



**UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA**



**DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE**

**CORSO DI LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA**

**ELABORAZIONE DI SEGNALI ELETTROMIOGRAFICI FACCIALI IN  
PAZIENTI CON ATROFIA MUSCOLARE SPINALE**

**Relatore: Prof.ssa Maria Pia Saccomani**

**Laureanda: Anna Caroncini**

**Matricola 1217341**

**Correlatori: Ing. Federica Cibirin**

**Ing. Elena Pegolo**

**ANNO ACCADEMICO 2021/2022**

**Data di laurea: 22 settembre 2022**

## Indice

|  |    |
|--|----|
| 1. Introduzione .....  | 2  |
| 2. Atrofia muscolare spinale.....  | 4  |
| 2.1 Definizione.....   | 4  |
| 2.2 Stadiazioni della malattia.....  | 5  |
| 2.3 Cure disponibili.....  | 7  |
| 3. Elettromiografia .....  | 9  |
| 3.1 Definizione.....   | 9  |
| 3.2 Generazione del segnale .....  | 11 |
| 3.3 Strumentazione e tipologie di EMG .....  | 11 |
| 3.4 Disturbi subiti dal segnale.....   | 13 |
| 3.5 Interpretazione del segnale .....  | 15 |
| 4. Progetto .....  | 20 |
| 4.1 BBSof.....   | 20 |
| 4.2 Presentazione .....  | 21 |
| 4.3 Acquisizione dei segnali .....   | 22 |
| 4.4 Descrizione del codice .....   | 23 |
| 4.5 Modifiche del codice .....   | 25 |
| 4.6 Metodo di calcolo per il parametro RMS .....                                       | 26 |
| 4.7 Elaborazione dei segnali acquisiti a 25 kHz .....                                  | 27 |
| 4.8 Analisi sui risultati .....  | 29 |
| 5. Risultati e discussioni.....  | 31 |
| 5.1 Risultati e confronti del ricampionamento dei segnali a 25 kHz.....                | 31 |
| 5.2 Risultati ottenuti e discussioni sui valori RMS.....                               | 34 |
| 5.3 Analisi statistica dei valori degli RMS .....                                      | 36 |
| 6. Conclusioni.....  | 39 |
| 6.1 Conclusioni sul filtraggio dei segnali con frequenza di campionamento di 25 kHz .. | 39 |
| 6.2 Conclusioni rispetto all'analisi degli RMS.....                                    | 40 |
| 6.3 Prospettive future del progetto.....   | 40 |
| 7. Bibliografia e sitografia.....  | 42 |
| 8. Ringraziamenti .....  | 44 |

## 1. Introduzione

L'elaborazione dei segnali biomedici è un insieme di tecniche e procedure utilizzate per eliminare o ridurre i disturbi intrinseci del segnale e per estrarre delle caratteristiche utili. Da queste ultime si possono ricavare parametri, quantificare il comportamento del sistema, classificare il segnale o riconoscere determinati eventi.

Viene utilizzata in campo medico per scopi diagnostici o in campo bio-ingegneristico per pilotare dei dispositivi medicali.

Il seguente elaborato è stato svolto presso la *Spin-off* "BBSof" (*Beyond Biomechanics Sport on Field*) dell'Università di Padova ed approfondisce un progetto che tale *Spin-Off* sviluppa da due anni in collaborazione con il centro clinico "NeMo" (*NeuroMuscolar Omniculture*) di Milano, specializzato nel campo delle malattie neuromuscolari. I soggetti studiati in questo progetto sono circa 120 pazienti affetti da atrofia muscolare spinale, che vengono sottoposti a valutazioni cliniche e strumentali quali l'analisi *face tracking* ed elettromiografie facciali.

Scopo di questi esami è quello di mettere a disposizione dei clinici degli strumenti di analisi che possano fornire informazioni affidabili sull'andamento della malattia, sulla risposta dei pazienti ai trattamenti ed in generale sullo stato di salute degli stessi.

In particolare questa tesi si concentra sull'analisi dei segnali elettromiografici superficiali facciali di 26 pazienti, di età compresa tra i 4 e i 71 anni, di cui 23 sono sottoposti a terapia genica e 3 sono trattati con placebo e terapie fisioterapiche. I segnali acquisiti dalla clinica sono stati elaborati con un algoritmo implementato attraverso il software MatLab (*Matrix Laboratory*), per ricavare il parametro *Root Mean Square* (RMS) massimale delle contrazioni muscolari registrate.

Una volta completata l'analisi complessiva sui dati ricavati, lo scopo di questa tesi è la valutazione del parametro RMS massimale come criterio di confronto tra gruppi di soggetti patologici e di controllo.

Per completare il codice è stato necessario svolgere una preventiva e approfondita ricerca bibliografica mirata a trovare l'approccio migliore per effettuare il calcolo del parametro e a trattare una parte dei segnali. I risultati di questa analisi sono riportati nel presente elaborato.

Una volta terminata la ricerca bibliografica, sono stati predisposti dei confronti di varia natura per verificare la correttezza delle modifiche effettuate.

La tesi in oggetto si compone di un primo capitolo dove viene presentata la malattia, le sue manifestazioni e le cure attualmente disponibili. Segue un secondo capitolo dedicato alla definizione dell'esame elettromiografico, specificando l'origine del segnale acquisito, la strumentazione impiegata, le tipologie esistenti, i concetti base dell'elaborazione, i disturbi di cui l'esame risente e le interpretazioni delle caratteristiche ricavabili. Nel capitolo successivo viene descritto il codice utilizzato, i problemi riscontrati e le soluzioni adottate.

Infine, si dedicano due capitoli ai risultati ottenuti ed alla discussione degli stessi, nonché alle conclusioni e alle prospettive future del progetto.

## 2. Atrofia muscolare spinale

### 2.1 Definizione

L'atrofia muscolare spinale (SMA, in inglese *Spinal Muscular Atrophy*) è una malattia neuromuscolare degenerativa dei motoneuroni, che sono i neuroni localizzati nel midollo spinale e deputati al controllo dei muscoli e del movimento.

La SMA è una malattia genetica autosomica recessiva legata alla mutazione o all'assenza del gene SMN1 (codificante per la *Survival Motor Neuron Protein*) localizzato sul braccio lungo del cromosoma 5 nella regione 5q13.2 (figura 2.1.1), oppure alla mutazione del gene SMN2, simile al primo. Il gene SMN2 è in grado di sintetizzare la stessa proteina, ma in una forma più corta e non completamente funzionante. Un maggior numero di geni SMN2 può rendere meno grave la manifestazione della malattia, ma la correlazione non è assoluta.

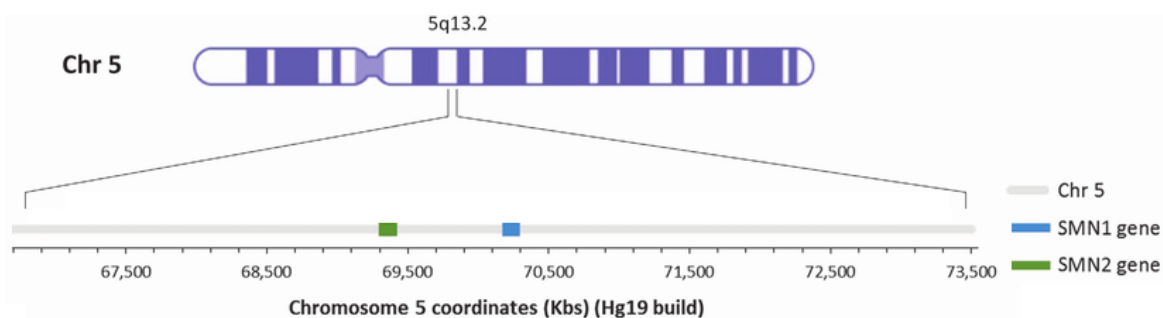


Figura 2.1.1 Collocazione delle zone codificanti per SMN1 e SMN2 sul cromosoma 5

Esistono inoltre delle forme di SMA dette “non 5q”, nel caso in cui il difetto genetico non sia localizzato nella regione 5q del cromosoma 5, tuttavia sono forme estremamente rare e ancora poco conosciute.

La SMA presenta un'incidenza di un caso ogni 10.000, rappresenta la seconda malattia autosomica recessiva fetale più comune (dopo la fibrosi cistica) e costituisce ad oggi la più frequente causa genetica di morte infantile. In Italia si stima che ogni anno nascano circa 40 bambini affetti dalla SMA nelle varie forme, mentre a livello europeo il numero si assesta a circa 550-600 nati all'anno.

Viene diagnosticata in base agli evidenti segni clinici correlati (dall'ipostenia alla paralisi del muscolo, passando per gli stadi intermedi), alle analisi genetiche, ai risultati elettromiografici ed eventualmente grazie anche alle biopsie muscolari.

Per quanto riguarda la trasmissione della patologia, un'analisi dei pazienti ha dimostrato che i genitori dei soggetti affetti da SMA sono quasi sempre portatori sani, ed in quanto tali il loro rischio di avere figli affetti dalla malattia è del 25% (figura 2.1.2). È per questo motivo che, nella quasi totalità dei casi, i genitori dei malati sono entrambi detentori del gene alterato.

La malattia è trasmessa come carattere recessivo: il soggetto malato ha entrambi i geni alterati, mentre i portatori sani hanno solo un gene mutato. Sulla base della frequenza degli individui affetti, si stima che almeno una persona su 35 sia portatrice sana del gene mutato.

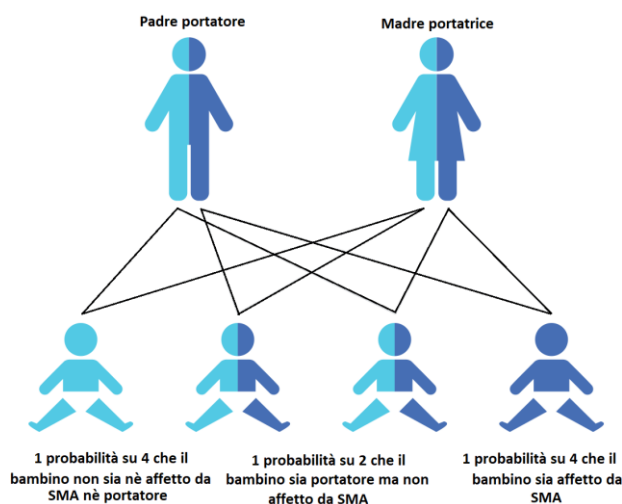


Figura 2.1.2 Trasmissibilità della SMA

Va specificato inoltre che, per quanto riguarda il 98% dei casi totali, l'anomalia genetica responsabile della SMA è ereditaria, con le trasmissibilità appena presentate. Tuttavia le analisi genetiche sui pazienti ed i loro genitori hanno mostrato che il 2% dei malati ha sviluppato una mutazione *de novo* non ereditaria, per cui totalmente imprevedibile.

## 2.2 Stadiazioni della malattia

Il "Conorzio sulle Atrofie Muscolari Spinali" del 1992 ha suddiviso le SMA in tre forme sulla base della severità, dell'età di esordio e dell'età di morte:

- *SMA I* o *malattia di Werdnig-Hoffmann*: la malattia si presenta a livello fetale o nei primissimi mesi di vita. I sintomi sono evidenti già alla nascita e si manifestano come evidenti paralisi dei muscoli intercostali e del tronco. I pazienti non possiedono capacità deambulatoria e nell'arco di pochi mesi vanno incontro a insufficienza

respiratoria. È la forma più grave ed interessa circa il 60% dei pazienti totali, la cui aspettativa di vita non arriva al termine del primo anno.

- *SMA 2*: l'esordio è dopo i sei mesi di vita ed è caratterizzato dall'atrofia degli arti inferiori. Il paziente è in grado di stare seduto, ma non riesce a camminare e rischia lo sviluppo di patologie come cifosi e scoliosi. In questo caso l'aspettativa di vita è fino e oltre all'età adulta, ma in alcuni pazienti diventa necessario il supporto della ventilazione meccanica.
- *SMA 3* o *malattia di Kugelberg-Welander*: l'esordio si ha oltre i 18 mesi di vita e si presenta attraverso debolezza muscolare e talvolta difficoltà nella deambulazione. È la forma meno grave, i pazienti infatti raggiungono l'età adulta e non in tutti i casi perdono la mobilità degli arti inferiori o presentano difficoltà respiratorie.

Classificazioni meno comuni individuano due ulteriori forme della patologia:

- *SMA 0* o *congenita*: caratterizzata da ridotti movimenti fetali e *distress* respiratorio presente fin dalla nascita, associati a debolezza generalizzata e diplegia facciale. L'aspettativa di vita è di poche settimane, durante le quali viene fornito supporto respiratorio esterno.
- *SMA 4*: è la forma ad esordio adulto, caratterizzata da debolezza muscolare agli arti inferiori ed ai muscoli pelvici. Il quadro clinico è simile a quello della SMA 3, ma con una debolezza a livello motorio meno grave, che consente ai pazienti di avere un'aspettativa di vita normale.

Inoltre, nel 2007 è stata proposta una classificazione basata esclusivamente sul livello funzionale motorio corrente del paziente. Si riconoscono quindi le forme:

- *Nonsitters*: sono i malati che non raggiungono mai la capacità di stare seduti in modo autonomo; tale gruppo comprende la SMA tipo 0 e tipo 1;
- *Sitters*: coloro che sono in grado di stare seduti in modo autonomo ma che non raggiungono mai la possibilità di camminare e corrispondono ai bambini con SMA tipo 2;
- *Walkers*: soggetti patologici capaci di camminare in modo autonomo e corrispondono ai pazienti con SMA 3.

Rimane comunque prevalente la classificazione in SMA1, SMA2 e SMA3, sia negli studi clinici che negli ambiti sanitari. Questo perché le forme 1, 2 e 3 sono le più comuni (i tipi 0 e 4 sono le forme meno diffuse ed anche le meno prese in considerazione negli studi) ed è la classificazione più esaustiva.

### *2.3 Cure disponibili*

Attualmente non esiste una cura definitiva per la patologia, ma negli ultimi anni sono stati sviluppati nuovi trattamenti da affiancare alle basiche terapie fisioterapiche di assistenza.

La prima terapia farmacologica applicabile a tutti i pazienti, indipendentemente da età, peso e tipologia della patologia, è stata messa in commercio nel 2017.

Tale farmaco contiene il principio attivo *nusinersen*, un oligonucleotide antisenso sintetico (un tipo di materiale genetico) che consente al gene SMN2 di produrre la proteina corrispondente a lunghezza completa, in grado di funzionare quindi normalmente. Questo sostituisce la proteina mancante, alleviando in questo modo i sintomi della malattia. La somministrazione avviene per iniezione lombare in quattro dosi, proseguendo poi in cronico a cadenza quadrimestrale.

Il trial clinico CS3B ENDEAR [13], condotto su 122 neonati affetti da SMA (età media 7 mesi) ad un anno dall'inizio del trattamento, ha mostrato che questo farmaco ha portato a progressi della capacità motoria nel 51% dei casi. Inoltre, la maggior parte dei neonati trattati è sopravvissuta più a lungo ed ha richiesto una respirazione assistita più tardiva rispetto a coloro che avevano ricevuto il placebo. Addirittura il trial è stato interrotto dopo l'*interim analysis* per eccesso di beneficio.

Il trial successivo CHERISH [14] ha valutato l'efficacia della terapia in bambini con SMA meno grave e diagnosticata in una fase successiva (età media 3 anni). Dopo 15 mesi di trattamento, il 57% dei bambini ai quali era stato somministrato il farmaco ha mostrato un miglioramento del movimento, rispetto al 26% dei bambini che avevano ricevuto il placebo.

Infine in questi ultimi anni sono in corso nuove sperimentazioni e terapie geniche, il cui scopo è quello di trattare i casi con sintomatologia grave e di garantire aspettative e qualità di vita migliori, agendo direttamente sulla mutazione del gene SMN1.

Particolarmente interessante sembra essere il principio attivo *onasemnogene abeparvovec*, indicato per il trattamento di pazienti con SMA 5q con una mutazione biallelica nel gene



SMN1 e fino a 3 copie del gene SMN2. I trial clinici di fase tre relativi a questo farmaco hanno verificato dei miglioramenti delle capacità motorie, l'acquisizione della capacità di raggiungere la posizione seduta e l'aumento del tasso di sopravvivenza.

Essendo comunque un farmaco di nuova generazione, di cui vanno ancora verificati gli effetti a lungo termine, si sta procedendo con gli studi e le sperimentazioni su tutti i trattamenti disponibili.

### 3. Elettromiografia

#### 3.1 Definizione

L'elettromiografia (EMG, in inglese *electromiography*) è un esame diagnostico neurofisiologico che permette di analizzare la funzionalità dei nervi periferici e dei muscoli scheletrici.

È un esame fondamentale nello studio e nella diagnosi di malattie muscolari (es. distrofie), malattie dei nervi periferici (es. sindrome del tunnel carpale) e malattie dei motoneuroni (es. atrofia muscolare spinale, sclerosi laterale amiotrofica, etc.).

Come strumento di confronto viene utilizzato anche in altri campi: ad esempio nella riabilitazione e nella fisioterapia (nel post-operatorio o nel post-infortunio), nella ricerca medica (soprattutto in ortopedia e chirurgia) e nello sport (utile nell'analisi del movimento).

Questa tecnica diagnostica mira ad effettuare la misura del potenziale elettrico generato dal muscolo esaminato durante la sua contrazione.

La contrazione di un muscolo scheletrico ha origine da un segnale elettrico il quale, a partire dai motoneuroni del sistema nervoso centrale, si propaga lungo gli assoni del nervo e si dirige verso i bottoni sinaptici.

Nello spazio tra la zona terminale del nervo e la membrana della fibra muscolare viene liberato il neurotrasmettitore acetilcolina, che agisce sui recettori della membrana post-sinaptica e determina una depolarizzazione elettrica lungo l'assone della fibra muscolare.

Quando la fibra muscolare è a riposo, tra l'interno e l'esterno della membrana semipermeabile che la ricopre esiste una differenza di potenziale, il cui valore è circa -70/-90 mV: questa è chiamata "potenziale a riposo".

Il potenziale a riposo è mantenuto stabile dall'attività della pompa sodio-potassio, il cui ruolo consiste nel far sì che le concentrazioni degli ioni nei due lati della membrana rimangano costanti.

Con la propagazione del segnale elettrico viene indotto un passaggio di ioni contro gradiente di concentrazione. In seguito all'evento eccitatorio infatti, entrano nelle cellule delle cariche positive tramite i canali del sodio: se il potenziale raggiunge un potenziale di soglia (circa -55 mV) si innesca una risposta del tipo "tutto" o "nulla" e si genera il cosiddetto "potenziale d'azione". Questo significa che, raggiunto il potenziale di soglia, avviene una depolarizzazione locale della membrana con conseguente veloce variazione della differenza di potenziale da circa -70 mV fino a +30 mV (figura 3.1.1).

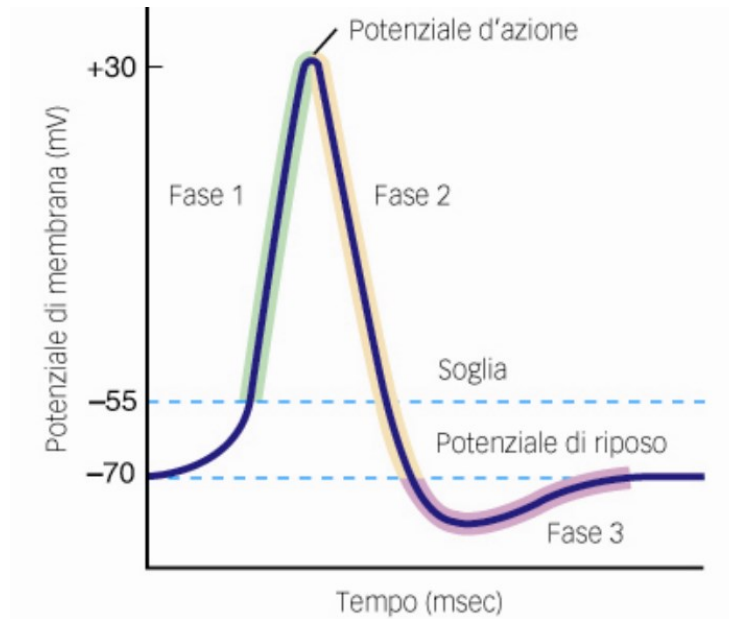


Figura 3.1.1 Andamento del potenziale d'azione

La situazione iniziale viene successivamente ristabilita attraverso una fase di ripolarizzazione, condotta sempre a partire dalla pompa sodio-potassio. In questa fase si inattivano i canali del sodio e si aprono temporaneamente i canali del potassio.

Grazie al periodo refrattario, cioè l'intervallo di tempo in cui la cellula non può essere nuovamente attivata a causa dell'impossibilità di far entrare nuovi ioni sodio, il potenziale d'azione si propaga lungo la fibra muscolare.

La propagazione si basa sulla generazione di nuovi potenziali d'azione nei punti successivi della fibra muscolare: l'insorgenza di un potenziale d'azione in un punto crea una differenza di potenziale tra quel punto e le zone adiacenti a riposo, con conseguente generazione di una corrente locale. Questa corrente dà inizio alla fase di depolarizzazione e di formazione del potenziale d'azione nelle zone inattive adiacenti, diffondendo il processo lungo tutta la fibra muscolare. Con questo meccanismo il potenziale si diffonde sempre uguale a sé stesso, non subisce attenuazioni in ampiezza e porta alla contrazione delle fibre.

Il potenziale d'azione che si genera durante la propagazione dello stimolo elettrico, e in particolare la sua misurazione, è il principio base dell'esame EMG.

### 3.2 Generazione del segnale

Il segnale elettromiografico è una rappresentazione dei potenziali elettrici, generati dalla depolarizzazione e successiva ripolarizzazione della membrana esterna delle fibre muscolari. Esso viene generato dal *Motor Unit Action Potential* (MUAP), cioè dalla tensione risultante dall'attività elettrica del motoneurone e delle fibre che esso innerva.

La forma del MUAP è determinata da diversi elementi: potenziali d'azione generati da ciascuna fibra muscolare, orientamento delle fibre rispetto all'elettrodo, dispersione temporale dei potenziali d'azione, tipologia di elettrodi utilizzati. Le fibre muscolari più lontane dagli elettrodi determinano le basse frequenze delle porzioni iniziali e terminali del MUAP, mentre le fibre più vicine sono responsabili delle alte frequenze e determinano la maggior parte del segnale.

I singoli potenziali possono rispecchiare l'attività di una singola unità motoria (nel caso di elettrodi ad ago), oppure di un gruppo di unità motorie (nel caso di elettrodi a superficie).

La differenza tra gli elettrodi impiegati è legata alla tipologia di EMG utilizzata (ad ago o di superficie, appunto) e verrà precisata nel paragrafo successivo.

### 3.3 Strumentazione e tipologie di EMG

La strumentazione necessaria per effettuare l'EMG è costituita da:

- gli elettrodi, facenti funzione di sensori;
- i filtri, gli amplificatori ed i sistemi di conversione A/D, che appartengono al blocco di manipolazione del segnale;
- l'oscilloscopio, che costituisce il blocco di visualizzazione e fornisce un grafico con l'andamento, nel dominio del tempo, dei segnali elettrici.

L'insieme dei componenti è schematizzabile nel diagramma a blocchi seguente (figura 3.3.1), che meglio ne descrive l'ordine.

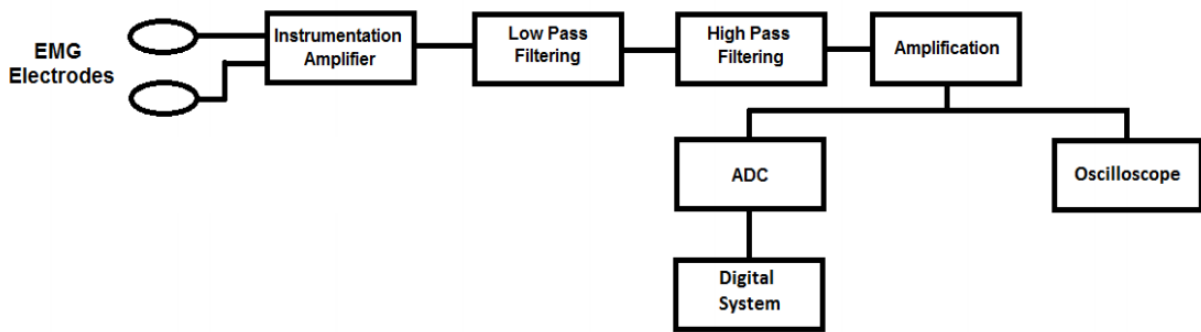


Figura 3.3.1 Schema a blocchi di un elettromiografo

Come precedentemente anticipato, particolare attenzione va posta agli elettrodi impiegati, in quanto a seconda della tipologia adottata si distinguono le EMG ad ago e le EMG di superficie.

L'EMG ad ago impiega appunto elettrodi ad ago, invasivi, che permettono il contatto diretto con il gruppo muscolare d'interesse.

Gli elettrodi ad ago sono costituiti da fili sottili, resistenti e flessibili, tipicamente realizzati in leghe di platino, argento, nichel e cromo. A seconda della posizione del muscolo che si intende analizzare, questi presenteranno una punta più o meno lunga (da 25 a 70 mm) e spessa (diametro medio che varia tra 0,30 e 0,45 mm).

Per *surface electromyography* (sEMG) si intende, invece, la tecnica che impiega elettrodi di superficie, che risultano a diretto contatto con la pelle. Hanno il vantaggio di essere non invasivi, ma allo stesso tempo hanno il limite di essere utilizzabili solo per le rilevazioni di segnali di muscoli superficiali e di captare il segnale di un gruppo non estremamente preciso di fibre muscolari. Gli elettrodi di superficie più comunemente utilizzati sono quelli di tipo Ag-AgCl, in gel o adesivi e sono usa e getta. Presentano tipicamente una forma circolare a singolo bottone o bottoni duali.

In base alla superficie di posizionamento degli elettrodi è possibile osservare tre diverse configurazioni:

- *monopolare*, in cui si utilizza un elettrodo di detezione del segnale ed uno di riferimento. Questo metodo è semplice e rileva tutti i segnali elettrici nelle vicinanze della superficie di rilevamento;
- *bipolare*, in cui sono utilizzati due elettrodi di detezione sulla superficie di interesse, ed un terzo di riferimento posto in un'area non attiva rispetto all'indagine;

- *multipolare*, in cui si ricorre a più elettrodi di detezione equidistanti, oltre a quello di terra. Questa configurazione è utilizzata per ridurre maggiormente sia il *crosstalk* tra i segnali che il rumore.

Da qui in avanti con il termine EMG si farà riferimento alle elettromiografie di superficie.

### 3.4 Disturbi subiti dal segnale

Durante l'esecuzione dell'esame EMG sono numerosi gli elementi che possono influire sull'acquisizione del segnale.

I fattori più comuni da considerare sono:

- la dispersione temporale dei potenziali d'azione, poiché le fibre muscolari non si contraggono esattamente nello stesso istante;
- il posizionamento, l'orientamento rispetto alle fibre muscolari e la qualità degli elettrodi utilizzati;
- il *crosstalk* fisiologico, cioè l'interferenza data dall'attività elettrica dei muscoli vicini a quelli d'interesse;
- la tipologia di tessuto: il corpo umano è un buon conduttore elettrico, ma la conducibilità varia a seconda del tipo di tessuto, dello spessore, delle condizioni fisiologiche e della temperatura. Queste condizioni variano fortemente sia tra soggetto e soggetto, sia nello stesso soggetto, a seconda del posizionamento dell'elettrodo;
- l'impedenza della pelle: infatti la preparazione all'esame prevede trattamenti cutanei specifici, quali rasatura e pulizia con pasta abrasiva;
- il rumore dell'amplificatore e i rumori esterni, quali i segnali ECG o le interferenze di rete;
- i rumori da artefatto: sono dati da movimenti degli elettrodi sulla pelle, che generano piccoli potenziali che si sovrappongono al segnale elettrico del muscolo sottostante, o da fattori meccanici. Generalmente questi potenziali non superano i 30 Hz e possono essere esclusi con un opportuno filtraggio.

In particolare nei segnali EMG facciali, studi inerenti hanno dimostrato che i tre limiti principali sono:

- gli artefatti da movimento, cioè lo spostamento sensibile dell'elettrodo sulla pelle (nel 13,7% dei casi si è riscontrato questo disturbo);
- la variabilità della risposta e dell'anatomia del singolo soggetto (13,1% dei casi);
- il *crosstalk* dei muscoli adiacenti (12,0%).

È necessario quindi un condizionamento del segnale. Nella figura 3.4.1 sono schematizzati il flusso di acquisizione e l'elaborazione del segnale EMG tipici.

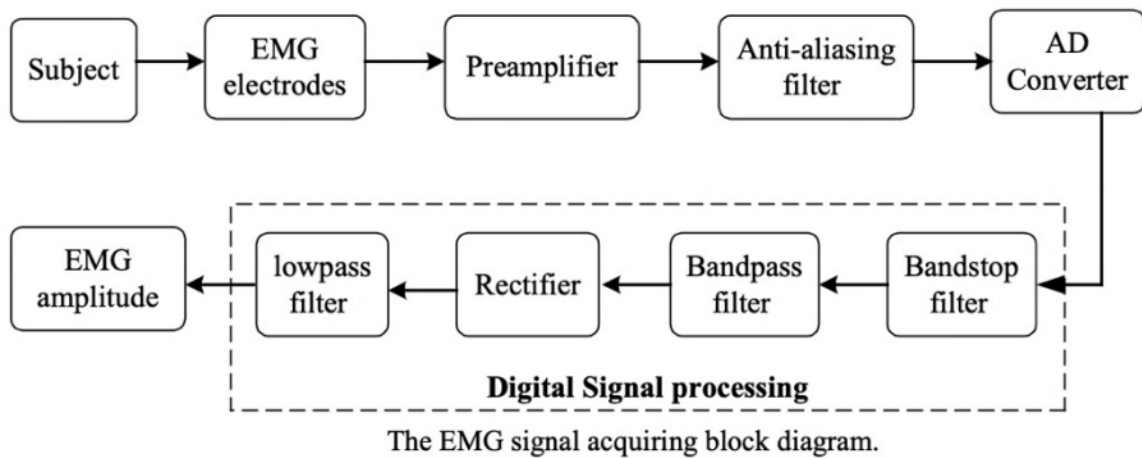


Figura 3.4.1 Schema a blocchi dell'elaborazione del segnale EMG

Nella prima fase, si attacca l'elettrodo (o eventualmente si inserisce, a seconda della tipologia) sulla pelle del soggetto, in corrispondenza del muscolo interessato. Il segnale EMG raccolto viene inviato al preamplificatore, attraverso il cavo schermato. Il preamplificatore regola l'ampiezza del segnale EMG per adattarsi alla gamma di tensione di ingresso del Convertitore Analogico-Digitale (ADC) e regola l'impedenza di ingresso dell'amplificatore.

Prima di incontrare l'ADC, il segnale in ingresso viene elaborato con il filtro anti-aliasing per rimuovere tutte le frequenze al di sopra della frequenza di *Nyquist*. Questa operazione viene effettuata ai fini di prevenire l'effetto *aliasing* durante il campionamento.

L'ADC trasmette il segnale EMG analogico al computer digitale, dove vengono applicati i filtri digitali per l'elaborazione avanzata del segnale. Il primo filtro elimina-banda riduce l'interferenza della linea di alimentazione a 60 Hz. Il secondo filtro passa-banda è progettato per ottenere la banda operativa richiesta (da 10 Hz a 450 Hz). Alla fine, l'EMG passa attraverso il raddrizzatore ad onda intera ed il filtro passa-basso con frequenza di taglio di 3 Hz (o al *cutoff* richiesto) per ottenere il tempo di attivazione dei muscoli.

Il metodo illustrato è uno schema di massima, utile in generale anche a ridurre i rumori da artefatto. A questo possono essere aggiunti dei filtri *notch*, solitamente utilizzati per eliminare la componente del rumore della linea elettrica.

Inoltre possono essere presenti ulteriori rumori intrinseci come ECG, EEG, rumori respiratori o l'EMG proveniente da altri muscoli, generalmente trattabili con ulteriori filtri passa basso.

### 3.5 Interpretazione del segnale

Il segnale elettromiografico ha caratteristiche variabili nel tempo (e nella frequenza) e le variazioni dello stesso riflettono eventi fisiopatologici che consentono la caratterizzazione del muscolo di interesse. A partire dal segnale possiamo ricavare molteplici informazioni ad esso riferite, come la morfologia, il timing, l'*envelope*, l'ampiezza e le frequenze.

Inoltre, a seconda di queste caratteristiche, si può definire l'interpretazione complessiva del segnale, in particolare la correlazione tra EMG e forza muscolare.

La morfologia dà indicazioni riguardo l'attività globale di un muscolo o di un gruppo muscolare. Nella valutazione della morfologia di un segnale elettromiografico bisogna considerare che, in particolare nelle sEMG, il segnale rilevato dagli elettrodi è dato dalla sovrapposizione dei MUAP delle varie unità motorie (figura 3.5.1).

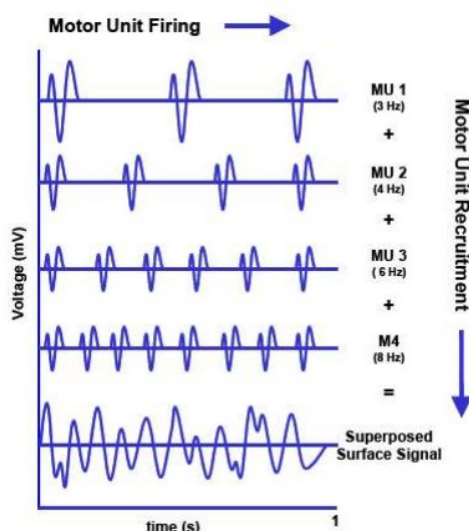


Figura 3.5.1 Sovrapposizione dei potenziali delle singole unità motorie nel segnale EMG

L'insieme dei MUAP sovrapposti costituisce il segnale che verrà visualizzato e che costituirà il tracciato elettromiografico. Questo tracciato è una misura dell'andamento nel tempo dell'attività contrattile del muscolo, in cui si visualizzano gli istanti di attività (contrazione) e di riposo. Il periodo di riposo è immediatamente riconoscibile dalla caratteristica linea piatta del segnale, comunemente chiamato *baseline* (figura 3.5.2).



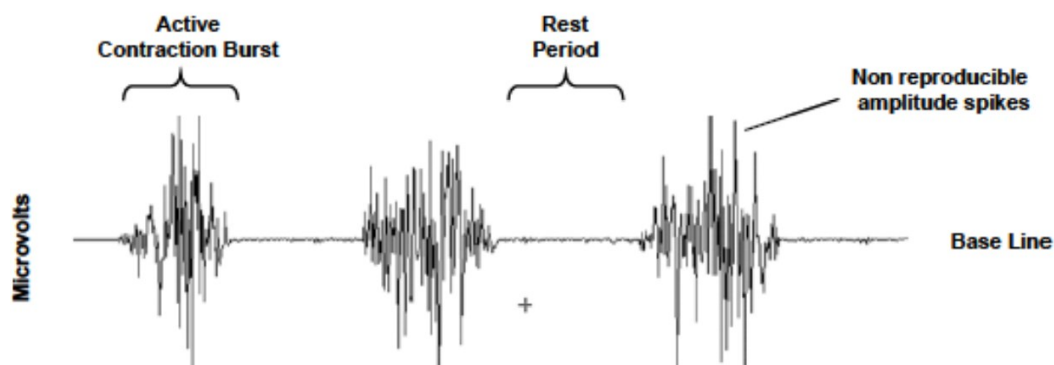


Figura 3.5.2 Tracciato EMG rappresentante tre contrazioni nel dominio del tempo

Con “*timing*” si fa riferimento alle caratteristiche in termini di tempo del segnale ed è possibile ricavare il momento e la durata di attivazione muscolare durante il movimento. Per farlo è necessario identificare una soglia, oltre la quale il muscolo sarà considerato attivo, ed i fronti di salita/discesa, al fine di calcolare il tempo di attivazione (figura 3.5.3).

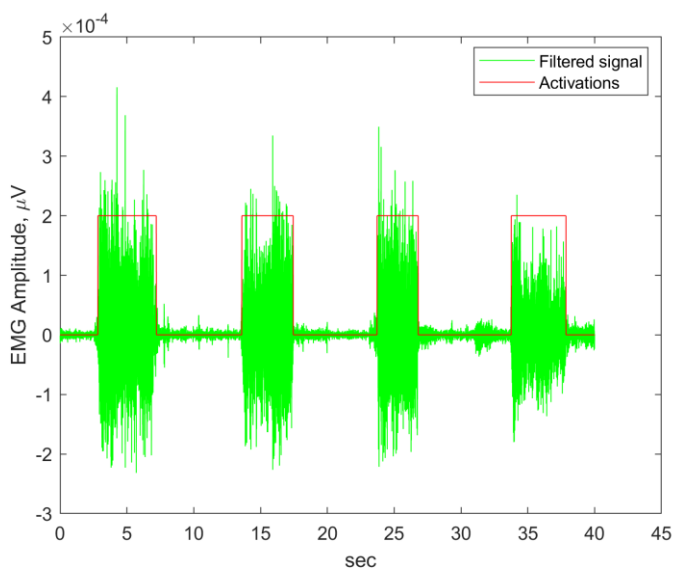


Figura 3.5.3 Identificazione delle salite e delle discese nel segnale EMG per il *timing*

L’*envelope* del segnale permette di visualizzare un profilo di attività connettendo con un'unica linea i picchi delle ampiezze istantanee. Questo è utile per calcolare un profilo medio o per avere dei confronti più proficui. Ad esempio, viene utilizzato per rilevare più agevolmente le zone di attivazione del segnale (figura 3.5.4).

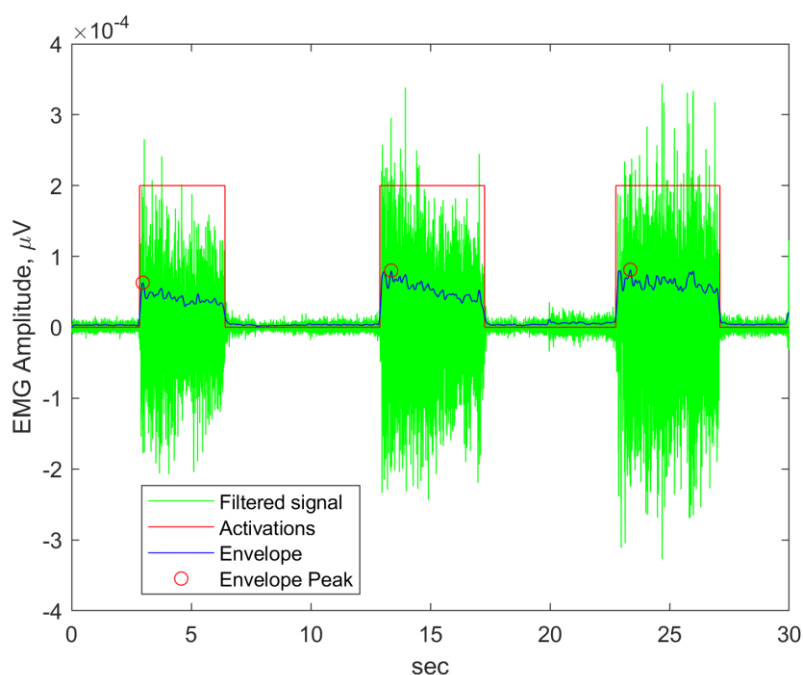


Figura 3.5.4 Esempio di *envelope* su un segnale filtrato

L'ampiezza fornisce informazioni sull'entità dell'attivazione di un muscolo durante il movimento.

Precedenti valutazioni hanno evidenziato correlazioni di carattere generale relative all'ampiezza. Le più importanti sono l'aumento dell'ampiezza del segnale in relazione all'aumento dell'intensità della contrazione (con andamento non lineare), oppure l'attività elettrica del muscolo e di conseguenza il segnale EMG, che varia con il numero delle unità motorie rilevate e con la loro frequenza di attivazione. Inoltre, si sono stabilite delle relazioni dirette sia tra le unità motorie reclutate e l'ampiezza dei picchi, che tra le frequenze di attivazione e le frequenze caratteristiche del segnale rilevato.

Inoltre, l'ampiezza dipende dalle caratteristiche del paziente (cute, unità motorie considerate, velocità della contrazione, ecc.) e dalle caratteristiche dello strumento utilizzato (tipologia e posizionamento degli elettrodi, filtri, rumore di fondo, ecc.).

Viste queste condizioni, per confrontare dati EMG ottenuti da più prove occorre normalizzare rispetto alla massima contrazione volontaria e/o utilizzare dei parametri di riferimento.

Tra questi parametri è di particolare interesse il *Root Mean Square* (RMS), ossia il valore medio efficace, che misura la potenza media del segnale. L'RMS mostra un profilo di attività e si può sfruttare per confrontare soggetti diversi o diversi muscoli dello stesso soggetto, oppure per calcolare, previa normalizzazione, un profilo medio.

Nel caso di segnali ( $x_i$ ) costituiti da  $N$  campioni, l'RMS si valuta mediante l'espressione seguente:

$$RMS = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i^2}$$

Questo parametro si è rivelato essere vantaggioso [11], in quanto non risente delle sovrapposizioni dei MUAP.

Altri parametri di riferimento normalmente utilizzati nelle analisi EMG sono la lunghezza della forma d'onda (*Waveform Length*), il valore assoluto medio (*Mean Absolute Value*), la durata delle attivazioni o il valore medio rettificato (*Average Rectified Value*) nel dominio del tempo.

Un altro tipo di analisi del segnale EMG riguarda l'analisi in frequenza, che restituisce informazioni sul segnale difficilmente visibili nel dominio del tempo. Ad esempio, maggiori sono le frequenze di attivazione (*firing*) del segnale, maggiori saranno le frequenze caratteristiche del segnale registrato.

Lavorando in frequenza è possibile sfruttare gli spettri di potenza (figura 3.5.5), da cui si osservano i fenomeni fisiologici come l'affaticamento muscolare, la frequenza media e la frequenza mediana.

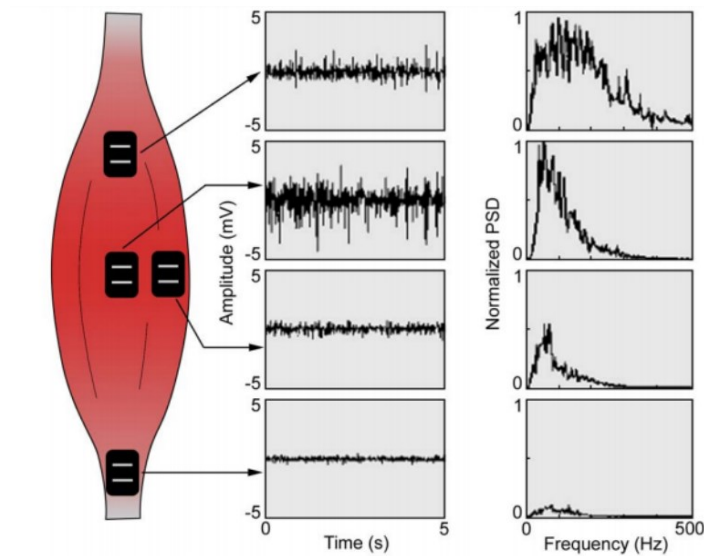


Figura 3.5.5 Esempi di spettri di potenza di segnali EMG

Prima di stabilire una correlazione tra segnale EMG e forza muscolare (intesa come sviluppo di tensione da parte della muscolatura), bisogna considerare alcuni aspetti legati alle condizioni sperimentali in cui la rilevazione viene effettuata. Infatti bisogna valutare che il segnale risente di ulteriori fattori, quali la velocità di esecuzione del movimento, il metabolismo energetico, la disponibilità di ossigeno, ma soprattutto l'effetto della fatica. È stato dimostrato [10], ad esempio, come l'ampiezza dell'EMG aumenti in funzione del tempo durante sforzi sub-massimali sostenuti nel tempo e che una perdita di contrattilità viene compensata con il reclutamento di ulteriori unità motorie.

È lecito concludere, quindi, che l'esame EMG non è propriamente un esame che misura la forza muscolare, ma si può stabilire una relazione tra segnale EMG e la forza del muscolo. Questo perché l'intensità dello sforzo modifica prima l'ampiezza del segnale e poi il numero di fibre muscolari reclutate.

## 4. Progetto

### 4.1 BBSof

La BBSof è una *Spin-off* dell'Università di Padova, nata nel 2017 dalla collaborazione tra realtà universitaria e professionisti della biomeccanica, dello sport di alto livello e della medicina.

L'azienda offre diversi servizi di valutazione biomeccanica per facilitare la programmazione di un allenamento individualizzato e mirato, per ottimizzare la performance sportiva dell'atleta e prevenire gli infortuni agli arti inferiori. In presenza di infortuni agli arti inferiori, soprattutto del ginocchio, il supporto si estende anche agli staff sanitari (ortopedici, fisiatristi, fisioterapisti), con lo scopo di ottimizzare il percorso di riabilitazione, stabilire i tempi di recupero e garantire un ritorno dell'atleta all'attività agonistica in sicurezza.

L'azienda vanta anche l'unico metodo brevettato di analisi biomeccanica dei gesti sport-specifici eseguiti direttamente sul campo di allenamento/gara, che risulta essere applicabile a tutte le discipline sportive. Lo scopo è quello di effettuare la valutazione del rischio di infortunio degli arti inferiori, in particolare del legamento crociato anteriore, con elevata accuratezza ed affidabilità. Questo attraverso l'utilizzo di un sistema video con telecamere commerciali ed un sistema di pressioni plantari, tali da non influenzare il movimento dell'atleta durante la valutazione.

Pur proseguendo la consolidata attività di valutazione biomeccanica nell'ambito sportivo, l'azienda sta ampliando la propria area d'interesse ad applicazioni in settori differenti, come quello medico. Da qui nasce la collaborazione con il centro NeMo di Milano, con il fine di affiancare valutazioni biomeccaniche ai test clinici per pazienti affetti da SMA.

In particolare, l'azienda si occupa dell'elaborazione dei dati di *face tracking* e dei segnali EMG facciali dei soggetti in cura. Grazie ad un software proprietario per l'analisi video e ad algoritmi sviluppati nel tempo, vengono determinati diversi indici biomeccanici utili ai clinici per stimare la riuscita dei trattamenti e l'evoluzione della malattia.

## *4.2 Presentazione*

Rispetto al progetto complessivo di valutazione dei pazienti affetti da SMA, il lavoro esposto in questa tesi ha interessato i segnali EMG facciali e le analisi su questi sono state effettuate attraverso l'implementazione di un codice scritto con il software MatLab (un ambiente per il calcolo numerico e l'analisi dei dati), fornito dal Laboratorio di Bioingegneria del Movimento dell'Università di Padova.

In particolare è stato necessario valutare le metodologie di elaborazione più adatte per il filtraggio di una parte dei segnali. Infatti, sebbene la maggior parte dei dati sia stata acquisita alla frequenza di campionamento comunemente usata di 1000 Hz, parte di questi sono stati acquisiti alla frequenza di 25000 Hz. Per il primo gruppo di segnali era noto come effettuare le operazioni di filtraggio necessarie, mentre per il secondo gruppo è stato necessario svolgere degli approfondimenti a riguardo.

La fase successiva è stata quella di verificare il metodo di calcolo del parametro RMS, tramite una ricerca bibliografica mirata.

La prima versione del codice non permetteva il salvataggio dei dati elaborati, per cui la prima serie di modifiche si è occupata del completamento del codice. In questo modo è stato possibile salvare in un primo file Excel i valori massimi di RMS sulle acquisizioni accettabili, ed in un secondo file i segnali su cui non è stato possibile calcolare il parametro (in quanto non ne erano identificabili le attivazioni).

Fatto ciò, si è proseguito con l'esecuzione effettiva dell'algoritmo su tutti i segnali forniti e con il conseguente salvataggio di tutti i parametri RMS ivi calcolati.

Dai dati ricavati è stata realizzata quindi un'analisi statistica, consistente principalmente nel calcolo della media, della deviazione standard e della significatività. Dall'analisi si è proceduto poi a valutare il confronto tra un gruppo di pazienti con un gruppo di soggetti di controllo.

### 4.3 Acquisizione dei segnali

I dati dei segnali EMG facciali acquisiti dalla clinica e successivamente forniti a BBSof sono provenienti da 26 pazienti e 8 soggetti di controllo.

Per ogni soggetto sono disponibili le seguenti informazioni:

- un codice identificativo del soggetto;
- il momento di acquisizione del segnale rispetto all'inizio del trattamento (nel caso dei pazienti malati): ad esempio, T0 indica che lo screening è stato svolto all'inizio del trattamento, mentre T12 indica che è stato eseguito dopo dodici mesi;
- il muscolo esaminato;
- la frequenza di acquisizione (1000 Hz o 25000 Hz);
- la durata in secondi dei singoli tracciati;
- il file con l'output fornito dallo strumento.

I soggetti patologici di cui sono stati acquisiti i dati hanno un'età media di 21 anni (variabile dai 4 ai 71), con rapporto donne/uomini di 2:3. Il 95% dei pazienti è stato sottoposto al trattamento farmacologico con principio attivo *nusinersen*.

A ciascun paziente sono stati richiesti due tipi di *task*: stringere i denti ed aggrottare la fronte, in quanto sono i movimenti che permettono una miglior attivazione dei muscoli testati.

In particolare i muscoli facciali acquisiti sono (figura 4.3.1):

- frontale: muscolo che solleva il cuoio capelluto in modo che le sopracciglia si alzino e la fronte si pieghi;
- massetere: muscolo che si trova ai due lati del viso ed è deputato allo spostamento della mandibola contro la mascella;
- mentoniero: muscolo che produce il sollevamento ed il corrugamento del mento e la protrusione del labbro inferiore;
- platisma (solo in un paziente): muscolo che contribuisce ad abbassare la mandibola. Essendo un solo dato, viene citato per completezza ma non verrà preso in considerazione nelle analisi successive.

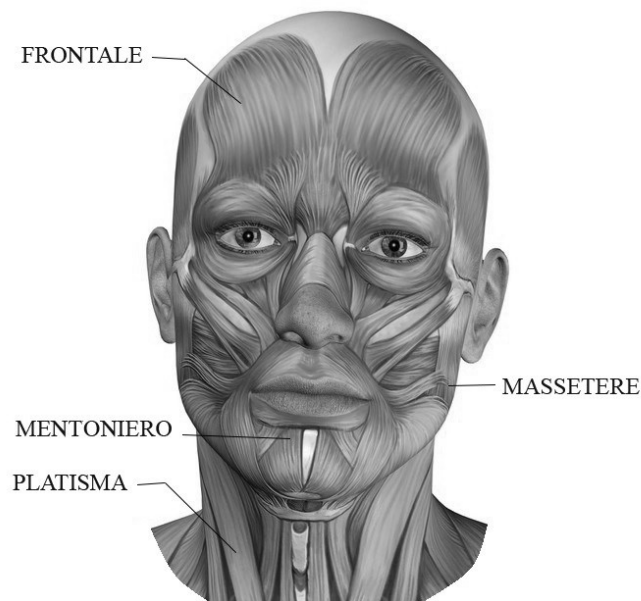


Figura 4.3.1 Collocazione dei muscoli in esame

I singoli segnali hanno una durata di circa dieci secondi, composti da tre secondi di riposo iniziali, tre secondi di contrazione massimale e nuovamente tre secondi di riposo. La durata dell'acquisizione subisce delle leggere variazioni a seconda dell'acquisizione.

Ogni contrazione viene ripetuta mediamente tre volte, cercando di mantenere le medesime condizioni sperimentali.

#### 4.4 Descrizione del codice

Di seguito viene descritto in dettaglio il codice utilizzato e successivamente modificato.

Attraverso un algoritmo implementato tramite il software MatLab, i segnali EMG vengono elaborati e sulla base di essi viene calcolato il valore massimo del parametro RMS ricavato dalle varie contrazioni.

Seguendo l'ordine di scrittura del codice, questo inizialmente si occupa di escludere eventuali file duplicati dall'insieme dei segnali considerati e successivamente di convertire i segnali originali in matrici per l'ambiente di sviluppo MatLab. Lo strumento di acquisizione, infatti, fornisce in output file di tipo ".xml" (*eXtensible Markup Language*), che richiedono la conversione in file di tipo ".mat" per poter essere elaborati. Per fare questo si richiama la funzione "*xml2struct*", che ricerca e converte in file di tipo .mat tutti i file .xml presenti nella cartella selezionata e richiesta in input.



Si prosegue con il *preprocessing* del segnale con un primo *step* di filtraggio. Come già anticipato, possono esserci due possibili frequenze di campionamento: 1000 Hz e 25000 Hz. Per i segnali a 1000 Hz è opportuno, come indicato in letteratura [24], applicare un filtro *Butterworth* di quinto ordine e frequenza di banda tra 10 e 450 Hz. Per i segnali acquisiti a 25000 Hz si è assunto inizialmente lo stesso filtro con una frequenza di banda tra 10 e 10000 Hz, ma non essendo una frequenza comune non è da considerarsi banale trattare questa frequenza di campionamento.

Quindi viene calcolato il valore di RMS per ciascuna contrazione e scelto il valore massimo tra le varie contrazioni del medesimo muscolo. La scelta di considerare il maggiore dei valori calcolati è dovuta all'esigenza di verificare la massima capacità di contrazione del muscolo in test ripetuti.

Un esempio di output può essere visto in figura 4.4.1 in cui vengono riportati il segnale originale (blu), il segnale filtrato (nero), la suddivisione nelle diverse contrazioni ed i valori di RMS con il relativo valore massimo evidenziato in rosso.

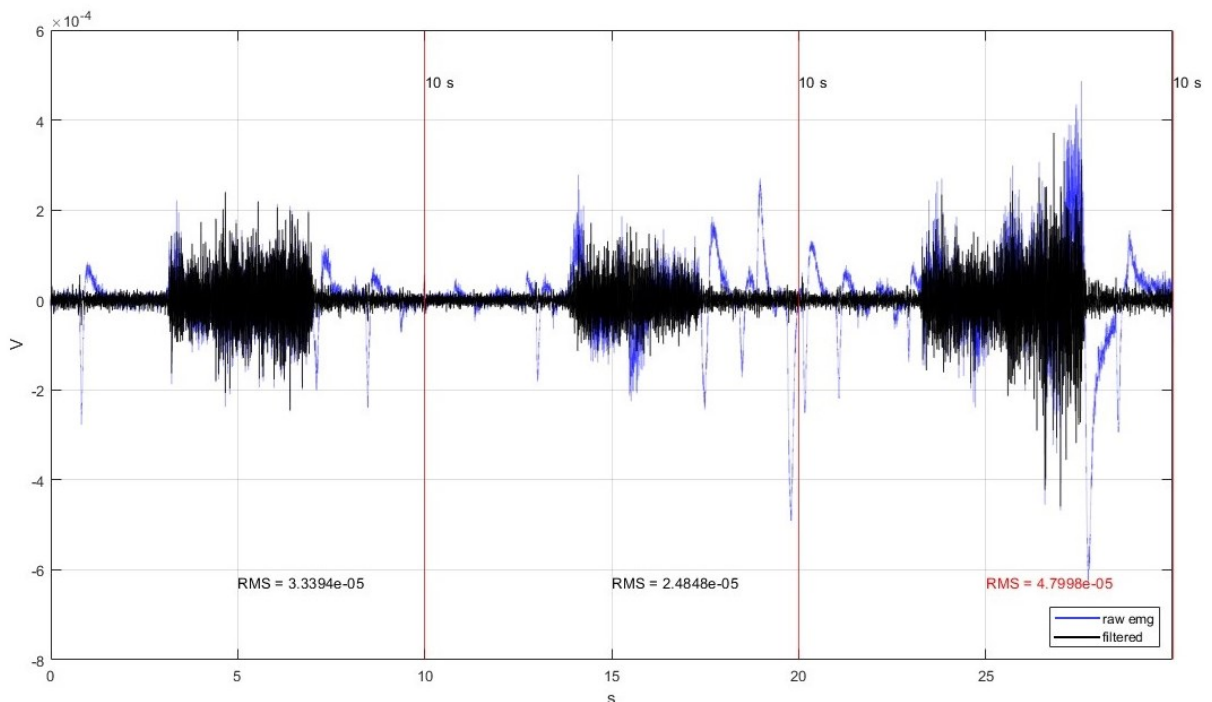


Figura 4.4.1 Esempio di stampa dei segnali; tensione in ordinata e tempo in ascissa

Il codice dà la disponibilità di modificare la finestra in cui calcolare il valore di RMS se il segnale originale non è considerato accettabile (per esempio in casi di eccessivo rumore o di contrazioni ripetute involontarie).

In questo caso l'operatore ha la possibilità di segnare manualmente, con l'ausilio di un puntatore a video, gli intervalli di attivazione del segnale dove calcolare il parametro RMS. Per fare questo è necessario identificare, nelle finestre del segnale, le porzioni con condizioni ottimali per il calcolo.

In alcuni casi il segnale è talmente disturbato da non essere valutabile; in queste circostanze si può non considerarlo e continuare le elaborazioni con i segnali successivi.

Inoltre nel codice è implementata un'ulteriore funzione “*envelope*”, che permette di visualizzare appunto l'*envelope* del segnale.

#### 4.5 Modifiche del codice

La prima modifica preliminare ha previsto l'inserimento di una riga di codice che trasli sul valore zero la linea di zero del segnale (*baseline*), sottraendo al segnale grezzo la media del segnale.

La successiva fase di modifica del codice ha comportato l'aggiunta di un'opzione che permettesse di esportare i valori calcolati degli RMS in file di tipo Excel. L'utilità di questa operazione è quella di poter sviluppare successive analisi, come grafici e calcoli delle medie.

Il codice è stato implementato in modo da produrre due file Excel. Il primo file “risultati” è pensato per contenere tutte le informazioni degli RMS che sono stati calcolati, mentre il secondo (“*not considered*”) riporta i segnali troppo disturbati per potervi calcolare il parametro. Nella tabella 4.5.1 è riportato un esempio di come i dati vengono scritti nel file Excel principale.

| Codice paziente | Tempo di acquisizione | Muscolo    | RMS massimo | Frequenza | Eventuali note |
|-----------------|-----------------------|------------|-------------|-----------|----------------|
| ID10            | T12                   | Frontale   | 4,76917E-05 | 1000      |                |
| ID10            | T12                   | Massetere  | 6,56004E-05 | 1000      |                |
| ID10            | T12                   | Mentoniero | 7,25126E-05 | 1000      |                |

Tabella 4.5.1 Esempio del salvataggio dei dati in Excel

Seguono i dettagli delle modifiche tecniche del codice.

Inizialmente il codice chiede all'utente in quale cartella si desideri salvare i risultati. Dopo di che, quando il programma giunge alle fasi di valutazione del *trial*, a seconda della classificazione scelta si vanno a salvare in appositi *array*: le informazioni sul codice del soggetto, il tempo di acquisizione, il muscolo considerato, l'RMS massimo calcolato, la frequenza di acquisizione ed eventuali note aggiuntive. Le informazioni vengono ricavate in base alla denominazione del file xml (che nella maggioranza dei casi è del tipo "ID00 T0 Muscolo Dx 1.xml") ed alle informazioni precedentemente elaborate dal programma.

In alcuni casi la denominazione del file non presentava esattamente questo formato; sono state gestite quindi le eccezioni con l'uso di alcuni blocchi *if-else* dedicati. Ad esempio, nelle situazioni in cui era assente l'indicazione sul tempo di acquisizione, sono state inseriti dei comandi che richiedono all'utente di inserire l'informazione mancante attraverso un *input*.

Al termine dell'analisi del singolo file xml, i dati vengono sovrascritti sul file Excel. Per effettuare l'esportazione, si è utilizzata la funzione "*xlswrite*" propria di MatLab, come riportato nell'esempio successivo:

```
xlswrite(sheetexc, codes, 'SHEET1', 'A2');
```

Nelle prime righe di codice sono state inserite inoltre alcune variabili di verifica e controllo, affinché i dati fossero scritti incolonnati, senza spazi vuoti, in entrambi i file.

#### 4.6 Metodo di calcolo per il parametro RMS

Dalla ricerca bibliografica svolta e dal confronto con altri progetti, è emerso che vi sono due possibilità per effettuare il calcolo del RMS. Il primo metodo, quello implementato nel codice, esegue il calcolo a partire dalla curva del segnale EMG. Il metodo alternativo invece segue la stessa formula di calcolo, ma a partire da una curva ottenuta dai valori degli RMS calcolati su brevi finestre temporali (*sliding windows* di 50 ms).

È stata condotta una ricerca in letteratura, mirata ad evidenziare le differenze tra i due approcci e stabilire quale fosse il più appropriato per il caso in esame.

Dal momento che in letteratura sono presenti pochi studi riguardo all'elaborazione dei segnali EMG facciali nella SMA e all'impiego di RMS per l'interpretazione di questi dati, si è quindi divisa la ricerca in due fasi: nella prima si è ricercato il metodo di calcolo più adottato negli EMG facciali in generale, e nella seconda il metodo impiegato nelle patologie distrofiche.

La prima fase si è basata su un vasto numero di articoli, per la maggior parte riguardanti studi sull'uso delle EMG facciali nelle analisi del parlato, oppure per le valutazioni del dolore nei pazienti affetti da disturbi temporo-mandibolari [21, 22].

In entrambe le tipologie di studio, tutti gli articoli considerati portavano a conclusioni simili.

Il calcolo degli RMS, a partire dalla curva RMS, viene usato come ulteriore elaborazione per avere dati con differenze più nette (ad esempio quando la rilevazione del segnale deve portare ad una scelta binaria) e in generale non viene usato per studi su patologie.

Il calcolo RMS a partire dal segnale EMG viene invece maggiormente impiegato negli studi sulle malattie.

Ulteriore conferma di questa conclusione è stata data dagli articoli relativi al metodo di calcolo impiegato nelle patologie distrofiche, come SMA o Duchenne. Sebbene questi articoli siano relativi a rilevazioni sugli arti (soprattutto bicipiti brachiali), in tutti viene calcolato l'RMS direttamente dal segnale [23].

Vista la numerosità degli articoli che hanno portato a queste conclusioni, si è proceduto con il calcolo del valore RMS dal segnale pre-processato.

#### *4.7 Elaborazione dei segnali acquisiti a 25 kHz*

La ricerca bibliografica relativa all'elaborazione dei segnali EMG di superficie ad alte frequenze di campionamento non ha fornito delle indicazioni sufficientemente esaustive e recenti sulla trattazione e, soprattutto, sul filtraggio di questi segnali. La conclusione di questa ricerca ha portato a considerare che la soluzione più conveniente fosse il ricampionamento del segnale.

La letteratura è ricca di studi che dimostrano come ricampionare un segnale alla frequenza di 1000 Hz sia un ottimo compromesso tra informazione portata dal segnale ed efficienza computazionale; inoltre, si è visto come anche ricampionare a frequenze prossime a 500 Hz causi una minima perdita di accuratezza nei segnali EMG. Questi studi sono coerenti con la base teorica data dal teorema di *Nyquist-Shannon*, che sostiene che la frequenza di campionamento debba essere maggiore o uguale al doppio della larghezza di banda del segnale.

Dei numerosi studi presenti e considerati vengono riportate le analisi di tre articoli d'esempio.

Il primo di questi [18] prende in considerazione EMG di contrazioni isometriche del tricipite brachiale e studia gli effetti sull'accuratezza del segnale rispetto a date frequenze di campionamento (a 6000 Hz, 3000 Hz, 1000 Hz, 500 Hz e 250 Hz). Gli autori concludono che tra 6000 e 1000 Hz la perdita di accuratezza dei parametri valutati (durata dei *burst* e *time peak*) sia del 2,4%. Per avere una differenza significativa è necessario scendere a 500 Hz.

Il secondo articolo considerato [19] confronta la perdita di accuratezza del segnale tra 1000 Hz e 500 Hz in soggetti sani e amputati, in corrispondenza dell'arto offeso. Valutando parametri quali valore assoluto medio, lunghezza della forma d'onda, numero di passaggi per lo zero e numero di variazioni del segno di pendenza, si è registrata una differenza tra le due frequenze pari a 0,8% nei soggetti sani e 2,2% negli amputati.

A conclusioni simili arriva lo studio di Hong Feng Chen et al. [20]. In questo studio viene considerato un ricampionamento da 1000 a 400 Hz e da 1000 a 200 Hz in soggetti sani con *task* di movimenti delle dita. I parametri *Root Mean Square*, valore assoluto medio, lunghezza della forma d'onda variavano rispettivamente dello 0,43% nel primo ricampionamento e dello 1,5% nel secondo.

Sulla base bibliografica degli articoli citati, si è convenuto che la soluzione migliore fosse procedere con la modifica del codice MatLab per effettuare il ricampionamento dei segnali da 25000 a 1000 Hz. Il vantaggio di questa operazione è quello di applicare lo stesso filtro, con gli stessi parametri dei segnali acquisiti a 1000 Hz.

Questo è stato implementato tramite le seguenti righe di codice MatLab, sfruttando la funzione "*resample*" propria del linguaggio.

```
%filtering and resampling
freqdesired=1000;
if freq == 1000
    emg_filt = buttfilt(emg_raw, freq, 10, 450, 5);
elseif freq == 25000
    emg_resample=resampling(emg_raw, freq, freqdesired);
    emg_filt = buttfilt(emg_resample, freqdesired, 10, 450, 5);
end
```

Sono state poi apportate le opportune modifiche al codice, affinché questo fosse applicabile indipendentemente dalla frequenza di acquisizione del segnale in ingresso e dal “*case*” che l’operatore sceglie durante l’elaborazione dei segnali. Codeste modifiche riguardano principalmente la progettazione degli assi delle figure, che devono adattarsi alla frequenza del segnale ricampionato, e l’aggiunta di opportuni blocchi “*if-elseif*” utili a gestire i vari casi di frequenza di campionamento del segnale in ingresso.

#### *4.8 Analisi sui risultati*

Una volta completato, il codice è stato eseguito su tutti i segnali a disposizione. Ne sono risultati due file Excel, con le caratteristiche sopra citate, in cui sono stati divisi i dati relativi al gruppo dei patologici e i dati del gruppo di controllo. Un terzo file invece ha riportato i dati dei segnali non considerabili.

Sui dati considerati sono stati effettuati i calcoli della media e della deviazione standard per muscolo e gruppo, con i corrispondenti grafici.

I risultati esposti e commentati nel capitolo successivo sono stati prima considerati nella totalità dei 26 soggetti patologici con 32 acquisizioni, e 8 soggetti di controllo testati attraverso 8 acquisizioni. Notando poi che l’età media dei soggetti di controllo è di 33 anni (compresa tra 27 e 45 anni), mentre quella dei soggetti patologici è di 21 anni (compresa tra 4 e 71 anni), si è poi ristretto il *range* d’età considerato per uniformarlo a quello adottato nella analisi dei *face tracking*. In questo secondo caso sono stati trattati 13 patologici (con 17 acquisizioni). Successivamente sono stati esclusi i segnali che avevano subito ricampionamento, riducendo il gruppo dei patologici a 13 con 13 acquisizioni.

Utilizzando il software SPSS *Statistics* per l’elaborazione statistica, si sono analizzati i dati dei soggetti patologici con età compresa tra i 15 e i 65 anni, confrontandoli con i soggetti di controllo. Per questo confronto il tipo di test statistico impiegato è di tipo parametrico a campioni indipendenti, in quanto il gruppo dei patologici è sufficientemente ampio e i due gruppi non si influenzano tra loro. I risultati d’interesse per la nostra analisi sono la media, la varianza e la significatività.

Il livello di significatività è la soglia che determina se un determinato risultato può essere considerato statisticamente significativo; numericamente si considerano statisticamente significativi valori inferiori a 0,05.

Infine è stato eseguito un ultimo confronto riguardante i dati dei pazienti acquisiti a distanza di mesi dall'inizio del trattamento. Si è quindi proseguito con l'analisi statistica non parametrica, secondo metodo di *Kruskal-Wallis*, dei pazienti che hanno più di un'acquisizione a distanza di mesi.

Purtroppo il numero di questi pazienti è limitato a sei soggetti, quindi si è eseguita l'analisi con la consapevolezza di tale limite. Di questi soggetti, cinque sono stati sottoposti a trattamento farmacologico con il principio attivo *nusinersen* e i loro segnali EMG sono stati riacquisiti a distanza di 8 o 12 mesi. Il sesto paziente non è stato sottoposto al trattamento con il farmaco, ma solo ai trattamenti fisioterapici ed è stato riacquisito dopo 6 mesi.

## 5. Risultati e discussioni

### 5.1 Risultati e confronti del ricampionamento dei segnali a 25 kHz

Di seguito sono riportati i risultati relativi al ricampionamento dei segnali inizialmente acquisiti con frequenza di campionamento di 25 kHz.

Nella figura 5.1.1 è possibile osservare la differenza tra il segnale originale (in magenta) e il segnale ricampionato (in verde). Nella figura 5.1.2 vi è un dettaglio dello stesso ricampionamento.

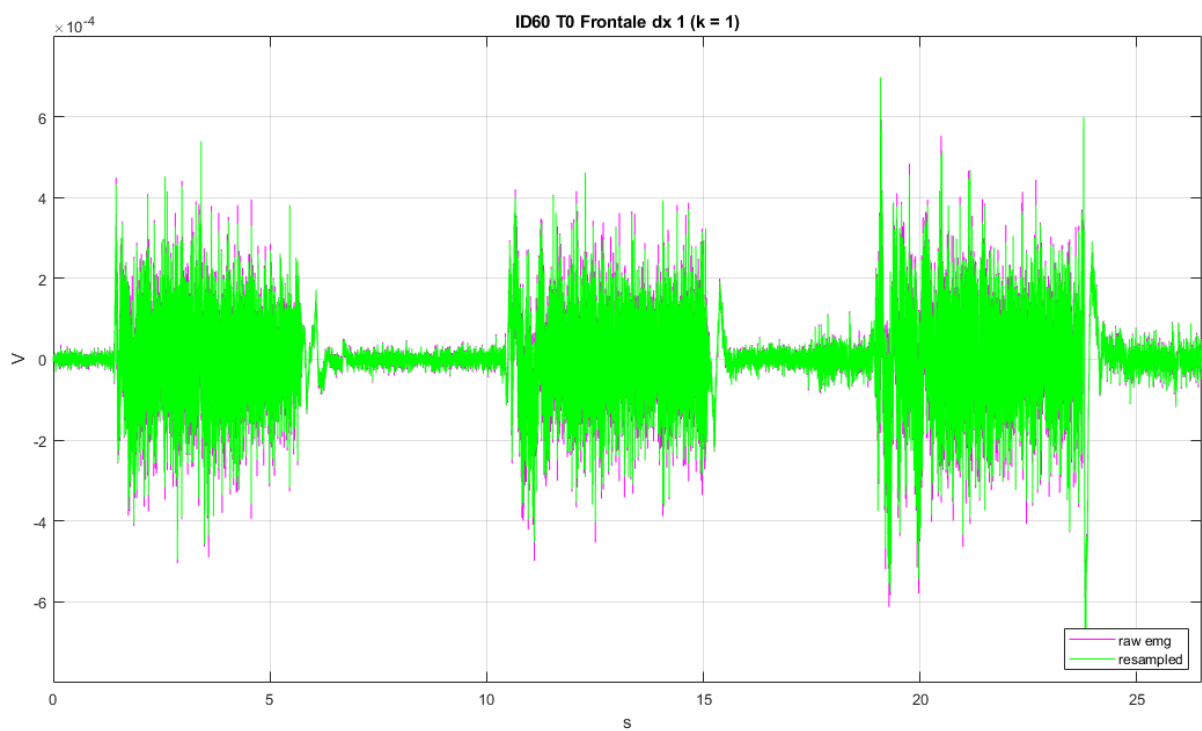


Figura 5.1.1 Ricampionamento del segnale



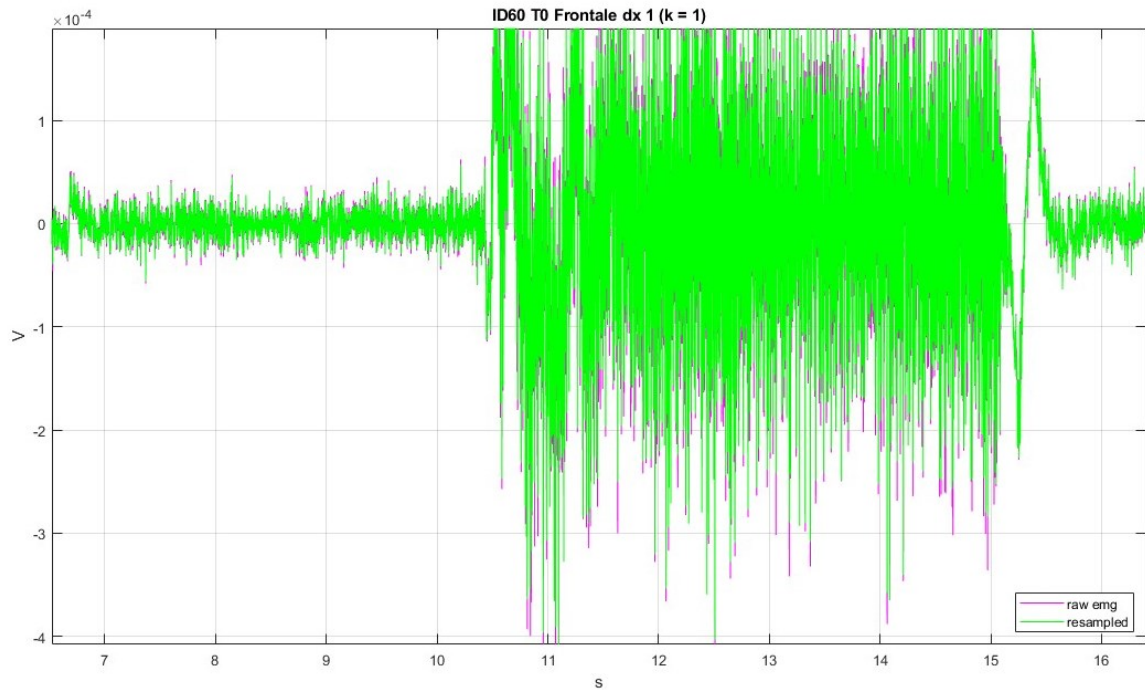


Figura 5.1.2 Dettaglio del ricampionamento del segnale

Come si può notare anche solo dal punto di vista morfologico, le variazioni del segnale post-ricampionamento non portano ad un cambiamento impattante del segnale.

Applicando il filtraggio con il medesimo filtro *Butterworth* sviluppato per i segnali originariamente acquisiti a 1000 Hz, si può notare come nel post-ricampionamento il filtraggio sia più efficace del filtro sviluppato pre-ricampionamento. Queste differenze di filtraggio sono visibili tra pre- e post-ricampionamento in un esempio nelle seguenti figure 5.1.3 e 5.1.4.

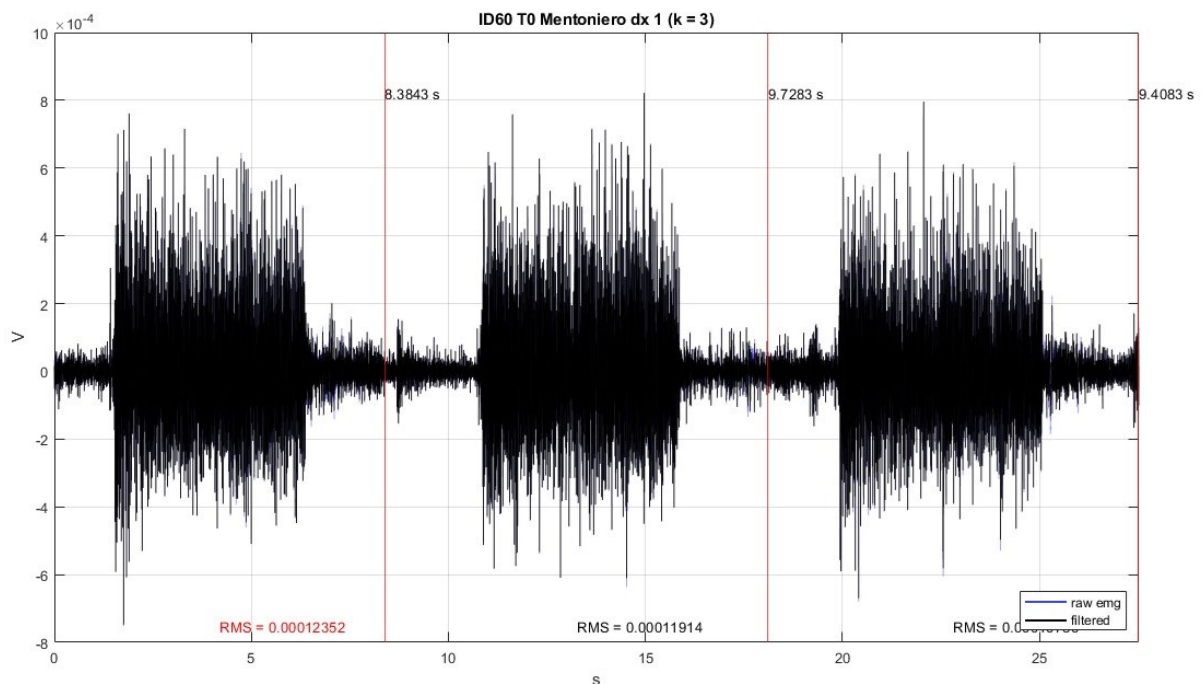


Figura 5.1.3 Segnale e filtraggio pre-ricampionamento del segnale

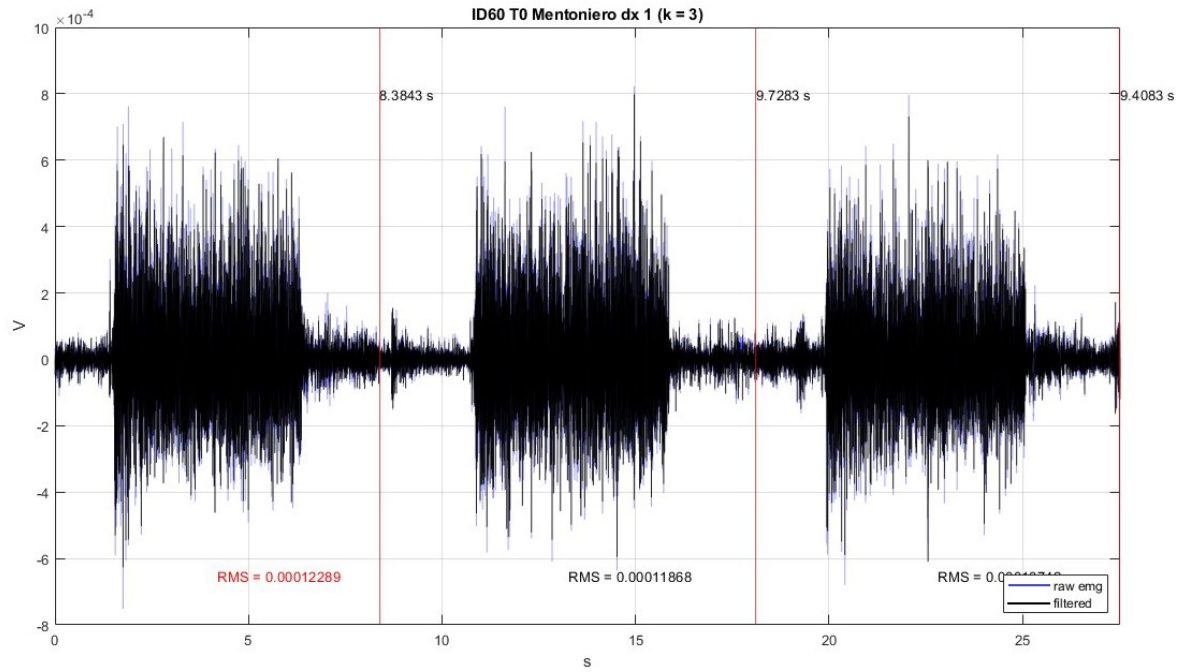


Figura 5.1.4 Segnale e filtraggio post-ricampionamento del segnale

Nella figura 5.1.5 si sovrappongono i segnali filtrati prima e dopo il ricampionamento: sebbene sia inevitabile una perdita di informazione, è visibile come venga mantenuta la natura del segnale e come il filtraggio risulti ottimale.

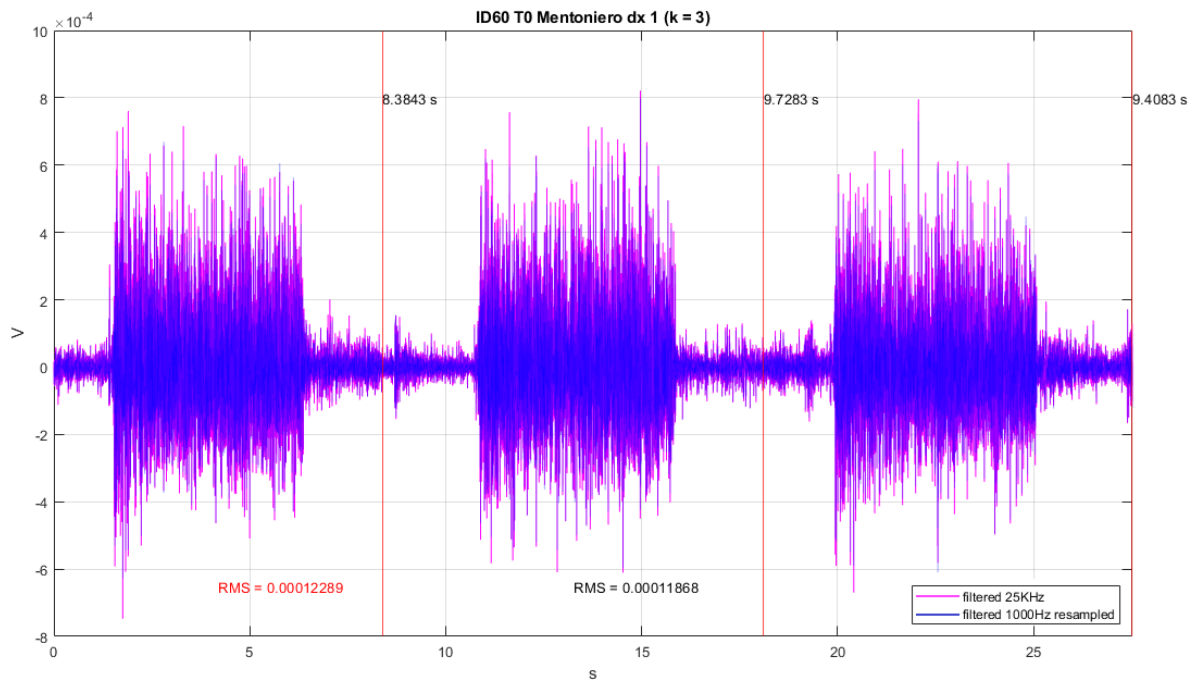


Figura 5.1.5 Filtraggi pre- e post-ricampionamento del segnale

Nei casi in cui è stato necessario l'intervento dell'operatore nel selezionare manualmente la finestra per il calcolo del RMS, si è modificato il codice per salvare gli istanti di tempo di inizio e fine delle finestre, in modo da applicare gli stessi intervalli sia sul segnale originale a 25 kHz che a 1000 Hz ricampionato e confrontali.

Per valutare le differenze del valore RMS calcolato nel segnale, prima e dopo il ricampionamento, è stata calcolata la variazione percentuale dei valori. I risultati di questa analisi mostrano una variazione percentuale complessiva del 2,42% con deviazione standard pari a 3,68.

### 5.2 Risultati ottenuti e discussioni sui valori RMS

Una volta effettuate le elaborazioni necessarie sui segnali acquisiti a 25 kHz e scartate le cinque acquisizioni valutate inutilizzabili, si è proseguito con le analisi dei dati complessivi. Il primo grafico (figura 5.2.1) raffigura la media e la deviazione standard di tutti i valori RMS, confrontando le due coorti di soggetti patologici e sani senza distinzione di età per i 3 muscoli presi in esame.

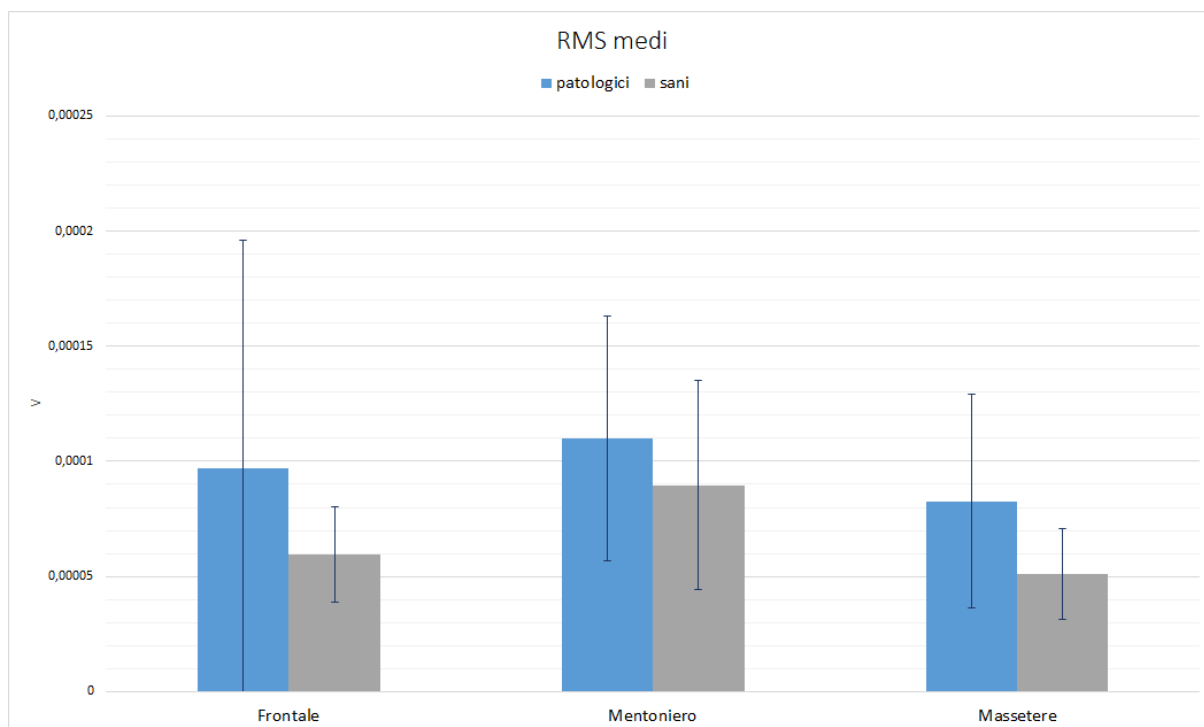


Figura 5.2.1 Grafico per il confronto dei valori di RMS tra soggetti sani e patologici, a seconda del muscolo acquisito

Dall'osservazione del grafico, è possibile discutere due considerazioni principali.

In generale si nota che i soggetti patologici hanno una variabilità molto più alta rispetto ai soggetti sani (dato visibile dalla deviazione standard).

Inoltre risulta che il valore di RMS è mediamente più alto nei pazienti piuttosto che nei soggetti di controllo. Essendo l'RMS un parametro che, nel caso in esame, rappresenta la forza del muscolo (con i dovuti limiti citati nel paragrafo 3.5) e avendo i pazienti una patologia che porta alla perdita di funzionalità del muscolo, ci si potrebbe aspettare che da un soggetto sano si rilevi una misura maggiore.

In Figura 5.2.2 viene riportato il risultato dell'analisi per distinzione d'età.

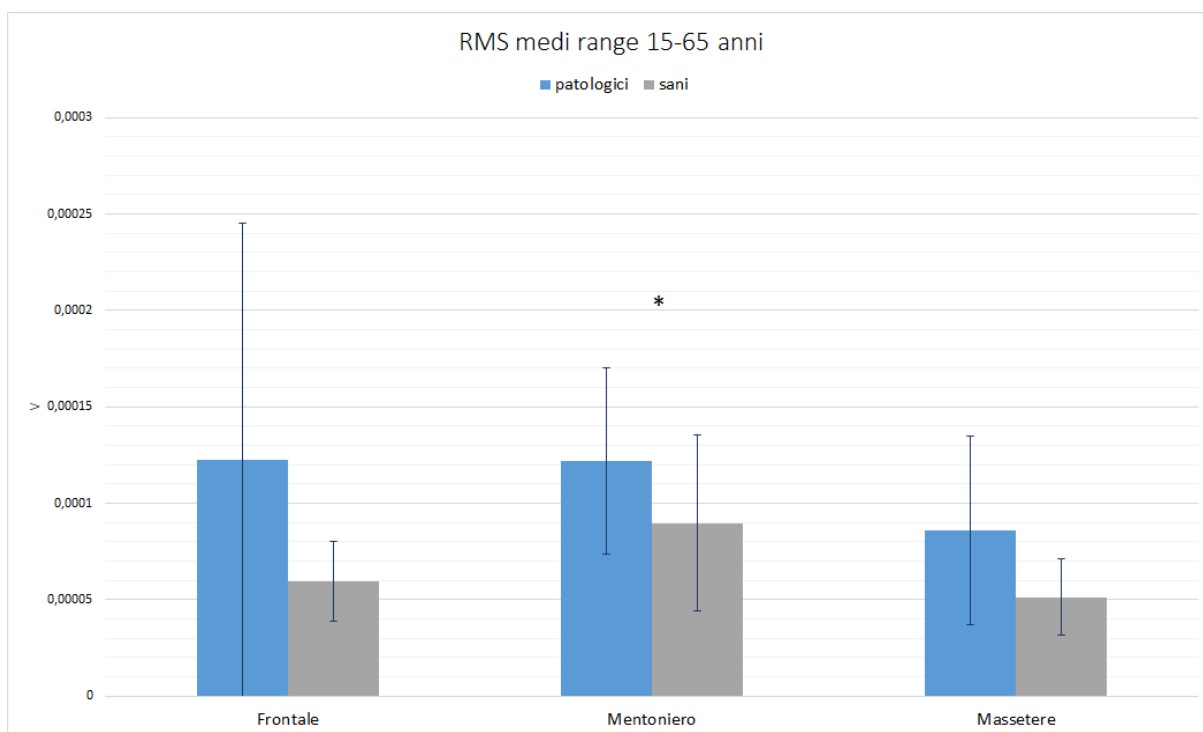


Figura 5.2.2 Grafico per il confronto dei valori di RMS tra soggetti sani e patologici tra i 15 e i 65 anni, a seconda del muscolo acquisito

Dal grafico spicca un distacco ancora maggiore tra i due gruppi. Dal momento che il gruppo considerato è quello degli adulti, quindi più incline ad eseguire correttamente il compito richiesto in esame, si può supporre che sia più attendibile del gruppo di età inferiore (< 15 anni). Si osserva in generale anche una maggiore variabilità.

Un'ulteriore verifica riguarda il confronto dei soli dati acquisiti a 1000 Hz di cui vengono riportati i risultati in figura 5.2.3.

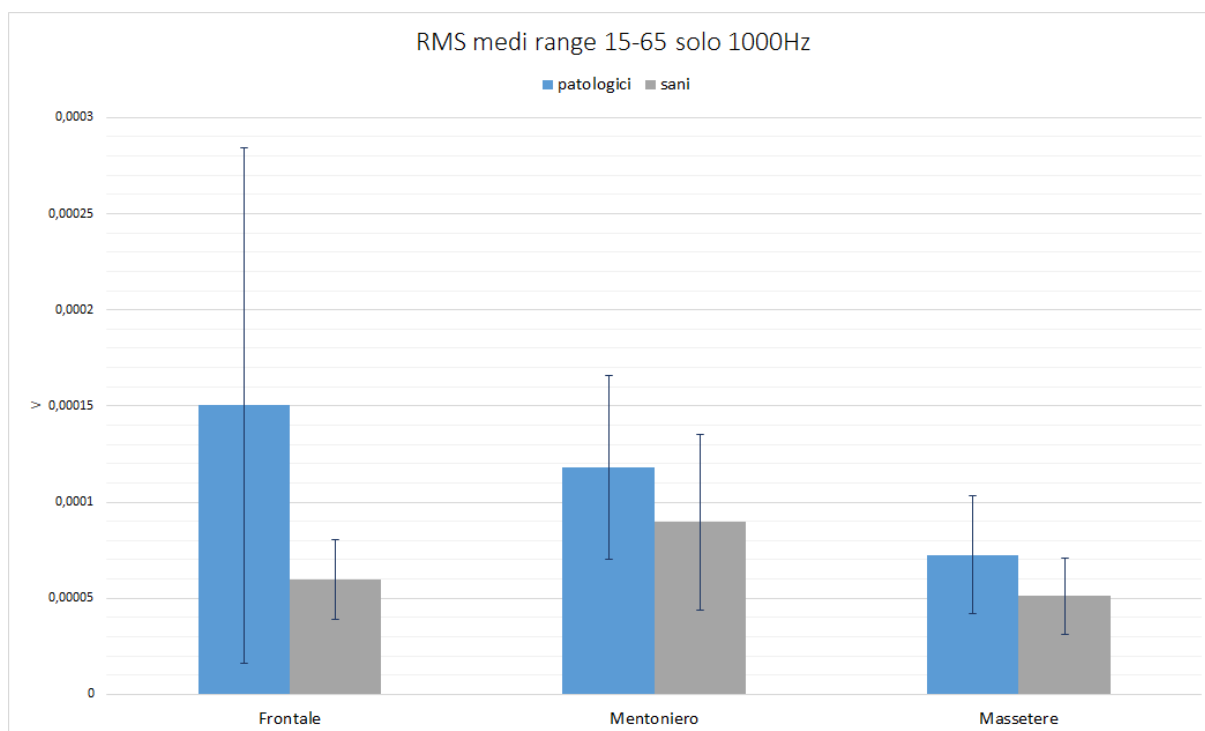


Figura 5.2.3 Grafico per il confronto dei valori di RMS tra soggetti sani e patologici tra i 15 e i 65 anni a 1000 Hz, a seconda del muscolo acquisito

Come da grafico 5.2.3, non si notano differenze sostanziali rispetto al caso precedente in cui si sono considerate entrambe le frequenze di acquisizione. Si può concludere dunque che la differenza tra RMS di sani e patologici non risente di un problema relativo alla frequenza di acquisizione.

Concludendo, i parametri RMS calcolati sono effettivamente più alti nei soggetti patologici che nei soggetti di controllo, tenendo comunque presente l'ampia variabilità dei risultati.

### 5.3 Analisi statistica dei valori degli RMS

Seguono i risultati dei test statistici svolti con SPSS *Statistics*. I risultati complessivi sono riportati nella tabella 5.3.1, divisi per muscolo:

| Statistiche gruppo |            |    |                      |                      |                 |
|--------------------|------------|----|----------------------|----------------------|-----------------|
| Muscolo            | Gruppo     | N  | Media (V)            | Deviazione st.       | Significatività |
| Frontale           | Patologici | 17 | $1,09 \cdot 10^{-4}$ | $1,11 \cdot 10^{-4}$ | 0,097           |
|                    | Sani       | 7  | $0,60 \cdot 10^{-4}$ | $0,21 \cdot 10^{-4}$ |                 |
| Mentoniero         | Patologici | 13 | $0,87 \cdot 10^{-4}$ | $0,51 \cdot 10^{-4}$ | 0,039           |
|                    | Sani       | 8  | $0,51 \cdot 10^{-4}$ | $0,20 \cdot 10^{-4}$ |                 |
| Massetere          | Patologici | 16 | $1,27 \cdot 10^{-4}$ | $0,43 \cdot 10^{-4}$ | 0,072           |
|                    | Sani       | 8  | $0,90 \cdot 10^{-4}$ | $0,46 \cdot 10^{-4}$ |                 |

Tabella 5.3.1 Analisi statistica tra soggetti sani e patologici

Dalla tabella si può osservare che soltanto il muscolo mentoniero ha significatività statistica tra i due gruppi. In generale si può notare che la variabilità è molto vasta su tutti i dati e che, come precedentemente commentato, il gruppo dei patologici ha un valore RMS maggiore.

I risultati dei confronti tra prima e seconda acquisizione nei soggetti patologici sono riportati nel grafico 5.3.2 e nella tabella 5.3.3, divisi per muscolo:

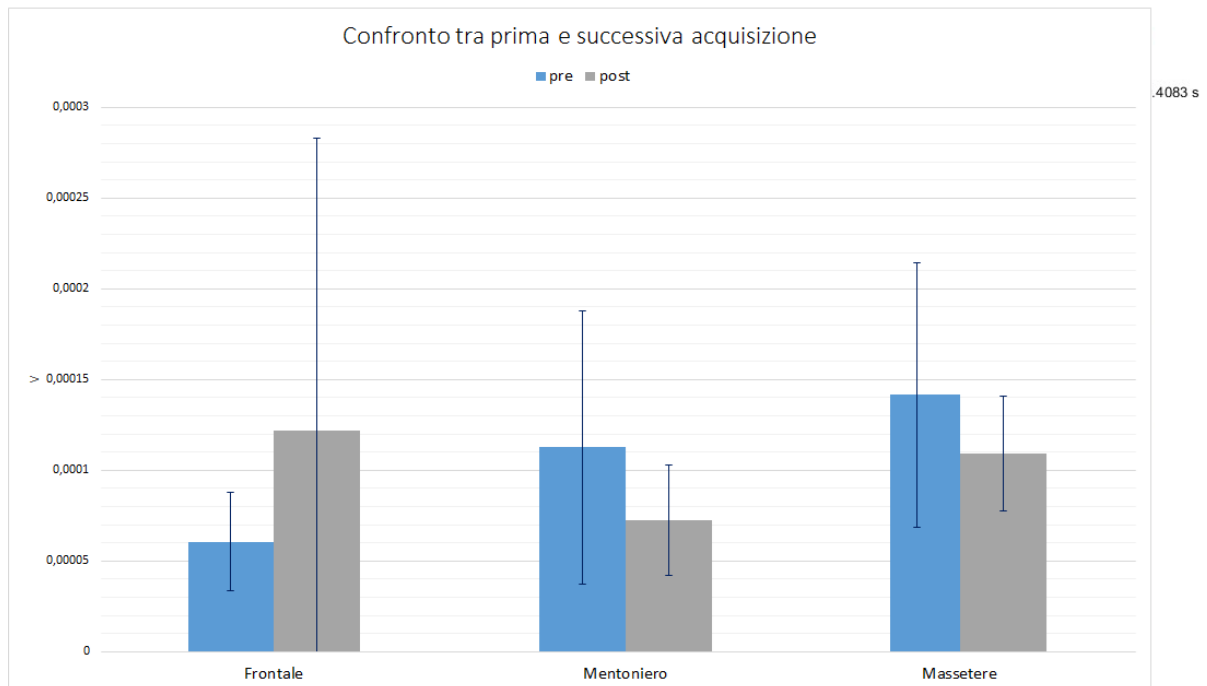


Figura 5.2.3 Grafico per il confronto pre e post trattamento

| <b>Statistiche campioni accoppiati</b> |          |          |                      |                       |                        |
|--|----------|----------|----------------------|-----------------------|------------------------|
| <i>Muscolo</i>                         | <i>T</i> | <i>N</i> | <i>Media (V)</i>     | <i>Deviazione st.</i> | <i>Significatività</i> |
| Frontale                               | Pre      | 6        | $0,61 \cdot 10^{-4}$ | $0,27 \cdot 10^{-4}$  | 0,387                  |
|  | Post     | 6        | $1,22 \cdot 10^{-4}$ | $1,61 \cdot 10^{-4}$  |                        |
| Mentoniero                             | Pre      | 5        | $1,13 \cdot 10^{-4}$ | $0,75 \cdot 10^{-4}$  | 0,289                  |
|  | Post     | 5        | $0,63 \cdot 10^{-4}$ | $0,22 \cdot 10^{-4}$  |                        |
| Massetere                              | Pre      | 6        | $1,42 \cdot 10^{-4}$ | $0,73 \cdot 10^{-4}$  | 0,422                  |
|  | Post     | 6        | $1,09 \cdot 10^{-4}$ | $0,32 \cdot 10^{-4}$  |                        |

Tabella 5.3.3 Analisi statistica tra pre e post trattamento

Non è stata rilevata alcuna significatività statistica in nessuno dei tre muscoli. Tra la prima e la seconda acquisizione, inoltre, non si riscontra un sostanziale cambiamento. Infatti il muscolo frontale presenta un notevole miglioramento ma aumenta sensibilmente la variabilità; il muscolo mentoniero presenta un peggioramento e un aumento della variabilità; infine il massetere presenta un minimo peggioramento.

## 6. Conclusioni

### 6.1 Conclusioni sul filtraggio dei segnali con frequenza di campionamento di 25 kHz

Dalle rappresentazioni grafiche e dal calcolo dei parametri RMS, si è constatato che la soluzione adottata per il trattamento e l'elaborazione dei segnali acquisiti con una frequenza di campionamento di 25 kHz, cioè il ricampionamento dei segnali a 1000 Hz, rappresenta una buona risoluzione del problema.

Il raffronto tra le caratteristiche del segnale prima e dopo il ricampionamento mostra che le differenze percepite sono minime. Dal confronto tra il segnale filtrato pre-ricampionamento ed il segnale filtrato post-ricampionamento si possono notare delle variazioni di natura più consistente. Tuttavia, considerando che il segnale complessivo è stato trattato con una frequenza di campionamento pari ad un venticinquesimo rispetto all'originale, e verificando le variazioni osservabili dei segnali originariamente a 1000 Hz prima e dopo il filtraggio, queste differenze possono considerarsi ottimali ai fini delle elaborazioni.

Anche la comparazione degli RMS calcolati conferma questa scelta. Per condurre un esame accurato e più oggettivo possibile, si sono valutate esattamente le stesse porzioni di segnale (sia nei casi di *trial* ottimale che nei casi di *trial* in cui sono state scelte le finestre di calcolo), adottando le medesime condizioni.

I risultati indicano che le differenze sono accettabili per elaborazioni future: questo si può notare sia dal valore della differenza percentuale in sé (2,42%) che dalla deviazione associata (3,68).

Si conclude quindi che il ricampionamento non porta a significative perdite di informazioni e che, anzi, riduce la quantità altrimenti sovrabbondante di informazione (i segnali con frequenze di campionamento superiori ai 2 kHz vengono infatti ritenuti eccedenti di informazione). Inoltre effettuare questa operazione garantisce il vantaggio di uniformare i dati raccolti e la possibilità di applicare le tecniche di filtraggio di cui si hanno riferimenti comprovati in letteratura.

Tutte le considerazioni fatte possono ritenersi valide per l'acquisizione di eventuali segnali EMG con campionamenti superiori ai 1000 Hz (diverse da 25 kHz), scenario possibile ad esempio in virtù di un cambio del macchinario impiegato.



## 6.2 Conclusioni rispetto all'analisi degli RMS

Per gli EMG facciali, in particolare per pazienti affetti da SMA, non sono presenti ad oggi studi in letteratura; essi rappresentano quindi un aspetto altamente innovativo e privo di conoscenze approfondite. I risultati ottenuti sono perciò da considerarsi nei limiti del numero e delle particolarità dei soggetti analizzati durante lo svolgimento di questo progetto, e meriterebbero sicuramente uno sviluppo su più ampia scala.

Fatto presente questo limite, i risultati finora ottenuti con il presente elaborato portano a concludere che i valori RMS calcolati sul gruppo dei patologici sono più elevati rispetto a quelli del gruppo di controllo.

Questo si può spiegare considerando il fatto che i soggetti patologici devono applicare uno sforzo maggiore rispetto a quelli sani per mantenere la contrazione muscolare, proprio per sopperire alla debolezza dei propri muscoli facciali. Questo implica il reclutamento di un maggior numero di fibre muscolari e conseguentemente un valore più elevato di segnali EMG che, essendo riferiti ad un maggior numero di MUAP, risultano più intensi. Inevitabilmente questo porta ad un aumento dei valori di RMS, coerentemente con la loro funzione di descrizione della potenza del segnale stesso.

Tuttavia questa ipotesi meriterebbe ulteriori verifiche dedicate.

## 6.3 Prospettive future del progetto

Per quanto concerne gli sviluppi futuri del progetto, si potrà senz'altro incrementare il numero di pazienti coinvolti, in modo da poter ottenere dati statistici di maggiore rilevanza.

Lavorando con un campione più vasto di soggetti si potrebbero anche effettuare delle analisi statistiche più mirate, andando a suddividere i malati per tipologia di SMA. Particolarmente interessante potrebbe essere suddividere i pazienti in fasce d'età più ristrette, con maggior attenzione alla fascia pediatrica per la quale vi è un numero più ingente di pazienti.

A livello di procedura degli esami elettromiografici e del trattamento dei segnali acquisiti, si possono mantenere come standard di riferimento i *task* eseguiti finora, trattare i segnali con le metodologie implementate nel codice finale e mantenere come parametro di confronto l'RMS massimale.

Infine, si può suggerire di monitorare l'andamento nel tempo del RMS nei singoli pazienti e di ampliare e diversificare ulteriormente anche il numero di soggetti appartenenti al gruppo di controllo.

## 7. Bibliografia e sitografia

- [1] Fanin M., Angelini C.: “Neurologia clinica”, Esculapio Editore Bologna, 2.8.10, 20 – 21 (2014)
- [2] Anastasi G., Capitani S.: “Trattato di anatomia umana volume 1”, Edi Ermes, 3.1.4, 126-130 (2006)
- [3] Guiotto A.: “Seminario elettromiografia e analisi del movimento”, Materiale e appunti del corso di Tecnologia e strumentazione biomedica (2021-2022)
- [4] Saccomani M. P., Bettini F.: Materiali e appunti del corso di Elaborazione di segnali biomedici (2021-2022)
- [5] Merletti R., Parker P.: “Electromyography: physiology, engineering, and non-invasive applications”, Wiley-Interscience (2004)
- [6] Solnik S., Rider P., Steinweg K., DeVita P., Hortobàgy T.: “Teager–Kaiser energy operator signal conditioning improves EMG onset detection”, Eur J Appl Physiol (2010)
- [7] Farina D., Merletti R.: “Comparison of algorithms for estimation of EMG variables during voluntary isometric contractions”, Journal of Electromyography and Kinesiology 10 (2000)
- [8] Merletti R., Farina D.: “Surface Electromyography: Physiology, Engineering and Applications”, Wiley-IEEE Press (2016)
- [9] Nazmi N., Rahman M., Yamamoto S., Ahman S., Zamzuri H., Mazlan S.: “A Review of Classification Techniques of EMG Signals during Isotonic and Isometric contractions”, Sensors (2016)
- [10] Semmler J. G., Tucker K., Allen T., Proske U.: “Eccentric exercise increases EMG amplitude and force fluctuations during submaximal contractions of elbow flexor muscles”, J Appl Physiol (2007)
- [11] Hogrel J.Y.: “Clinical applications of surface electromyography in neuromuscular disorders”, Neurophysiologie clinique 35 (2005)
- [12] Wirth B.: “An Update of the Mutation Spectrum of the Survival Motor Neuron Gene (SMN1) in Autosomal Recessive Spinal Muscular Atrophy (SMA)”, Human mutation (2000)
- [13] Finkel R., et al.; “Primary Efficacy and Safety Results From the Phase 3 ENDEAR Study of Nusinersen in Infants Diagnosed With Spinal Muscular Atrophy (SMA)”, 43rd Annual Congress of the British Paediatric Neurology Association (2017)
- [14] Darras B., Farrar M., et. al.: “An Integrated Safety Analysis of Infants and Children with Symptomatic Spinal Muscular Atrophy (SMA) Treated with Nusinersen in Seven Clinical Trials”, CNS Drugs (2019)

- [15] Ludolph A. C., Wurster C.: “Therapeutic advances in SMA”, Wolters Kluwer Health (2020)
- [16] Kollmitzer J., Ebenbichler G., Kopf A.: “Reliability of surface electromyographic measurements”, *Clinical Neurophysiology* 110 (1999)
- [17] Geoghegana L., Kwasnickib R.M., Kanabara S., Pethersa D., Ndukac C.: “A systematic recurrent theme analysis of the reported limitations of facial electromyography”, *Annals of Medicine and Surgery* (2018)
- [18] Ives J.C., Wigglesworth J.K.: “Sampling rate effects on surface EMG timing and amplitude measures”, *Clinical Biomechanics* 18 (2003)
- [19] Li G., Li Y., Zhang Z., Geng Y., Zhou R.: “Selection of Sampling Rate for EMG Pattern Recognition Based Prosthesis Control”, *Annual International Conference of the IEEE EMBS* (2010)
- [20] Chen H., Zhang Y., et. al.: “Exploring the Relation between EMG Sampling Frequency and Hand Motion Recognition Accuracy”, *Annual International Conference of the IEEE EMBS* (2017)
- [21] Nakayama Y., Takano Y., Matsubara M., Suzuki K., Terasawa H.: “The sound of smile: Auditory biofeedback of facial EMG activity”, *Displays* 47 (2017)
- [22] Santos Berni K., Almir Vieira Dibai-Filho A.V., Pires P., Rodrigues-Bigaton D.: “Accuracy of the surface electromyography RMS processing for the diagnosis of myogenous temporomandibular disorder”, *Journal of Electromyography and Kinesiology* 25 (2015)
- [23] Williams S., Koch K., Disselhorst-Klug C.: “Non-invasive assessment of motor unit activation in relation to motor neuron level and lesion location in stroke and spinal muscular atrophy”, *Clinical Biomechanics* 78 (2020)
- [24] DeLuca C., Gilmore D., Kuznetsov M., Roy S.: “Filtering the surface EMG signal: Movement artifact and baseline noise contamination”, *Journal of Biomechanics* 43 (2010)
- [25] [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=IT&Expert=70](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=IT&Expert=70)
- [26] [https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/spinraza-epar-summary-public\\_it.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/overview/spinraza-epar-summary-public_it.pdf)
- [27] [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information\\_it.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/spinraza-epar-product-information_it.pdf)
- [28] [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolgensma-epar-product-information\\_it.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/zolgensma-epar-product-information_it.pdf)
- [29] <https://www.bb-sof.com/>

## **8. Ringraziamenti**

Arrivata a questo punto, desidero ringraziare chi mi ha seguito durante questo progetto di tesi e nella sua stesura.

Ringrazio quindi per l'opportunità e per il sostegno gli ingegneri Federica Cibir e Elena Pegolo. Ringrazio la mia relatrice, la professoressa Maria Pia Saccomani, per la disponibilità e il supporto.