical review of intervention approaches.", *Neurorehabil Neural Repair*, vol. 22, no. 6, pp. 649–60, 2008.
- [27] S. Hesse, C. Werner, H. Schmidt, and A. Bardeleben, "Automated motor rehabilitation after stroke.", *Nervenheilkunde*, vol. 25, pp. 137–141, 2006.
- [28] A. Mayr, M. Kofler, E. Quirbach, H. Matzak, K. Frohlich, and L. Saltuari, "Prospective, blinded, randomized crossover study of gait rehabilitation in stroke patients using the lokomat gait orthosis.", *Neurorehabil Neural Repair*, vol. 2007, pp. 307–314, 2007.
- [29] J. V. Basmajian, C. G. Kukulka, M. G. Narayan, and K. Takebe, "Biofeedback treatment of foot-drop after stroke compared with standard rehabilitation technique: effects on voluntary control and strength.", *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 56, pp. 231–236, 1975.
- [30] G. R. Colborne, S. J. Olney, and M. P. Griffin, "Feedback of ankle joint angle and soleus electromyography in the rehabilitation of hemiplegic gait.", *Archives of physical medicine and rehabilitation*, vol. 74, pp. 1100–1106, 1993.
- [31] N. Basaglia, "Il Biofeedback in clinica della riabilitazione.", Liviana Ed. Idelson, 1992.

- [32] R. Stanton, L. Ada, C. M. Dean, and E. Preston, "Biofeedback improves activities of the lower limb after stroke: a systematic review.", *J Physiother*, vol. 57, no. 3, pp. 145–55, 2011.
- [33] D. Winter, "The biomechanics and motor control of human gait: normal, elderly and pathological.- 2nd Edition", Waterloo, Ed. University of Waterloo Press, 1991.
- [34] E. Knutsson, "Can gait analysis improve gait training in stroke patients.", *Scand J Rehabil Med Suppl*, vol. 30, pp. 73–80, 1994.
- [35] J. Jonsdottir, D. Cattaneo, A. Regola, A. Crippa, M. Recalcati, M. Rabuffetti, M. Ferrarin, and A. Casiraghi, "Concepts of motor learning applied to a rehabilitation protocol using biofeedback to improve gait in a chronic stroke patient: an A-B system study with multiple gait analysis.", *Neurorehabil Neural Repair*, vol. 21, pp. 190–194, 2007.
- [36] A. Cappello, A. Cappozzo, and P. di Prampero, "Bioingegneria della postura e del movimento", Gruppo Nazionale di Bioingegneria, Ed. Patron, 2003.
- [37] E. S. Grood and W. J. Suntay, "A joint coordinate system for the clinical description of three-dimensional motions: application to the knee.", *Journal of biomechanical engineering*, vol. 105, pp. 136–144, 1983.
- [38] A. Ferrari, M. Benedetti, E. Pavan, C. Frigo, D. Bettinelli, M. Rabuffetti, P. Crenna, and A. Leardini, "Quantitative comparison of five current protocols in gait analysis.", *Gait Posture*, vol. 28, pp. 207–16, 2008.
- [39] I. Davis, S. Ounpuu, D. Tyburski, and J. R. Gage, "A gait analysis data collection and reduction technique", *Human Movement Science*, vol. 10, pp. 575–587, 1991.
- [40] A. Cappozzo, F. Catani, U. Della Croce, and A. Leardini, "Position and orientation in space of bones during movement: anatomical frame definition and determination.", *Clin Biomech (Bristol, Avon)*, vol. 10, no. 4, pp. 171–178, 1995.
- [41] M. Benedetti, F. Catani, A. Leardini, E. Pignotti, and S. Giannini, "Data management in gait analysis for clinical applications.", *Clinical Biomechanics*, vol. 13, pp. 204–215, 1998.
- [42] A. Leardini, Z. Sawacha, G. Paolini, S. Ingrosso, R. Nativio, and M. G. Benedetti, "A new anatomically based protocol for gait analysis in children." *Gait Posture*, vol. 26, no. 4, pp. 560–71, 2007.
- [43] C. Frigo, M. Rabuffetti, D. C. Kerrigan, L. C. Deming, and A. Pedotti, "Functionally oriented and clinically feasible quantitative gait analysis method.", *Med Biol Eng Comput*, vol. 36, no. 2, pp. 179–85, 1998.
- [44] C. Frigo, "The Saflo Approach to Clinical Gait analysis.", *Fondazione pro Juventute Don Gnocchi*, 1992.
- [45] M. Rabuffetti and P. Crenna, "A modular protocol for the analysis of movement in children.", *Gait Posture*, vol. 20, pp. S77–8, 2004.
- [46] J. Perry, "Gait analysis & Normal and pathological Function.", *Slack Incorporated*, 1992.
- [47] S. Huettel, A. Song, and G. McCarthy, "Functional Magnetic Resonance Imaging - 2nd Edition.", *Sinauer Associates*, 2004.
- [48] P. Jezzard, P. Matthews, and S. Smith, "Functional MRI: an introduction to methods.", *Oxford University Press*, 2001.
- [49] N. Lazar, "The statistical analysis of functional MRI data.", *Springer*, 2008.
- [50] R. Buxton, "Introduction to Functional Magnetic Resonance Imaging: principles & techniques.", *Cambridge University Press*, 2002.

- [51] K. Friston, A. Holmes, K. Worsley, J. Poline, C. Frith, and R. Frackowiak, "*Statistical parametric maps in functional imaging: A general linear approach.*", Human Brain Mapping, vol. 2, pp. 189–210, 1995.
- [52] K. Worsley, S. Marrett, P. Neelin, A. Vandal, K. Friston, and A. Evans, "*A unified statistical approach for determining significant signals in images of cerebral activation.*", Human Brain Mapping, vol. 4, pp. 58–73, 1996.
- [53] www.sattem.it/
- [54] www.btsbioengineering.com
- [55] www.kistler.com/
- [56] www.medical.siemens.com
- [57] www.seniam.org
- [58] J.R. Carey, "*fMRI analysis of ankle movement tracking training in subjects with stroke.*", Exp Brain Res, vol. 154, pp. 281–290, 2004.
- [59] B.H. Dobkin, "*Ankle dorsiflexion as an fMRI paradigm to assay motor control for walking during rehabilitation.*" NeuroImage, vol. 23, pp. 370–381, 2004.
- [60] E. Kapreli, "*Lateralization of brain activity during lower limb joints movement. an fMRI study.*", NeuroImage, vol. 32, pp. 1709–1721, 2006.
- [61] B.J. Macintosh, "*Optimizing the experimental design for ankle dorsiflexion fMRI.*", NeuroImage, vol. 22, pp. 1619–1627, 2004.
- [62] C. Sahyoun, "*Towards an understanding of gait control: brain activation during the anticipation, preparation and execution of foot movements.*", NeuroImage, vol. 21, pp. 568–575, 2004.
- [63] AA.VV., "*SPM8 Manual.*", The FIL Methods Group, 2009.