



# **Politecnico di Torino**

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

## **Tesi di Laurea Magistrale**

**Controllo della postura nella spasticità dell'arto inferiore:  
valutazione dell'effetto focale della tossina botulinica mediante  
analisi stabilometrica e delle unità motorie**

**Relatore:**

Prof. Taian Martins Vieira

**Candidata:**

Enrica Marciante

**Correlatori:**

Dr. Marco Gagliardi

Dr. Matias Fröhlich

Anno Accademico 2024/2025

*Ai miei genitori, a mia sorella,  
a zio Giovanni e a nonno Lillo.*

*Instancabili sostenitori di questo percorso.*

*A nonna Lilla, nonna Giuseppina e nonno Giovanni.*

*Stelle che illuminano sempre il mio cammino.*

*A chi ha creduto in me fin dall'inizio e fino alla fine,  
spronandomi a farlo io per prima.*

# Indice

<b>1 Introduzione</b>	<b>4</b>
1.1 Rilevanza clinica . . . . .	4
1.2 Razionale scientifico . . . . .	5
1.3 Domanda di ricerca e ipotesi . . . . .	5
<b>2 Basi anatomiche e fisiologiche del sistema neuromuscolare</b>	<b>7</b>
2.1 Gerarchia del tessuto muscolare . . . . .	7
2.2 Unità motoria . . . . .	8
2.3 Giunzione neuromuscolare . . . . .	11
2.4 Gastrocnemio mediale . . . . .	12
2.4.1 Ruolo nella postura . . . . .	14
<b>3 Fisiopatologia della spasticità dell'arto inferiore e trattamento con tossina botulinica</b>	<b>16</b>
3.1 Alterazioni sovraspinali e spinali . . . . .	16
3.2 Alterazioni del controllo neuromuscolare a livello di unità motoria . . . . .	16
3.3 Alterazioni periferiche e meccaniche . . . . .	17
3.4 Conseguenze funzionali sulla postura . . . . .	17
3.5 Valutazioni cliniche della spasticità . . . . .	18
3.6 Tossina botulinica di tipo A per il trattamento della spasticità	19
<b>4 Metodologie strumentali per la valutazione posturale</b>	<b>22</b>
4.1 Elettromiografia ad alta densità (HD-sEMG) e decomposizione delle unità motorie . . . . .	22
4.2 Pedane di forza e Centro di Pressione . . . . .	24
<b>5 Limiti e sintesi della letteratura</b>	<b>24</b>

<b>6 Metodi</b>	<b>26</b>
6.1 Partecipanti . . . . .	26
6.2 Protocollo sperimentale . . . . .	27
6.3 Acquisizione dei segnali HD-sEMG e reazioni vincolari . . . . .	28
6.4 Elaborazione dei dati . . . . .	30
6.4.1 CoP antero-posteriore e medio-laterale . . . . .	30
6.4.2 Ispezione visiva e preparazione dei segnali HDsEMG .	32
6.5 Decomposizione dei segnali HDsEMG, ispezione ed editing delle singole unità motorie . . . . .	35
6.6 Analisi dei dati elettromiografici e stabilometrici . . . . .	40
6.6.1 Metriche sul CoP . . . . .	41
6.6.2 Metriche sulle Unità motorie . . . . .	44
6.7 Analisi statistica . . . . .	50
6.7.1 Analisi statistica per il profilo di distribuzione delle scariche . . . . .	50
<b>7 Risultati</b>	<b>52</b>
7.1 Metriche del CoP . . . . .	53
7.2 Metriche MU . . . . .	58
7.3 Metriche di interazione MU-CoP AP . . . . .	61
<b>8 Discussione</b>	<b>69</b>
<b>9 Conclusioni, Limiti e Sviluppi futuri</b>	<b>71</b>

# 1 Introduzione

## 1.1 Rilevanza clinica

Il controllo posturale, il quale risulta essenziale per l'autonomia funzionale, richiede l'integrazione continua di afferenze somatosensoriali, visive e vestibolari e la modulazione fine della coppia alla caviglia. Nei soggetti con spasticità dell'arto inferiore secondaria a patologie del sistema nervoso centrale, quali ictus, sclerosi multipla o lesioni midollari, tali meccanismi risultano alterati, determinando aumento delle oscillazioni, dipendenza visiva, ridotta simmetria di carico e maggiore instabilità [1, 2]. Queste alterazioni si traducono in difficoltà nel mantenimento della stazione eretta e nella gestione delle perturbazioni, con impatto significativo sulle attività quotidiane e sulla qualità della vita. [3]

La tossina botulinica di tipo A (BoNT-A) rappresenta il trattamento focale più utilizzato per ridurre l'iperattività muscolare in questi pazienti. La sua efficacia nel diminuire il tono spastico è ampiamente documentata [4, 5, 6]; tuttavia, le scale cliniche tradizionali, come la Modified Ashworth Scale (MAS) e la Tardieu Scale, mostrano sensibilità limitata ai cambiamenti sottili e non descrivono i meccanismi neurali che regolano l'equilibrio [7, 8]. Analogamente, le misure funzionali globali non isolano il contributo specifico dei muscoli trattati [9, 10]. Alcuni studi hanno valutato l'effetto della BoNT sul controllo posturale tramite misure del CoP, riportando risultati eterogenei: Trappier et al. non hanno osservato modifiche significative dopo il trattamento, mentre Kerzoncuf et al. hanno descritto una riduzione dell'area ellittica del CoP in condizioni ad occhi chiusi nel gruppo trattato rispetto al placebo. Tuttavia, il meccanismo neurale alla base di questi cambiamenti resta poco chiaro: se la BoNT agisca esclusivamente riducendo la forza e il tono eccessivi o se, indirettamente, modifichi i comportamenti neuromuscolari che sottendono il controllo posturale rimane oggetto di studio.[11, 12]

## **1.2 Razonale scientifico**

In condizioni fisiologiche, la stabilità durante la stazione eretta è ottenuta tramite un controllo intermittente della muscolatura plantare: nel gastrocnemio mediale, brevi incrementi della frequenza di scarica delle unità motorie (MU) contrastano gli spostamenti anteriori del centro di pressione (CoP). [13, 14, 15]. Evidenze più recenti hanno mostrato che il tricipite surale è organizzato in sottopopolazioni di MU con ruoli distinti: MU, attive in più direzioni e MU reclutate per incrementi direzionali di coppia durante gli spostamenti del CoP [16, 17]. Un controllo efficiente è dunque caratterizzato da variabilità, selettività e modulazione intermittente, piuttosto che da un'attivazione costante. [13, 14, 16]

Nel post-ictus tali meccanismi risultano compromessi. I soggetti tendono a caricare l'arto sano in modo preponderante, mentre il lato paretico contribuisce in misura ridotta e mostra capacità limitata di modulare rapidamente la forza [18, 19]. Inoltre, fenomeni di reinnervazione collaterale portano alla formazione di MU più ampie e meno selettive, con conseguente riduzione della precisione nel controllo della coppia [20]. È stato inoltre osservato che oscillazioni posturali simili possono essere generate tramite strategie neurali profondamente differenti [21]; ciò enfatizza che la sola analisi del CoP non è sufficiente per descrivere la qualità del controllo posturale.

## **1.3 Domanda di ricerca e ipotesi**

Alla luce di queste considerazioni, in questo studio ci si chiede se la somministrazione focale di BoNT conduca a un controllo posturale più efficiente dal punto di vista neurale durante la stazione eretta. Per controllo più efficiente si intende una modulazione più variabile della frequenza di scarica delle MU, associata a cambiamenti nella posizione del CoP.

Seguendo evidenze precedenti, che indicano come i soggetti spastici tendano a caricare principalmente l'arto sano durante la stazione eretta [20], ci si aspetta che la posizione media del CoP si riassetti intorno al centro dell'appoggio dopo l'iniezione di BoNT. Una distribuzione più bilanciata del carico dovrebbe favorire il ripristino dell'attivazione intermittente tipica del controllo posturale fisiologico [15, 14, 13], senza necessariamente ridurre l'ampiezza dello sway [21]; infine è attesa una maggiore modulazione del comportamento di scarica delle MU in funzione della posizione del CoP AP, tipica di una condizione fisiologica [13].

Pertanto in questo lavoro vengono integrate misure neuromuscolari, derivate dall'elettromiografia ad alta densità (HDsEMG), con misure stabilometriche del CoP, al fine di ottenere una caratterizzazione dettagliata dell'effetto della BoNT sul controllo dell'equilibrio.

## 2 Basi anatomiche e fisiologiche del sistema neuromuscolare

Prima di entrare nel dettaglio di quanto concerne la spasticità e il trattamento della stessa mediante la tossina botulinica, risulta necessario effettuare una panoramica anatomico-fisiologica circa le componenti e i meccanismi coinvolti, per fornire le basi funzionali alla comprensione dei capitoli successivi.

Innanzitutto è bene tenere presente che vi sono tre tipi di tessuto muscolare:

- **Scheletrico:** possiede una netta striatura trasversale, è sotto controllo volontario e conferisce all'individuo le capacità motorie. Non si contrae in maniera indipendente in assenza di stimolazione elettrica e generalmente origina e termina con tendini.
- **Cardiaco:** presenta striatura trasversale ma si contrae ritmicamente anche se denervato, risultando parzialmente indipendente.
- **Liscio:** privo di striatura, innervato dal sistema nervoso autonomo, responsabile della motilità degli organi della vita vegetativa. [22, 23]

Dal momento che il muscolo protagonista del nostro studio è il gastrocnemio mediale, si farà sempre riferimento al tessuto muscolare scheletrico.

### 2.1 Gerarchia del tessuto muscolare

Dal punto di vista anatomico-funzionale, il tessuto muscolare è organizzato in fascicoli, costituiti da fibre muscolari, lunghe cellule cilindriche plurinucleate che, al pari dei neuroni, sono eccitabili e rispondono all'eccitazione con la produzione di un potenziale d'azione che si propaga lungo tutta la membrana.

Tali cellule sono a loro volta composte da strutture cilindriche dette miofibrille, le quali contengono le proteine responsabili della contrazione: actina, miosina e le proteine regolatrici troponina e tropomiosina, calcio-dipendenti.

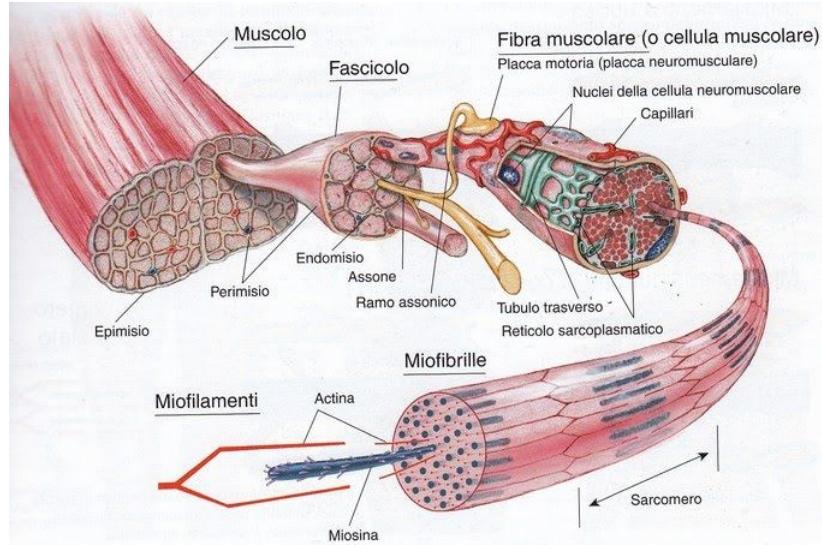


Figura 1: Struttura gerarchica del muscolo scheletrico: dal muscolo ai miofibrillamenti (actina e miosina).

## 2.2 Unità motoria

Come illustrato in figura 2, ogni singola fibra muscolare del muscolo scheletrico viene raggiunta dalle estremità assonali distali di un motoneurone spinale, tramite le quali riceve il segnale elettrico che determina una cascata di eventi responsabile della generazione del potenziale d'azione muscolare e dell'accorciamento della fibra stessa.

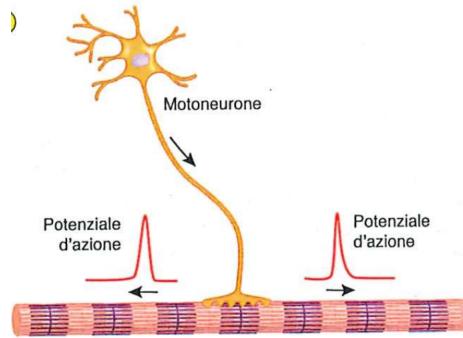


Figura 2: Innervazione singola di una fibra muscolare scheletrica di mammifero.

Si dice che il motoneurone *spara* quando viene raggiunta una soglia di eccitazione tale da generare il potenziale d'azione che decorre lungo l'assone per giungere alla fibra muscolare. Il raggiungimento di tale soglia è determinato dalla somma degli input sinaptici eccitatori e inibitori, derivanti sia da vie discendenti corticali sia da afferenze sensoriali periferiche [22].

Si definisce *unità motoria* l'insieme del motoneurone spinale  $\alpha$  e di tutte le fibre da esso innervate. Il numero di fibre innervate è variabile a seconda del tipo di muscolo, della sua dimensione e della finezza dei movimenti richiesti: può andare da poche unità (3–6) fino a centinaia, come nei muscoli di grande volume [23].

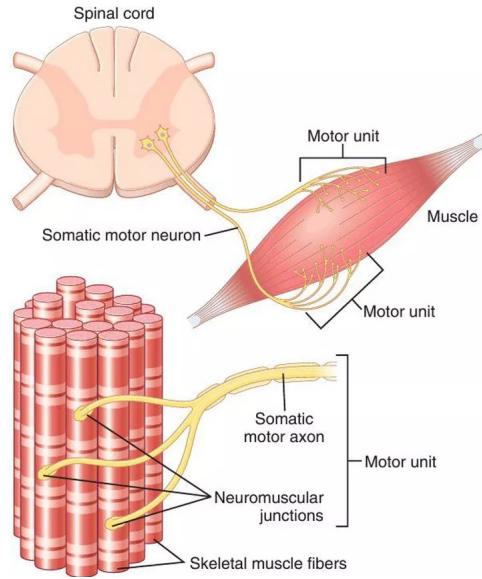


Figura 3: Rappresentazione schematica di un'unità motoria.

Esistono differenti tipologie di unità motorie, che si distinguono in base alle proprietà fisiologiche delle fibre muscolari innervate:

- unità lente (Slow, **S**), caratterizzate da fibre resistenti alla fatica ma con sviluppo di forza ridotto e contrazione più lenta;
- unità veloci affaticabili (Fast Fatigable, **FF**), capaci di sviluppare elevate tensioni ma rapidamente soggette a fatica, con contrazione molto rapida;
- unità veloci resistenti (Fast Resistant, **FR**), con caratteristiche intermedie.

[24]

L'attività delle unità motorie può essere modulata principalmente attraverso due meccanismi:

1. il *reclutamento*, ossia l'attivazione progressiva di un numero crescente di unità motorie in base alla forza richiesta;

2. il *rate coding*, cioè la variazione della frequenza di scarica dei potenziali d'azione del motoneurone, che determina la sommazione delle contrazioni muscolari nel tempo fino al tetano<sup>1</sup>.

Il principio di Henneman, o *size principle*, descrive come le unità motorie vengano reclutate in ordine crescente di dimensione: prima le piccole, lente e resistenti alla fatica, poi quelle più grandi e potenti quando è necessario un livello di forza superiore [24, 25].

L'attività elettrica delle fibre di ciascuna unità motoria, nota come potenziale d'azione dell'unità motoria (MUAP), sarà trattata nel dettaglio nel capitolo dedicato all'elettromiografia (EMG).

### 2.3 Giunzione neuromuscolare

Il potenziale d'azione del motoneurone raggiunge la giunzione neuromuscolare (NMJ), una sinapsi colinergica rapida. L'arrivo del potenziale induce l'ingresso di  $\text{Ca}^{2+}$  nella terminazione presinaptica, causando l'esocitosi di acetilcolina che si lega ai recettori nicotinici della fibra muscolare, generando il potenziale di placca e il successivo potenziale d'azione muscolare [23].

---

<sup>1</sup>Contrazione massima e sostenuta della fibra muscolare, che si ottiene quando i potenziali d'azione arrivano con frequenza tale da non permettere il rilassamento tra l'uno e l'altro.

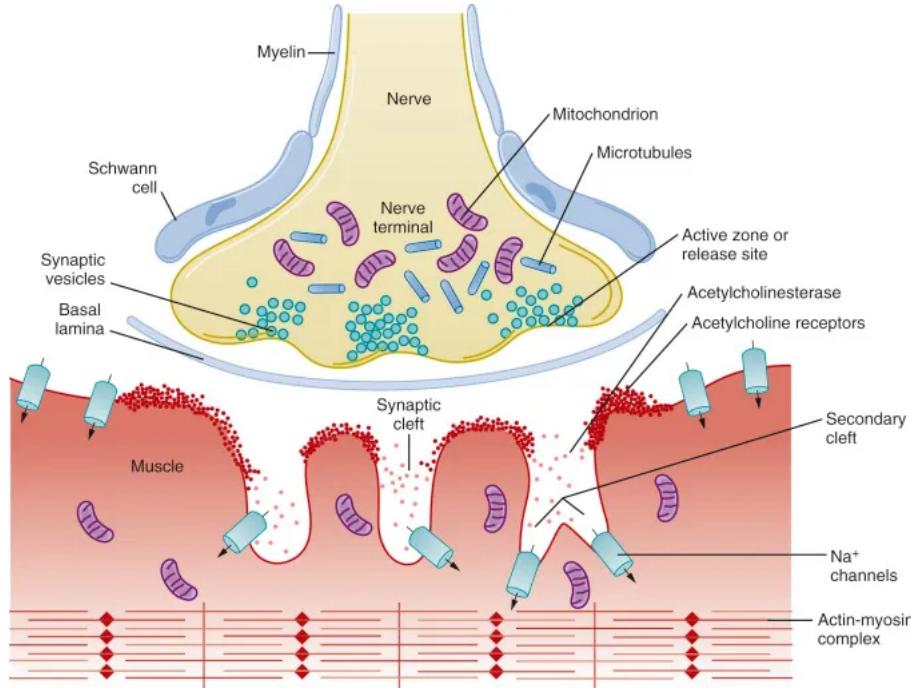


Figura 4: Rappresentazione della giunzione neuromuscolare (placca motrice).

Il potenziale si propaga lungo il sarcolemma e nei tubuli T, inducendo il rilascio di  $\text{Ca}^{2+}$  dal reticolo sarcoplasmatico. Il  $\text{Ca}^{2+}$  lega la troponina C, rimuove la tropomiosina e consente il ciclo dei ponti trasversi actina–miosina, responsabile dello scorrimento dei filamenti e quindi della contrazione della fibra muscolare [22].

## 2.4 Gastrocnemio mediale

Il muscolo gastrocnemio (più superficiale) e il soleo (più profondo) costituiscono insieme il muscolo tricipite surale, che appartiene ai muscoli del compartimento posteriore della gamba.

Il gastrocnemio presenta due capi:

- il capo mediale origina dall'epicondilo e dalla superficie posteriore del condilo mediale del femore; generalmente è più spesso e ampio rispetto al capo laterale e risulta più attivo in alcune condizioni posturali, ad esempio in posizione di *toe out*;
- il capo laterale origina dall'epicondilo laterale del femore e dalla cresta sopracondiloidea laterale, in prossimità del tendine del popliteo [26].

I due capi si dirigono distalmente delimitando la fossa poplitea e, a livello del terzo medio della gamba, confluiscano in una larga aponeurosi che continua come tendine calcaneale (tendine d'Achille).

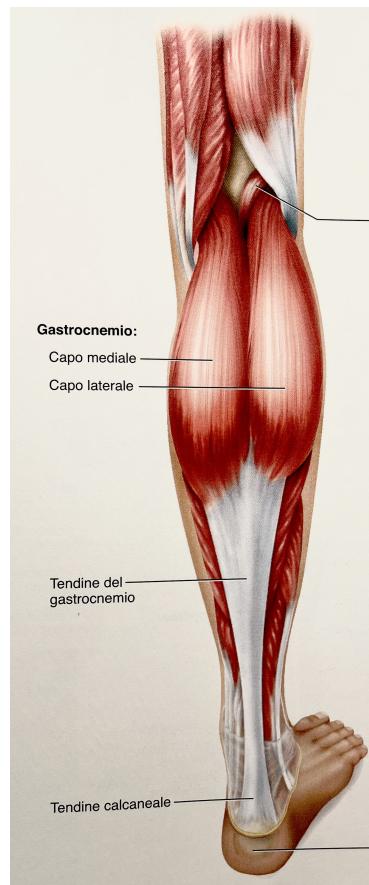


Figura 5: Muscoli superficiali del compartimento posteriore della gamba.

Il gastrocnemio, innervato dal nervo tibiale, è morfologicamente un muscolo pennato: i fascicoli di fibre si inseriscono obliquamente su un tendine che decorre lungo il muscolo, a differenza dei muscoli fusiformi, nei quali la direzione delle fibre è parallela all'asse del muscolo. Esso è un muscolo biarticolare: contribuisce in modo importante alla flessione plantare della caviglia quando il ginocchio è esteso, favorisce la supinazione del piede e partecipa, tramite i capi che originano dal femore, alla flessione del ginocchio [27, 26].

#### 2.4.1 Ruolo nella postura

Come anticipato in 1.2, in condizioni fisiologiche, il mantenimento della stazione eretta deriva dall'integrazione multimodale di afferenze visive, vestibolari e propriocettive e dalla regolazione continua della coppia alla caviglia, principalmente mediata dal tricipite surale. [28, 29, 30] Durante il controllo posturale statico e durante inclinazioni volontarie, l'attività delle UM nei gastrocnemi e nel soleo è organizzata in sottopopolazioni con compiti distinti: UM *comuni*, attive in più direzioni e responsabili della coppia plantare di sostegno necessaria a mantenere la stazione eretta; e UM *uniche*, reclutate per incrementi direzionali di coppia durante gli spostamenti del CoP con tassi di scarica più elevati quando aumentano le richieste meccaniche [16]. Evidenze più recenti mostrano che le UM comuni ricevono una quota maggiore di input sinaptico condiviso rispetto alle UM uniche, supportando un controllo neurale selettivo in funzione dei requisiti del compito di postura [17]. In *quiet standing* (stazione eretta senza perturbazioni), la stabilità posturale è controllata in modo efficiente attraverso contrazioni intermittenti e di tipo balistico dei muscoli flessori plantari [14, 15, 21, 13]. In particolare, è stato dimostrato che nel gastrocnemio mediale la contrazione è modulata da incrementi intermittenti della frequenza di scarica che permettono l'attivazione rapida e coordinata di più unità motorie in risposta agli spostamenti anteriori del CoP [13]. Il reclutamento aumenta quando il corpo oscilla in avanti

e quando la velocità delle oscillazioni (*sway*) cresce, con frequenze di scarica relativamente basse (8–10 Hz) e modulazioni temporali che garantiscono la stabilità con un’attivazione minima e senza co-contrazioni superflue [13].

### **3 Fisiopatologia della spasticità dell'arto inferiore e trattamento con tossina botulinica**

La spasticità rappresenta una delle manifestazioni principali della sindrome del primo motoneurone e si osserva frequentemente in condizioni quali ictus, sclerosi multipla, paralisi cerebrale e lesioni midollari. Viene classicamente definita come un aumento velocità-dipendente del tono muscolare e un'esar-gerazione dei riflessi da stiramento, secondari a una perdita di modulazione discendente dei circuiti spinali [31]. La sua espressione clinica è tuttavia il ri-sultato di alterazioni complesse, non solo neurali ma anche muscolo-tendinee, che influenzano profondamente le azioni quotidiane, la deambulazione e il controllo posturale, impattando sulla qualità della vita [32].

#### **3.1 Alterazioni sovraspinali e spinali**

Dopo una lesione del tratto corticospinale o delle vie corticoreticolari si osser-va una riduzione dell'inibizione proveniente dal tratto reticolospinale dorsale, accompagnata da una prevalenza dei drive eccitatori del reticolospinale me-diale e delle vie vestibolospinali. Questo squilibrio determina un aumento della sensibilità allo stiramento, agevolazione dei riflessi spinali e iperattività dei motoneuroni alfa [33].

La perdita della modulazione presinaptica delle afferenze Ia e la riorganiz-zazione maladattativa degli interneuroni spinali contribuiscono ulteriormente all'iperattività riflessa[32].

#### **3.2 Alterazioni del controllo neuromuscolare a livello di unità motoria**

La lesione del primo motoneurone comporta perdita di motoneuroni e suc-cessiva reinnervazione collaterale, con formazione di unità motorie più ampie

e meno selettive. Le unità motorie nel muscolo paretico mostrano:

- riduzione delle frequenze di scarica;
- aumentata variabilità interspike (*CoV* dell'ISI);
- reclutamento alterato rispetto alle condizioni fisiologiche;
- potenziali di unità motoria più diffusi spazialmente, indicativi di riorganizzazione strutturale [20].

### **3.3 Alterazioni periferiche e meccaniche**

Parallelamente ai cambiamenti neurali, i muscoli spastici sviluppano modificazioni strutturali rilevanti:

- aumento della stiffness muscolare dovuta a fibrosi endomisiale e riduzione dei sarcomeri in serie;
- ridotta compliance tendinea e maggiore resistenza all'allungamento;
- alterazioni del metabolismo muscolare e modificazioni del profilo delle fibre.

Questi processi contribuiscono alla componente non neurale della spasticità e giocano un ruolo determinante nelle difficoltà posturali, poiché limitano la capacità del muscolo di rispondere a variazioni rapide del carico [32].

### **3.4 Conseguenze funzionali sulla postura**

Nei soggetti post-ictus le alterazioni neuro-muscolari descritte si traducono in deficit evidenti durante la stazione eretta. È stato dimostrato un aumento dell'oscillazione posturale (postural sway), una marcata dipendenza visiva e un ricorso predominante all'arto sano per il controllo del baricentro [19]. Le

strategie stabilizzanti risultano spesso rigide, meno adattabili e caratterizzate da un’attivazione inefficace del tricipite surale paretico [34].

Il carico tende a concentrarsi sulla gamba sana, mentre l’arto paretico contribuisce in misura ridotta alla generazione dei momenti stabilizzanti alla caviglia. Tale asimmetria persiste anche dopo programmi intensivi di riabilitazione e rappresenta uno dei principali indicatori di prognosi funzionale sfavorevole [34].

Per comprendere nel dettaglio i meccanismi alterati nei soggetti spastici è necessario integrare misure biomeccaniche e neuromuscolari [35].

### **3.5 Valutazioni cliniche della spasticità**

La Scala MAS (Modified Ashworth Scale) è stata introdotta ufficialmente nel paper di Bohannon e Smith pubblicato nel 1987 sul journal Physical Therapy (Physical Therapy, 67(2), 206–207). Questo lavoro modificò la Scala Ashworth originale, aggiungendo la categoria “1+” per aumentare la sensibilità della valutazione del tono muscolare. Il paper originale fornisce la descrizione dettagliata della scala e la giustificazione per la modifica, evidenziando l’esigenza di una classificazione più fine dei livelli di spasticità. [36] Di seguito la tabella che presenta per ogni punteggio la rispettiva sintomatologia.

>Score	Ashworth Scale (Ashworth, 1964)	Modified Ashworth Scale (Bohannon & Smith, 1987)
0	No increase in tone	No increase in muscle tone
1	Slight increase in tone giving a catch when the limb was moved in flexion or extension	Slight increase in muscle tone, manifested by a catch and release or by minimal resistance at the end of the range of motion (ROM) when the affected part is moved in flexion or extension
1+	N/A	Slight increase in muscle tone, manifested by a catch, followed by minimal resistance throughout the remainder (less than half) of the ROM
2	More marked increase in tone but limb easily flexed	More marked increase in muscle tone through most of the ROM, but affected parts easily moved
3	Considerable increase in tone, passive movement difficult	Considerable increase in muscle tone, passive movement difficult
4	Limb rigid in flexion or extension	Affected part rigid in flexion or extension

Figura 6: Modified Ashworth Scale

[37]

### 3.6 Tossina botulinica di tipo A per il trattamento della spasticità

In questo contesto, la tossina botulinica (BoNT-A), la quale agisce principalmente a livello della giunzione neuromuscolare inibendo il rilascio di acetilcolina (ACh) e riducendo così l'eccitazione muscolare [4], rappresenta una terapia cardine per il trattamento focale della spasticità ed è impiegata

per ridurre quella dei tricipiti surali con efficacia documentata, soprattutto nelle regioni prossime al sito di iniezione [38, 5, 6]; il picco dell'effetto della tossina viene solitamente raggiunto dopo circa 3-5 settimane dall'iniezione. [39, 40, 41]

Nonostante la comprovata efficacia della tossina nel ridurre la spasticità, la sua reale influenza su aspetti funzionali, come il controllo posturale, resta controversa. Gli studi disponibili si basano per lo più su scale cliniche soggettive, come la *Modified Ashworth Scale* (MAS) e la *Tardieu Scale* (TS), che valutano la resistenza passiva ma non descrivono i meccanismi neuromuscolari del controllo dell'equilibrio [7, 8, 42, 43]. Anche le scale funzionali e di disabilità, pur diffuse nella pratica clinica, non permettono di isolare il contributo dei muscoli trattati né di valutare la modulazione del controllo posturale [9, 10]. Per superare tali limiti, sono state introdotte metodiche strumentali come l'*ultrasonografia* e l'*elastografia*, impiegate per valutare le modificazioni morfologiche e meccaniche del muscolo dopo la BoNT [44, 45], la *gait analysis* per quantificare le variazioni cinematiche e temporali del passo [42, 43], e la *dinamometria* per misurare in modo oggettivo la resistenza passiva e la coppia articolare [46]. Inoltre, alcuni studi hanno utilizzato l'*elettromiografia* di superficie o intramuscolare per caratterizzare gli effetti locali della BoNT sulla funzione neuromuscolare, riportando una riduzione dell'attività riflessa e dell'ampiezza dei potenziali d'azione [47, 46, 44]. Tuttavia, tali metodiche non permettono di analizzare i meccanismi neurali che regolano la postura né la modulazione delle unità motorie durante la stazione eretta.

Infine, solo pochi studi hanno analizzato parametri biomeccanici del controllo posturale, come il centro di pressione (CoP), riportando però risultati discordanti: Trappier et al. non osservarono modifiche significative dopo BoNT, mentre Kerzoncuf et al. rilevarono una riduzione dell'area del CoP nel gruppo trattato rispetto al placebo. [11, 12] Questa eterogeneità di risultati evidenzia la necessità di approcci integrati che combinino l'analisi

biomeccanica del CoP con misure neuromuscolari derivate dall'attività delle unità motorie (UM), al fine di rivelare se la riduzione del tono indotta dalla BoNT possa effettivamente tradursi in modificazioni della modulazione neurale e della risposta meccanica responsabili del controllo posturale.

## 4 Metodologie strumentali per la valutazione posturale

### 4.1 Elettromiografia ad alta densità (HD-sEMG) e decomposizione delle unità motorie

L'elettromiografia (EMG) è una tecnica diagnostica e di analisi neurofisiologica che registra l'attività elettrica prodotta dalle fibre muscolari durante contrazione o a riposo. Può essere effettuata con elettrodi ad ago (intramuscolare) o con elettrodi di superficie, consentendo di valutare il reclutamento delle unità motorie, la funzionalità neuromuscolare e la presenza di patologie che coinvolgono nervi o muscoli. È ampiamente utilizzata in clinica, riabilitazione e ricerca biomeccanica. [48]

L'EMG ad ago consente una registrazione selettiva delle unità motorie ma è invasivo e scarsamente applicabile durante compiti posturali. L'EMG di superficie tradizionale registra l'attività complessiva del muscolo, ma è limitato dal cross-talk e non consente la stima dei treni di spike né l'analisi della distribuzione spaziale dell'attivazione [49].

Secondo Merletti e Farina *Surface Electromyography: Physiology, Engineering and Applications*, la high-density surface EMG (HD-sEMG) consente una rappresentazione spaziale ad alta risoluzione dell'attività neuromuscolare grazie all'impiego di matrici di elettrodi contigui. Tale configurazione permette di ottenere mappe bidimensionali dell'attivazione muscolare, migliorare il rapporto segnale/rumore e accedere a informazioni locali sul reclutamento delle unità motorie non ottenibili con l'EMG convenzionale. [48]

L'efficacia dell'HD-sEMG nel caratterizzare in dettaglio l'attività neuromuscolare è stata confermata in diversi contesti clinici. Nei muscoli dell'arto inferiore di bambini con paralisi cerebrale, la presenza di matrici da 64 canali ha evidenziato pattern spaziali atipici dell'attivazione del gastrocnemio,

indicativi di strategie motorie alterate [50]. Analogamente, nei soggetti post-ictus, la decomposizione dell'HD-sEMG consente l'identificazione simultanea di numerose unità motorie da muscoli prossimali e distali, migliorando la resa della decomposizione e permettendo analisi avanzate come la modulazione del firing rate, la coerenza inter-muscolare e lo studio delle sinergie patologiche [51]. In parallelo, approcci di pattern recognition basati su HD-sEMG mostrano come l'alta densità elettrodica conservi un contenuto informativo ricco anche in presenza di debolezza o spasticità post-ictus, raggiungendo accuratezze elevate nel riconoscimento di movimenti complessi [52].

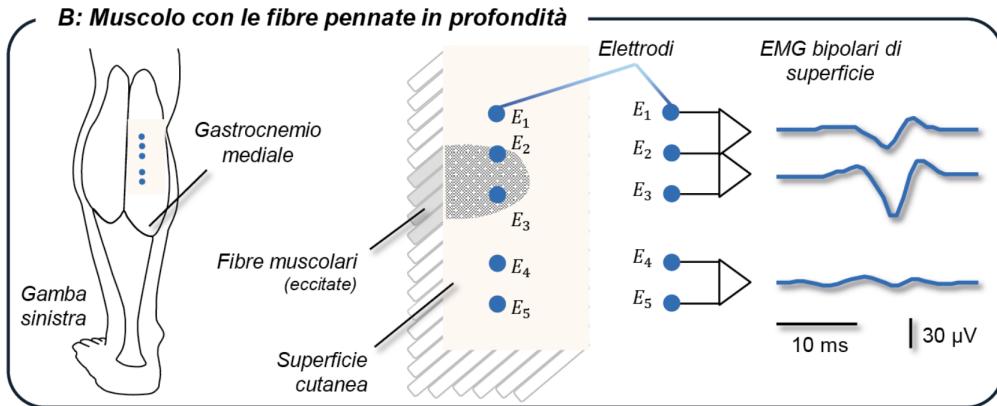


Figura 7: Esempio di EMG di superficie sperimentali ottenuti tramite multiple coppie di elettrodi posizionati su diversi punti lungo l'asse prossimo-distale del muscolo gastrocnemio mediale

[49]

Gli algoritmi di decomposizione, come il Convolution Kernel Compensation (CKC), modellano il segnale come la convoluzione tra MUAP e treni di spike, consentendo la stima non invasiva del comportamento delle unità motorie. [48]

Studi recenti hanno mostrato come la decomposizione di HD-sEMG sia in grado di caratterizzare differenze nel reclutamento e nella modulazione delle

unità motorie durante compiti posturali e di leaning direction-dependent, evidenziando un controllo selettivo di sottopopolazioni di unità motorie [16].

## 4.2 Pedane di forza e Centro di Pressione

Le pedane di forza misurano la distribuzione delle forze di reazione al suolo mediante celle di carico o trasduttori piezoelettrici disposti nei quattro angoli della piattaforma. Ciascun sensore rileva le componenti della forza lungo le tre direzioni ortogonali ( $F_x$ ,  $F_y$ ,  $F_z$ ) e i momenti associati ( $M_x$ ,  $M_y$ ,  $M_z$ ), permettendo di ricostruire la risultante della Ground Reaction Force (GRF) e la sua posizione di applicazione. L'uso di elementi piezoelettrici o strain-gauge garantisce un'elevata sensibilità, una risposta dinamica rapida e una notevole stabilità del segnale, rendendo possibile l'analisi di oscillazioni posturali anche di piccola ampiezza (sotto il millimetro). A partire dai segnali grezzi dei sensori, la piattaforma calcola il Centro di Pressione (CoP) tramite relazioni geometriche standardizzate che combinano forze verticali e momenti torcenti; il CoP rappresenta il punto virtuale in cui agisce la risultante della GRF. In condizioni di equilibrio statico, esso coincide con la risultante delle reazioni vincolari esercitate dal piano d'appoggio. Poiché riflette direttamente le strategie neuromecaniche di controllo dell'equilibrio, il CoP costituisce un indicatore fondamentale per quantificare la stabilità posturale, la modulazione del carico e le compensazioni biomeccaniche del soggetto [53]

## 5 Limiti e sintesi della letteratura

La letteratura disponibile evidenzia diversi limiti nelle valutazioni correnti della spasticità e dei suoi effetti sul controllo posturale:

- **Limiti delle scale cliniche.** Strumenti largamente utilizzati come la

Modified Ashworth Scale o la Tardieu Scale presentano bassa sensibilità, elevata variabilità inter-rater e non permettono di distinguere tra componenti neurali e strutturali della spasticità [7, 8].

- **Limiti delle misure biomeccaniche.** Le metriche derivate dal CoP forniscono una descrizione globale della stabilità, ma non consentono di inferire le alterazioni del drive discendente, della modulazione delle unità motorie o delle strategie di attivazione muscolare [30].
- **Limiti delle tecniche elettromiografiche.** L'EMG convenzionale non permette la ricostruzione dei treni di scarica delle unità motorie, mentre l'EMG intramuscolare non è applicabile in compiti posturali. La HD-sEMG supera molti di questi vincoli, ma richiede analisi specialistiche e infrastrutture avanzate [49].

In sintesi, le evidenze convergono su alcuni punti chiave:

- la BoNT-A riduce efficacemente la spasticità, ma i suoi effetti sui meccanismi neurali del controllo posturale restano poco chiari;
- le sole misure di CoP non sono sufficienti per descrivere la qualità della modulazione neuromuscolare;
- i soggetti post-ictus mostrano marcate alterazioni nella struttura e nel controllo delle unità motorie del tricipite surale;
- la decomposizione di HD-sEMG offre la possibilità di caratterizzare direttamente tali fenomeni durante compiti posturali.

Questo insieme di limiti motiva l'approccio integrato adottato nel presente studio, volto a combinare segnali di HD-sEMG decomponibili e misure basate sul CoP per analizzare in modo completo, quantitativo e fisiologicamente interpretabile l'effetto della BoNT-A sul controllo posturale.

## 6 Metodi

### 6.1 Partecipanti

A tale studio hanno preso parte ventuno soggetti con spasticità dell'arto inferiore (11 femmine; età:  $52.4 \pm 10.7$  anni; massa corporea:  $68.1 \pm 15$  kg; altezza:  $168 \pm 7$  cm), reclutati presso il Dipartimento di Neuroscienze Umane del Policlinico Umberto I (Università “La Sapienza”, Roma). Le diagnosi comprendevano esiti di ictus ischemico (n=7), ictus emorragico (n=4), sclerosi multipla (n=7) e lesione midollare incompleta (n=1). I criteri di inclusione comprendevano: età inferiore a 80 anni, diagnosi di paresi spastica del muscolo gastrocnemio mediale (MG) e capacità di mantenere la stazione eretta autonoma per almeno 60 s. Sono stati esclusi soggetti con afasia, deficit cognitivi, lesioni ortopediche agli arti inferiori, patologie reumatologiche o metaboliche, gravidanza o altre condizioni muscolo-scheletriche in grado di compromettere il controllo posturale.

Tutti i partecipanti erano in trattamento per paresi spastica con tossina botulinica di tipo A (BoNT-A) e non avevano ricevuto iniezioni nei tre mesi precedenti l'inizio dello studio. La tossina è stata infiltrata **unilateralemente** nel muscolo gastrocnemio mediale dell'arto più affetto, definito *arto studio* (S) ; l'arto controlaterale è stato considerato come *arto controllo* (C). Il numero di soggetti è stato determinato considerando un tasso di drop-out del 50% [54] e una potenza statistica del 90% per un errore di tipo I del 5%, corrispondente a un effetto atteso di 0.30 (G\*Power).

Tutti i soggetti hanno fornito consenso informato scritto secondo la Dichiarazione di Helsinki; il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico dell'Ateneo (numero di approvazione da inserire).

## 6.2 Protocollo sperimentale

Le valutazioni sono state condotte in tre sessioni: subito prima dell'iniezione di BoNT (T0), a quattro settimane (T1), ovvero nella fase di massima efficacia clinica, e a dodici settimane dall'inoculo (T2), fase di follow-up nella quale gli effetti fisiologici diretti della BoNT sono attesi in via di esaurimento. Durante ciascuna sessione, i partecipanti hanno svolto prove di stazione eretta su una pedana di forza (Kistler, modello 9286B, Svizzera) per la valutazione del centro di pressione; contemporaneamente sono state effettuate registrazioni elettromiografiche di superficie ad alta densità (HD-sEMG) del muscolo gastrocnemio mediale di entrambi gli arti. I soggetti erano invitati a posizionarsi scalzi, in postura confortevole e naturale, con i talloni allineati e le braccia lungo i fianchi. L'equilibrio in stazione eretta è stato valutato in due condizioni visive: con occhi aperti (EO) e chiusi (EC), ciascuna ripetuta in due prove della durata di 60 s, separate da intervalli di due minuti. Due operatori rimanevano accanto ai soggetti per prevenire eventuali perdite di equilibrio [19, 20].

Al termine di ciascun timepoint (T0, T1 e T2), è stata inoltre acquisita una breve registrazione di calibrazione posizionando un peso noto ( $\approx 2$  kg) al centro dell'appoggio, in corrispondenza del punto medio tra i due piedi. La posizione del centro di pressione misurata in questa condizione è stata assunta come riferimento orizzontale  $P_x$ , corrispondente alla coordinata mediolaterale del punto medio tra i piedi, successivamente utilizzata per l'allineamento dei tracciati del CoP e per il calcolo del bias medio-laterale.

I valori delle metriche calcolate (sez.6.6) sono stati mediati tra le due prove della stessa condizione visiva, per ogni partecipante e Timepoint.

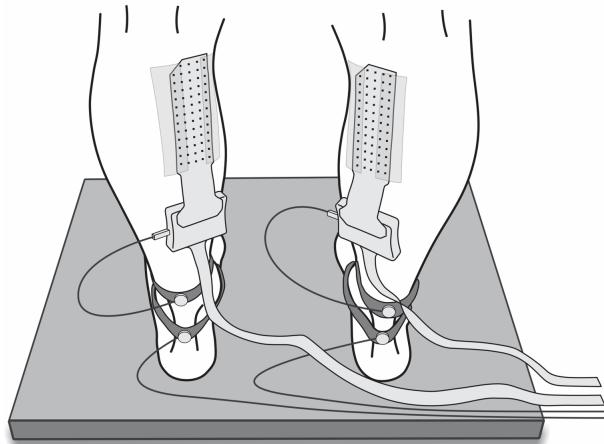


Figura 8: Set-up sperimentale per le acquisizioni elettromiografiche e stabiliometriche

### 6.3 Acquisizione dei segnali HD-sEMG e reazioni vincolari

I segnali EMG sono stati acquisiti da entrambi i muscoli gastrocnemici mediari tramite matrici di 64 elettrodi ( $13 \times 5$  canali, interelettrodo 8 mm; OT Bio-elettronica, Torino, Italia), fissate alla cute mediante dei foam biadesivi, riempite con pasta conduttrice (TEN20, Weaver, USA).



Figura 9: Matrici di 64 elettrodi per l'acquisizione di HDsEMG dei due MG.

La posizione della linea aponeurotica distale del MG è stata individuata tramite ecografia e la distanza tra tale riferimento e la plica poplitea è stata misurata per standardizzare il posizionamento. Dopo aver reso glabra e pulita la superficie della cute di interesse con pasta abrasiva (NuPrep, Weaver, USA), la matrice è stata allineata all'asse longitudinale del muscolo con il canale centrale posto a 10 cm dalla piega poplitea. I segnali sono stati amplificati di 150 V/V e campionati sincronicamente alle reazioni vincolari prelevate dai quattro sensori presenti agli angoli della pedana, con frequenza di campionamento 2048 Hz e risoluzione a 16 bit (Quattrocento, OT Bioelettronica, Torino, Italia).

## 6.4 Elaborazione dei dati

Di seguito verranno esplicitate le procedure di elaborazione dei segnali stabiliometrici acquisiti dalla pedana di forza e di quelli elettromiografici per i quali sono state effettuate elaborazioni più profonde.

### 6.4.1 CoP antero–posteriore e medio–laterale

Le reazioni vincolari durante la stazione eretta sono state registrate mediante una piattaforma di forza piezoelettrica (Kistler, modello 9286B, Winterthur, Svizzera) sincronizzata con i segnali elettromiografici. La piattaforma è dotata di quattro trasduttori piezoelettrici di forza posizionati agli angoli, che forniscono le componenti verticali delle forze  $F_{V,i}$  ( $i = 1, \dots, 4$ ) e permettono di stimare i momenti rispetto agli assi mediolaterale e antero–posteriore.



Figura 10: Pedana di forza Kistler, modello 9286B.

Il sistema di riferimento è stato fissato con origine nel **centro geometrico** della pedana; l'asse  $x$  è orientato lateralmente (positivo verso destra), l'asse  $y$  in direzione antero–posteriore (positivo in avanti) e l'asse  $z$  verticalmente

verso l'alto. Le distanze dai trasduttori al centro della piattaforma sono  $d_x = 275$  mm e  $d_y = 175$  mm, corrispondenti rispettivamente alla metà delle dimensioni lungo gli assi  $x$  e  $y$ .

I segnali di forza provenienti dai quattro sensori sono stati acquisiti a 2048 Hz con guadagno di amplificazione pari a 150 V/V. Il fattore di conversione in Newton è stato calcolato come:

$$k = \frac{5 \text{ V}}{0.5 (2^{16} - 1)} = 1.5259 \times 10^{-4} \text{ V/bit},$$

tenendo conto della dinamica a 16 bit e dell'intervallo di ingresso dell'amplificatore (5 V). I valori grezzi sono stati convertiti in Newton dividendo per la corrispondente sensibilità nominale dei sensori (in mV/N):

$$F_{V,i}(t) = \frac{V_i(t) 10^3}{S_i}.$$

Dopo filtraggio passa–basso (Butterworth del secondo ordine, frequenza di taglio 10 Hz, applicato con procedura `filtfilt` per evitare sfasamenti), i momenti rispetto agli assi della piattaforma sono stati calcolati come:

$$M_x = (F_{V,2} + F_{V,3} - F_{V,4} - F_{V,1}) d_y,$$

$$M_y = (F_{V,2} - F_{V,3} - F_{V,4} + F_{V,1}) d_x.$$

La forza totale verticale è:

$$W = \sum_{i=1}^4 F_{V,i}.$$

Le coordinate del centro di pressione (CoP) sono state ottenute come:

$$x_{\text{CoP}} = -\frac{M_y}{W}, \quad y_{\text{CoP}} = \frac{M_x}{W}.$$

Le serie temporali del CoP sono state infine detrendizzate per rimuovere eventuali offset costanti.

#### 6.4.2 Ispezione visiva e preparazione dei segnali HDsEMG

Per ciascun trial, i segnali EMG provenienti da entrambi i muscoli gastrocnemi mediali (MG) sono stati registrati in un unico file `.sig`, contenente 128 canali (64 per ciascun arto). L’ispezione preliminare e la selezione dei canali sono state eseguite mediante un’interfaccia sviluppata in MATLAB (funzione `EMGs_Visual_Inspection_OTB`, autore T. Vieira, 2015), originariamente realizzata per la revisione di segnali HD-sEMG raccolti in studi su postura e deambulazione.

L’interfaccia consente di caricare la tabella Excel contenente le informazioni relative ai file dei segnali e di selezionare, per ogni soggetto, timepoint e trial, il relativo file `.sig`. Come mostrato in 11, una volta caricato, vengono visualizzati i 128 canali disposti in griglia ( $13 \times 5$  per ciascun muscolo), corrispondenti all’organizzazione fisica della matrice di elettrodi; la convenzione scelta in fase di acquisizione ha previsto che i primi 65 canali fossero sempre riferiti ai segnali della gamba controllo.



Figura 11: Esempio di segnale HDsEMG visualizzato mediante EMG visual inspection: quella mostrata è una configurazione monopolare dove i canali designati in rosso sono stati selezionati per l'interpolazione.

L'utente può:

- alternare la visualizzazione tra modalità *monopolare* e *differenziale singola*;
- modificare la scala di visualizzazione ( $mV/div$ ) e utilizzare le funzioni di zoom e pan per analizzare i segnali a livello di singoli potenziali d'azione;
- identificare canali rumorosi o corrotti, contrassegnandoli per l'interpolazione o l'eliminazione. I canali selezionati vengono registrati in apposite colonne della tabella Excel (`EMGChsToInterpolate_Mono_`, `EMGChsToDiscard_Mono_`).

Successivamente, mediante uno script di preprocessing in MATLAB, tutti i segnali sono stati filtrati (Butterworth del secondo ordine, banda 20–400 Hz), convertiti da bit in volt tramite il fattore di scala:

$$\text{scale\_factor} = \frac{2500}{\text{gain} (2^{16} - 1)},$$

e troncati conservando i 50 s centrali di registrazione per minimizzare gli artefatti iniziali e finali.

I canali marcati per interpolazione sono stati ricostruiti sulla base dei segnali adiacenti, mentre quelli irrecuperabili sono stati sostituiti con valori NaN. Dopo la riorganizzazione dei canali secondo la mappatura fisica della matrice, i segnali sono stati suddivisi in due set indipendenti:

- **data\_EMG\_control**: 64 canali relativi all'arto controllo;
- **data\_EMG\_study**: 64 canali relativi all'arto studio (trattato con BoNT).

Per ciascun set è stata generata una struttura `.mat` conforme ai requisiti dell'algoritmo di decomposizione (*Decompose-MU Software, DEMUSE*), contenente:

- la matrice di celle **SIG** ( $13 \times 5$ ) con i segnali EMG;
- la frequenza di campionamento ( $f_s = 2048$  Hz);
- la distanza inter–elettrodica ( $IED = 8$  mm);
- la lunghezza dei segnali (**signal\_length**);
- la descrizione del file (**description**) e le coordinate del centro di pressione (**ref\_signal** = [ $x_{CoP}, y_{CoP}$ ]) sincronizzate con gli EMG.

Le strutture relative ai due arti sono state salvate separatamente nella cartella **ForDecomp**, in formato **.mat**, con suffisso “\_C” (control limb) o “\_S” (study limb). Questi file costituiscono gli input per lo step successivo dell’analisi, ovvero la decomposizione in unità motorie.

## 6.5 Decomposizione dei segnali HDsEMG, ispezione ed editing delle singole unità motorie

Dopo le operazioni di pre–processing descritte in precedenza, i segnali HDsEMG sono stati sottoposti a decomposizione mediante il software DEMUSE (*Decompose Motor Unit Software*) [55], che consente l’identificazione semi–automatica dei treni di scarica delle singole MU. Il software implementa l’algoritmo di *Convolution Kernel Compensation* (CKC) proposto da Holobar e Zazula [56], basato su tecniche di *blind source separation* e di convoluzione inversa, che sfruttano la ridondanza spaziale delle griglie di elettrodi per stimare le sorgenti motorie indipendenti. L’affidabilità del metodo è stata ampiamente dimostrata in studi sperimentali e di simulazione [57].

**Procedura di decomposizione** I file preprocessati (**.mat**), contenenti i 64 canali relativi rispettivamente all’arto studio e all’arto controllo, sono stati importati e composti in DEMUSE in modalità *batch*. Per ciascun trial,

sono stati stimati i treni di scarica delle MU e successivamente, a partire dagli istanti di sparo sono stati ottenuti i potenziali d’azione medi (*Motor Unit Action Potentials*, MUAPs) tramite *Spike-Triggered Averaging* (STA). In uscita, per ogni unità sono stati salvati i tempi di scarica, la forma d’onda media, il *Pulse-to-Noise Ratio* (PNR), utilizzato per valutare la qualità della decomposizione. I risultati sono stati esportati in formato .mat per successive analisi e controlli di qualità.

**Ispezione visiva e selezione preliminare delle MU** Al termine della decomposizione, i file di output sono stati elaborati in MATLAB per una verifica preliminare della qualità dei risultati. Per ciascuna MU sono stati ricostruiti il MUAP e la mappa bidimensionale della distribuzione spaziale delle ampiezze RMS sull’intera griglia HDsEMG, come mostrato in figura 12. Sono state mantenute solo le unità con morfologia fisiologica e pattern coerente con una sorgente motoria localizzata, mentre sono state scartate le MU caratterizzate da:

- MUAP caotici, piatti o con polarità invertite;
- mappe RMS prive di un massimo definito o distribuite su più zone della matrice;
- valori di PNR inferiori a 20 dB.

[58] In questa fase, l’ispezione è stata condotta sia in configurazione singolo differenziale (SD) sia in modalità monopolare (MONO), in modo da identificare eventuali distorsioni dovute alla distanza elettrodo-fibra [59]. Le MU considerate fisiologiche sono state contrassegnate e conservate per la successiva fase di editing degli istanti di scarica in DEMUSE.

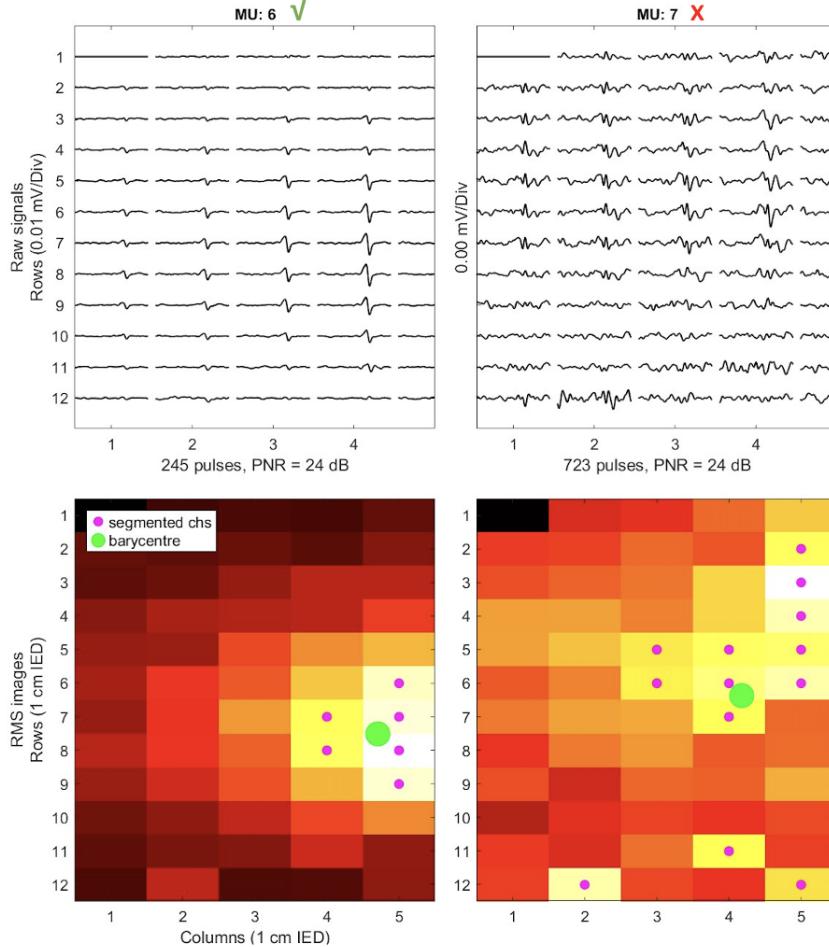


Figura 12: Esempio di preselezione di unità motorie: in alto sono mostrati i MUAP medi, in basso la distribuzione spaziale delle ampiezze RMS. La MU a sinistra mostra un andamento spaziale dei potenziali coerente e privo di rumore, al contrario della MU a destra che mostra soltanto del rumore.

**Editing manuale e validazione** Le unità motorie che hanno superato la preselezione automatica sono state successivamente esaminate in DEMUSE tramite l’interfaccia grafica dedicata, accessibile tramite la voce *CKC inspec-tor*. L’editing manuale ha previsto la verifica della regolarità temporale dei

treni di scarica (*spike trains*) e della coerenza morfologica dei MUAP, seguendo i criteri proposti da Holobar e Farina [56] e Del Vecchio *et al.* [57]. Al termine di ogni modifica veniva effettuato un *reinforce PT* per validare le modifiche effettuate, verificando un aumento/diminuzione del PNR. Sono state rimosse le unità che presentavano:

- frequenze di scarica non fisiologiche ( $> 35$  Hz);
- pattern disperso o “a nuvola di punti”, indicativo di scariche inconsistenti;
- un PNR inferiore a 20 dB al termine delle modifiche.

Durante la revisione qualitativa, il del CoP antero–posteriore è stato utilizzato come riferimento ausiliario per verificare la coerenza temporale tra l’attività delle MU e le oscillazioni posturali, senza imporre vincoli diretti di sincronismo. L’intervento manuale è stato limitato alle sole unità con anomalie evidenti, in modo da preservare il più possibile la struttura originaria dei treni di scarica.

Le MU fisiologicamente affidabili e con firing regolare sono state quindi conservate e utilizzate per il calcolo delle metriche posturali e neuromuscolari. In figura 13 e 14 sono mostrati due esempi rappresentativi di unità rispettivamente accettata e scartata in base ai criteri sopra descritti.

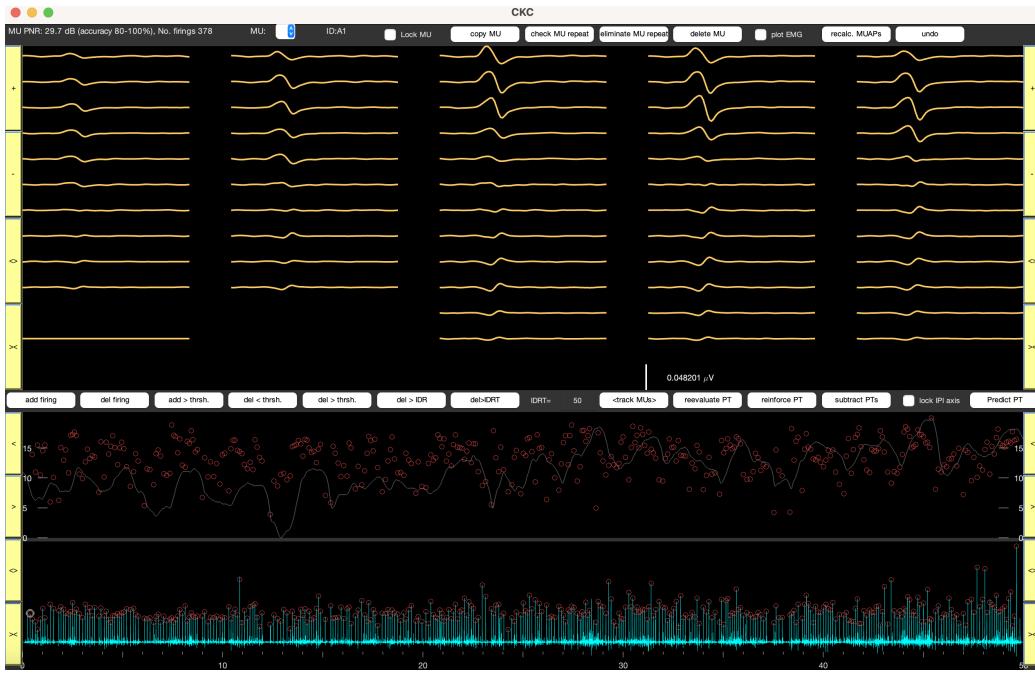


Figura 13: Esempio di unità motoria fisiologicamente valida: morfologia regolare del MUAP e firing stabile e coerente nel tempo.

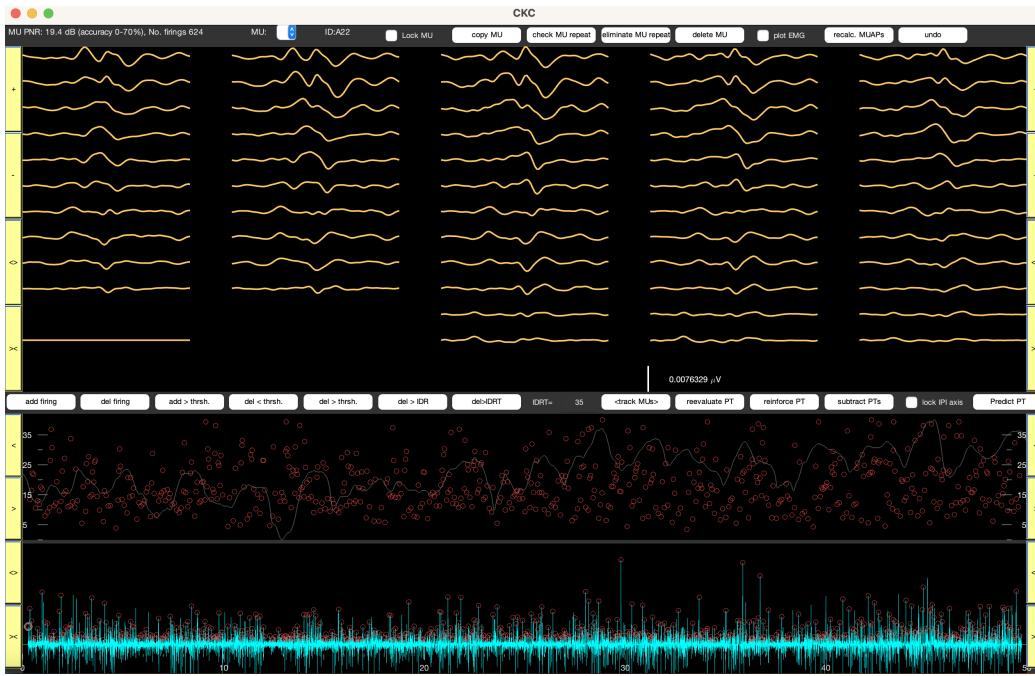


Figura 14: Esempio di unità motoria esclusa: forma d'onda irregolare e firing instabile con pattern disperso.

## 6.6 Analisi dei dati elettromiografici e stabilometrici

In questa sezione verranno elencate e spiegate nel dettaglio tutte le metriche che sono state selezionate al fine di rispondere in maniera esaustiva alla domanda posta nell'introduzione. Verranno utilizzati, sia separatamente che in maniera integrata, i dati del centro di pressione (stabilometrici) e i dati delle unità motorie individuate dalla decomposizione degli EMG grezzi (elettromiografici).

### 6.6.1 Metriche sul CoP

Tali metriche sono state ottenute utilizzando le coordinate del CoP, calcolate come descritto in 6.4.1. In particolare, sono state calcolate: l'area ellittica del percorso del CoP, la deviazione standard degli spostamenti lungo entrambe le direzioni (SD), la velocità media(MV) e la posizione media rispetto al centro dell'appoggio (Bias medio–laterale).

**Area ellittica** L'area ellittica del CoP, definita come l'area dell'ellisse minima contenente il 95% dei punti del tracciato del centro di pressione, è comunemente utilizzata come indice dell'ampiezza della *dispersione spaziale* dello stesso durante il *quiet standing*. [16, 60] Il calcolo si basa sulle componenti antero-posteriore ( $y_{\text{CoP}}$ ) e medio-laterale ( $x_{\text{CoP}}$ ) del segnale, utilizzate per costruire la matrice di covarianza:

$$\Sigma = \begin{bmatrix} \text{var}(x_{\text{CoP}}) & \text{cov}(x_{\text{CoP}}, y_{\text{CoP}}) \\ \text{cov}(y_{\text{CoP}}, x_{\text{CoP}}) & \text{var}(y_{\text{CoP}}) \end{bmatrix} \quad (1)$$

$$A_{\text{ellisse}} = \pi k^2 \sqrt{\lambda_1 \lambda_2} \quad (2)$$

Gli autovalori  $\lambda_1$  e  $\lambda_2$  della matrice di covarianza  $\Sigma$ , rappresentano le varianze lungo gli assi principali dell'ellisse di dispersione, mentre  $k$  è un *confidence factor* che determina la percentuale di punti del tracciato del CoP inclusi all'interno dell'ellisse. Nel presente studio è stato utilizzato  $k = 1.96$ , corrispondente a un livello di confidenza del 95%, come adottato da [61] e successivamente ripreso in lavori più recenti [16].

**Deviazione standard (SD)** Essa è stata calcolata separatamente per le componenti antero-posteriore ( $y_{\text{CoP}}$ ) e medio-laterale ( $x_{\text{CoP}}$ ), al fine di quantificare la variabilità spaziale delle oscillazioni posturali lungo i due assi principali. La deviazione standard, nel suo calcolo discreto, è definita come:

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_{\text{CoP}}(i) - \bar{x}_{\text{CoP}})^2}, \quad \sigma_y = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (y_{\text{CoP}}(i) - \bar{y}_{\text{CoP}})^2} \quad (3)$$

dove  $x_i$  e  $y_i$  rappresentano i campioni delle coordinate del CoP e  $\bar{x}$ ,  $\bar{y}$  le loro medie temporali. Nel presente studio, tali valori corrispondono alle radici quadrate degli elementi diagonali della matrice di covarianza (1), già calcolata per la stima dell'area ellittica del CoP, secondo la relazione:

$$\sigma_x = \sqrt{\Sigma_{11}}, \quad \sigma_y = \sqrt{\Sigma_{22}}$$

È stato inoltre calcolato un indice sintetico di variabilità complessiva del CoP nel piano, definito come deviazione standard risultante:

$$\sigma_{\text{res}} = \sqrt{\sigma_x^2 + \sigma_y^2} \quad (4)$$

**Velocità media del CoP (MV)** La velocità media del centro di pressione è stata calcolata per descrivere la rapidità degli spostamenti posturali nel piano d'appoggio. Sono state considerate le componenti antero-posteriore ( $y_{\text{CoP}}$ ) e medio-laterale ( $x_{\text{CoP}}$ ). Gli *spostamenti successivi* del CoP lungo ciascun asse sono stati definiti come:

$$\Delta x_i = x_{\text{CoP}}(i+1) - x_{\text{CoP}}(i), \quad \Delta y_i = y_{\text{CoP}}(i+1) - y_{\text{CoP}}(i),$$

dove  $i = 1, \dots, N-1$  ed  $N$  è il numero totale di campioni del segnale. La velocità media lungo i due assi è stata quindi calcolata come:

$$MV_x = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^{N-1} |\Delta x_i|, \quad MV_y = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^{N-1} |\Delta y_i|, \quad (5)$$

dove  $T$  è la durata del trial, pari a  $T = N/f_s$  con  $f_s$  frequenza di campionamento.

La **velocità media complessiva** del CoP è stata ottenuta come:

$$MV_{\text{tot}} = \frac{1}{T} \sum_{i=1}^{N-1} \sqrt{(\Delta x_i)^2 + (\Delta y_i)^2}. \quad (6)$$

Tutte le velocità sono espresse in unità coerenti con le coordinate del CoP (ad esempio mm/s).

**Bias medio–laterale del CoP** Per quantificare lo sbilanciamento destra/sinistra, il tracciato viene allineato rispetto al centro dell'appoggio, calcolando la posizione relativa di  $x_{\text{CoP}}$  rispetto alla coordinata medio–laterale del punto medio tra i piedi  $P_x$ :

$$x_{\text{rel}}(i) = x_{\text{CoP}}(i) - P_x,$$

con  $P_x$  costante per soggetto e timepoint. Il bias medio–laterale è quindi definito come la media temporale di tale posizione relativa del CoP:

$$\mu_{ML} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_{\text{rel}}(i) = \overline{x_{\text{CoP}}} - P_x. \quad (7)$$

Per la convenzione adottata, un valore positivo di  $\mu_{ML}$  indica uno spostamento verso l'arto controllo. Le unità sono coerenti con  $x_{\text{CoP}}$  e  $P_x$  (mm).

### 6.6.2 Metriche sulle Unità motorie

Per quanto concerne tutte le metriche riportate in questa sottosezione, esse sono state calcolate a partire dai firings, estratti e successivamente editati, di ciascuna unità motoria individuata durante la decomposizione. Nell'ordine verranno analizzate: la frequenza media di scarica dell'unità motoria (mFR), il coefficiente di variazione dell'intervallo inter-spike (CoV ISI), l'indice di intermittenza (intermittency), la (MU discharge–CoP distribution) e la funzione di coerenza tra l'andamento del CoP lungo l'asse antero-posteriore e il Cumulative Spike Train (CST) delle MU identificate, per ciascun trial. (CST- $y_{\text{CoP}}$  Coherence). Le ultime due metriche elencate, che integrano le informazioni dei firings con i dati del centro di pressione, sono state scelte per descrivere l'accoppiamento funzionale tra l'attivazione muscolare e il controllo posturale.

**mean Firing Rate (mFR)** La *frequenza di scarica media* quantifica il numero medio di potenziali d'azione generati da una singola unità motoria (*motor unit*, MU) nell'unità di tempo durante il task. Essa è stata calcolata a partire dagli intervalli inter-scarica (*inter-spike intervals*, ISI), determinati come differenza tra due istanti consecutivi di scarica della stessa MU. Nel dettaglio, siano  $\{t_k\}_{k=1}^N$  gli istanti di scarica validati della stessa MU (in secondi). Gli intervalli inter-scarica sono definiti come:

$$\text{ISI}_i = t_{i+1} - t_i, \quad i = 1, \dots, N - 1.$$

Prima del calcolo, sono stati rimossi gli ISI non fisiologici, in accordo con quanto riportato in letteratura [62]. In particolare, sono stati esclusi:

- gli ISI inferiori a 25 ms, corrispondenti a frequenze di scarica superiori a 40 pps, considerate atipiche per scariche volontarie;

- gli ISI superiori a 250 ms, associati a frequenze inferiori a 4 pps, indicativi di periodi di inattività o potenziali artefatti.

La frequenza di scarica media è stata quindi calcolata per ciascuna unità motoria come:

$$mFR = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N-1} \frac{1}{ISI_i}, \quad (8)$$

dove  $N$  rappresenta il numero totale di scariche valide della MU e  $ISI_i$  è espresso in secondi.

**Coefficient of Variation of Inter-Spike Interval (CoVISI)** Il *coefficiente di variazione dell'intervallo inter-scarica* esprime la variabilità temporale nella sequenza di scariche di una singola unità motoria. È definito come il rapporto tra la deviazione standard e la media degli intervalli inter-scarica, espresso in percentuale:

$$CoVISI = \frac{\sigma_{ISI}}{\mu_{ISI}} \times 100, \quad (9)$$

dove  $\sigma_{ISI}$  e  $\mu_{ISI}$  rappresentano rispettivamente la deviazione standard e la media degli ISI validi.

Anche in questo caso, per il calcolo sono stati esclusi gli ISI superiori a 250 ms, al fine di evitare distorsioni dovute a lunghi periodi di silenzio o a possibili artefatti.

**Intermittency** L'*indice di intermittenza* quantifica la presenza di pause prolungate nell'attività di scarica delle unità motorie, interpretate come periodi di dereclutamento temporaneo o di ridotta attivazione sinaptica [13]. Per ciascuna MU, tale indice è stato calcolato come la percentuale di intervalli inter-scarica (*inter-spike intervals*, ISI) superiori a 250 ms, soglia comunemente adottata in letteratura per identificare fasi di inattività:

$$\text{Intermittenza} = \frac{\#(\text{ISI} > 250 \text{ ms})}{\text{totale ISI}} \times 100. \quad (10)$$

**MU discharge – CoP distribution** Il profilo di reclutamento posturale delle unità motorie è stato calcolato per quantificare la relazione tra l'attività delle MU e la posizione del centro di pressione (CoP), seguendo l'approccio proposto da Vieira et al. [13].

Per ciascun trial, il segnale antero-posteriore del CoP ( $y_{\text{CoP}}$ ) è stato suddiviso in **otto bin percentili** compresi tra il 10° e il 90° percentile, così da escludere le posizioni estreme raramente occupate durante la stazione eretta. I limiti di ciascun intervallo ( $P_1, P_2, \dots, P_9$ ) sono stati determinati tramite la funzione `prctile` di Matlab, in corrispondenza dei percentili 10, 20, …, 90.

Per ogni unità motoria  $j$ , si dispone del vettore  $\text{MUPulses}\{j\}$ , contenente gli indici temporali dei campioni in cui la MU ha scaricato. Poiché il segnale  $y_{\text{CoP}}$  e i treni di impulsi sono sincronizzati e campionati alla stessa frequenza, a ciascun indice di scarica corrisponde direttamente un valore di  $y_{\text{CoP}}$ . È stato quindi costruito, per ogni MU, il vettore dei valori del CoP agli istanti di scarica:

$$\mathbf{y}_{\text{CoP}}^{(j)} = [y_{\text{CoP}}(t_1), y_{\text{CoP}}(t_2), \dots, y_{\text{CoP}}(t_{N_j})],$$

dove  $t_k \in \text{MUPulses}\{j\}$  e  $N_j$  è il numero totale di scariche della MU<sub>j</sub>.

A partire da questo vettore, è stato calcolato per ogni MU<sub>j</sub> un **vettore di otto elementi**:

$$\mathbf{N}_{\text{spike}}^{(j)} = [N_{\text{spike},1}^{(j)}, N_{\text{spike},2}^{(j)}, \dots, N_{\text{spike},8}^{(j)}],$$

in cui ogni componente  $N_{\text{spike},p}^{(j)}$  rappresenta il numero di scariche avvenute mentre il valore di  $y_{\text{CoP}}$  ricadeva nel corrispondente intervallo percentilare.

Il vettore  $\mathbf{N}_{\text{spike}}^{(j)}$  descrive quindi la distribuzione delle scariche della MU<sub>j</sub> lungo la posizione antero-posteriore del CoP. Successivamente, i conteggi

sono stati mediati tra le diverse MU identificate in ciascun trial e gamba, calcolando per ogni bin  $p$  il numero medio di scariche:

$$\bar{N}_{spike,p} = \frac{1}{N_{MU}} \sum_{j=1}^{N_{MU}} N_{spike,p}^{(j)}, \quad (11)$$

ottenendo un vettore medio di otto elementi che rappresenta il profilo medio di distribuzione delle scariche in funzione della posizione del CoP per il singolo trial.

**CST–CoP Coherence** La coerenza in frequenza tra la modulazione del firing rate delle unità motorie e la componente antero–posteriore del centro di pressione (CoP) è stata stimata seguendo l'approccio proposto da Laine *et al.* e Borzelli *et al.* [63, 64].

Poiché l'analisi di coerenza richiede una stima stabile del *common synaptic drive*, sono stati esclusi i trial contenenti una sola unità motoria ( $n_{MU} = 1$ ). In accordo con Laine *et al.*, che suggeriscono una soglia di  $n_{MU} \geq 3$ , si è adottato il criterio meno restrittivo  $n_{MU} \geq 2$ , al fine di preservare un numero adeguato di prove nel dataset [63]. Per ciascuna unità motoria  $j$ , il treno di spike binario  $s_j(t_i)$  è stato definito come:

$$s_j(t_i) = \begin{cases} 1, & \text{se la MU } j \text{ scarica nell'istante } t_i, \\ 0, & \text{altrimenti.} \end{cases} \quad (12)$$

Per ciascun trial, i treni di spike binari  $s_j(t_i)$  delle singole MU sono stati combinati mediante somma:

$$CST(t_i) = \sum_{j=1}^{N_{MU}} s_j(t_i), \quad (13)$$

in accordo con la definizione di *Cumulative Spike Train* adottata negli studi sul common synaptic input [16, 17].

La coerenza tra CST e CoP è stata calcolata mediante la funzione `mscohore` di MATLAB, che implementa il metodo di Welch. Sono state impiegate finestre di Hann, per minimizzare il leakage di potenza, della durata di 10 s, senza sovrapposizione, ottenendo una risoluzione in frequenza  $df = 0.1$  Hz. Questa configurazione consente di analizzare l'intera banda 0–5 Hz, nella quale risiede il *common synaptic input* alle unità motorie [63, 64, 17]. All'interno della stessa banda si collocano anche le oscillazioni spontanee del centro di pressione: come si evince da Winter et al. e da Zatsiorsky e Duarte, la maggior parte della potenza del segnale CoP durante la stazione eretta è concentrata nelle basse frequenze, prevalentemente al di sotto di 1 Hz. [65] [66] [14]

La coerenza è definita come:

$$\text{Coh}(f) = \frac{|S_{xy}(f)|^2}{S_{xx}(f) S_{yy}(f)}, \quad (14)$$

dove  $S_{xx}$  e  $S_{yy}$  sono gli auto-spettri di CST e CoP, mentre  $S_{xy}$  è lo spettro incrociato.  $\text{Coh}(f) \in [0, 1]$  è definita nell'intervallo  $[0, f_{\text{Nyq}}]$ , con  $f_{\text{Nyq}}$  che rappresenta la frequenza di Nyquist, ovvero la metà della frequenza di campionamento.

Poiché le oscillazioni del CoP nelle basse frequenze non sono omogenee ma comprendono componenti con significato fisiologico distinto, la banda 0–5 Hz è stata suddivisa in due sottobande. In particolare, secondo il modello rambling–trembling proposto da Zatsiorsky e Duarte [65], il segnale del CoP è costituito da una componente estremamente lenta (*rambling*), con un picco attorno a 0.16 Hz, e da una componente più rapida (*trembling*), con un picco attorno a 0.67 Hz. Sulla base di questi valori, la soglia di 0.5 Hz è stata adottata come confine fisiologicamente motivato per separare le due

dinamiche.

La coerenza media è stata quindi calcolata separatamente nelle due sottobande:

$$\overline{\text{Coh}}_{0-0.5} = \frac{1}{N_{0-0.5}} \sum_{f \in [0,0.5] \text{ Hz}} \text{Coh}(f), \quad \overline{\text{Coh}}_{0.5-5} = \frac{1}{N_{0.5-5}} \sum_{f \in [0.5,5] \text{ Hz}} \text{Coh}(f), \quad (15)$$

per distinguere la sincronizzazione tra CST e CoP associata alle oscillazioni estremamente lente del corpo ( $<0.5$  Hz) da quella legata alle componenti più rapide (0.5–5 Hz), che riflettono la dinamica correttiva posturale descritta nel modello di Zatsiorsky e Duarte. [65]

## 6.7 Analisi statistica

L’analisi statistica è stata svolta in RStudio<sup>®</sup> (versione 2025.09.1) utilizzando R (versione 4.5.1).

Per ciascuna metrica del CoP è stato stimato un modello lineare misto a due vie, con fattori fissi *Timepoint* (T0, T1, T2) e *Condition* (EO, EC), e con effetto casuale del soggetto (intercetta casuale) per modellare la variabilità intra-individuale.

Per le metriche derivate dalle MU e per gli indici di coerenza CST–CoP, è stato stimato un modello lineare misto a tre vie, con fattori fissi *Timepoint*, *Condition* e *Leg* (C ed S), includendo l’effetto casuale del soggetto.

L’assunzione di normalità dei residui è stata verificata mediante ispezione visiva dei quantile–quantile plot (QQ–plot) e dell’andamento dei residui standardizzati rispetto ai valori predetti;

Gli effetti principali e le interazioni tra i fattori sono stati valutati tramite analisi della varianza (ANOVA) sui modelli misti. Nel caso in cui venissero riscontrate interazioni tra i fattori, vengono eseguiti dei confronti post–hoc a coppie tra i livelli dei fattori tramite stime marginali (emmeans), applicando correzione di Bonferroni per confronti multipli.

Il livello di significatività è stato fissato a  $\alpha = 0.05$ . Per ciascuna metrica, i valori di  $p$  relativi agli effetti principali, alle interazioni e ai confronti post–hoc sono stati salvati e successivamente riportati nella sezione dei Risultati.

### 6.7.1 Analisi statistica per il profilo di distribuzione delle scariche

Per quanto riguarda la *MU discharge – CoP distribution* è stato utilizzato il coefficiente di correlazione di Pearson, il quale assume valori compresi tra -1 ed 1 e quantifica il grado di dipendenza lineare tra due variabili (1 dipendenza perfetta diretta, -1 inversa); valori più vicini a 0 indicano una distribuzione circa costante della variabile dipendente, mentre valori più vicini

a 1 indicano una minima dispersione dei dati rispetto alla retta. Si è scelto di utilizzare tale coefficiente in accordo con lo studio di Vieira *et. al* del 2012 nel quale, il numero medio di scariche in relazione alla posizione del CoP antero-posteriore, in condizioni fisiologiche, mostrava un andamento monotono crescente con un valore del coefficiente di Pearson R=0.63 ( $p<0.0001$ ) [13].

Nel contesto di tale metrica, la posizione del CoP Antero-posteriore, identificata dalle posizioni centrali dei bin percentilari, rappresenta la variabile indipendente, mentre la variabile dipendente è costituita dal numero medio di spari che occorre in un bin.

Sono stati dunque stimati in ambiente MATLAB i coefficienti di Pearson per tutte le combinazioni(Timepoint x Leg x Condition) ed i relativi *p-value*.

Successivamente, per tutti i casi in cui è risultato un  $p < \alpha$ , è stata effettuata la regressione lineare per ottenere i parametri della retta, ovvero intercetta  $\beta_0$  e pendenza  $\beta_1$ , insieme ai rispettivi intervalli di confidenza.

## 7 Risultati

In questo capitolo verranno presentati i risultati di tutte le metriche calcolate con annessa significatività statistica ( $p < 0.05$ ), ove presente.

Per consentire la visualizzazione della distribuzione dei valori di ciascuna metrica, a eccezione della *MU discharge-CoP AP distribution*, sono stati realizzati dei boxplot, i quali consentono di osservare eventuali differenze tra i fattori. Nei boxplot, eventuali cerchi vuoti indicano gli *outlier*, definiti come osservazioni che ricadono al di fuori dell'intervallo:

$$[Q_1 - 1.5 \times IQR, Q_3 + 1.5 \times IQR]$$

dove  $IQR = Q_3 - Q_1$ . I quartili rappresentano i punti che suddividono la distribuzione dei dati ordinati in quattro parti di uguale numerosità:  $Q_1$  è il 25° percentile,  $Q_2$  è la mediana (50° percentile) e  $Q_3$  è il 75° percentile. Questa definizione coincide con il criterio adottato da MATLAB per l'identificazione degli outlier nei boxplot.

I *whiskers* si estendono fino ai valori minimo e massimo non considerati outlier, cioè fino alle osservazioni comprese rispettivamente entro  $[Q_1 - 1.5 \times IQR]$  e  $[Q_3 + 1.5 \times IQR]$ .

I confronti effettuati differiscono in base alla metrica trattata e alle significatività dei fattori riscontrate, nello specifico:

- **Metriche del CoP** 6.6.1: vengono confrontati i valori ottenuti tra le due condizioni visive (EO ed EC), in quanto, per ciascuna di esse, non si sono riscontrati effetti significativi per il fattore *Timpoint* ma soltanto per *Condition*, con valori di *p.value* tutti inferiori a 0.0001. Inoltre non sono state riscontrate interazioni significative tra i due; L'unica eccezione rappresenta quella del *bias CoP ML*, il quale non ha mostrato alcun effetto significativo per i singoli fattori, né interazione tra essi.

- **Metriche delle MU** 6.6.2: vengono confrontati i valori ottenuti tra le due gambe (S e C), condensando i valori di T0, T1, T2, EO ed EC, in quanto, per ciascuna di esse, non si sono riscontrati effetti significativi né per il fattore *Timepoint* né per *Condition* ma soltanto per *Leg*, con valori di *p.value* tutti inferiori a 0.0001. Inoltre non sono state riscontrate interazioni significative tra i tre fattori;
- **Metriche interazione MUxCoP:**

**CST–CoP AP coherence** 6.6.2, vengono confrontati i valori ottenuti tra le due gambe (S e C), condensando i valori di T0, T1, T2, EO ed EC, e tra le due condizioni visive, condensando i valori di T0, T1, T2, S e C, in quanto, per entrambe le bande(0-0,5 Hz e 0,5-5 Hz), si è riscontrato un effetto significativo per il fattore *Condition* e per il fattore *Leg* ma non per *Timepoint*. Inoltre non sono state riscontrate interazioni significative tra i tre fattori.

**MU discharge- CoP AP distribution** 6.6.2 Per ciascuna condizione visiva, Timepoint e gamba, sono stati prodotti degli grafici con istogrammi, dei quali le altezze indicano il numero medio di spike delle MU per bin percentilare. Per ciascuna combinazione (Timepoint X Leg X Condition) il coefficiente di correlazione di Pearson *R* ha assunto valori superiori a 0.8 con *p*<0.05, pertanto è stata effettuata la regressione lineare ottenendo intercetta e pendenza;

## 7.1 Metriche del CoP

Di seguito vengono mostrati i boxplot ottenuti per tutte le metriche del CoP, compresa la suddivisione nelle due componenti (Antero-Posteriore e Medio-Laterale) per la deviazione standard e la velocità media.

A eccezione del *bias ML*, tutti i boxplot mostrano valori maggiori per la condition EC: per l'area ellittica, ad esempio, il primo e il terzo quartile si trovano in corrispondenza di  $100.6 \text{ mm}^2$  (Q1) e  $454.3 \text{ mm}^2$  (Q3) per EO e di  $140.7 \text{ mm}^2$  e  $698.5 \text{ mm}^2$  per EC; per la velocità media, la mediana ad EO risulta pari a  $10.86 \text{ mm/s}$ , mentre ad EC  $18.46 \text{ mm/s}$ ; per la deviazione standard si hanno dei whiskers pari a  $[3.007 \text{ } 15.82] \text{ mm}$  ad EO e  $[3.75 \text{ } 23.05] \text{ mm}$ .

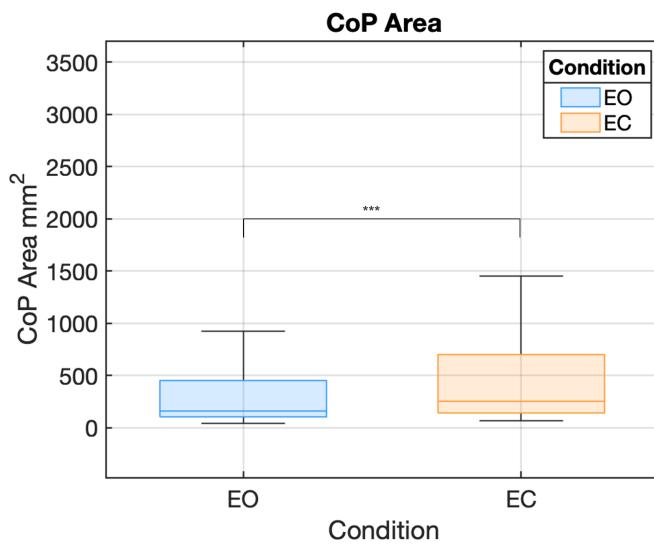


Figura 15: Distribuzione die valori dell'area ellittica del CoP per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p < 0.0001$ .

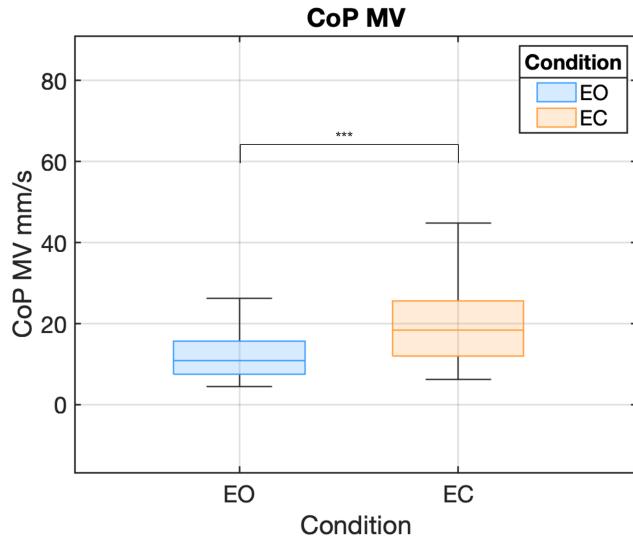


Figura 16: Distribuzione dei valori della velocità media del CoP per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p<0.0001$ .

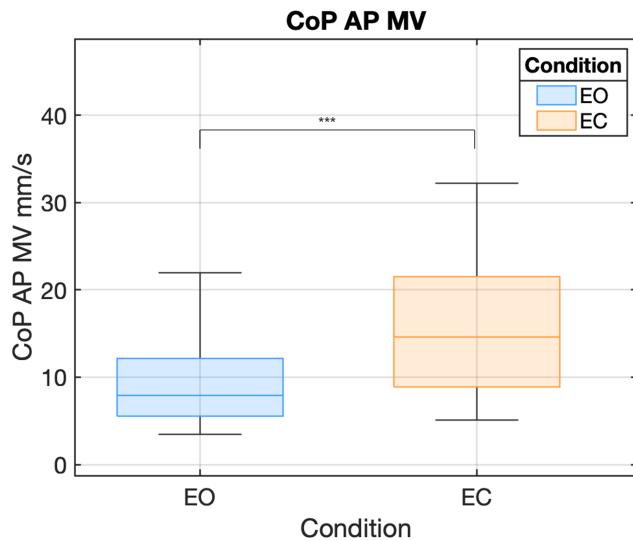


Figura 17: Distribuzione dei valori della velocità media del CoP AP per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p<0.0001$ .

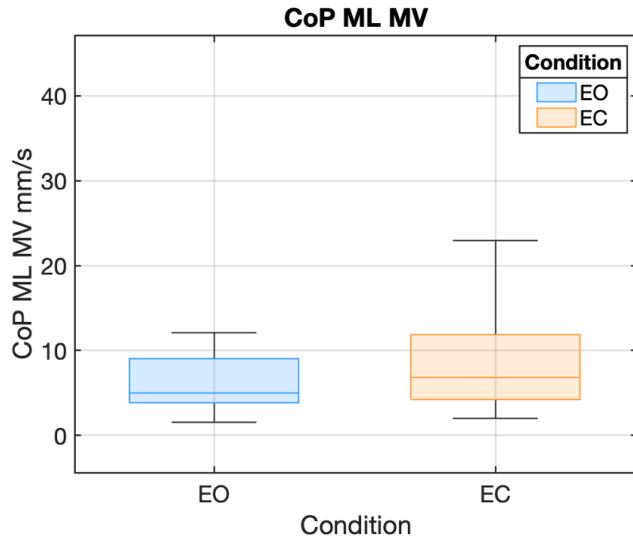


Figura 18: Distribuzione dei valori della velocità media del CoP ML per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p<0.0001$ .

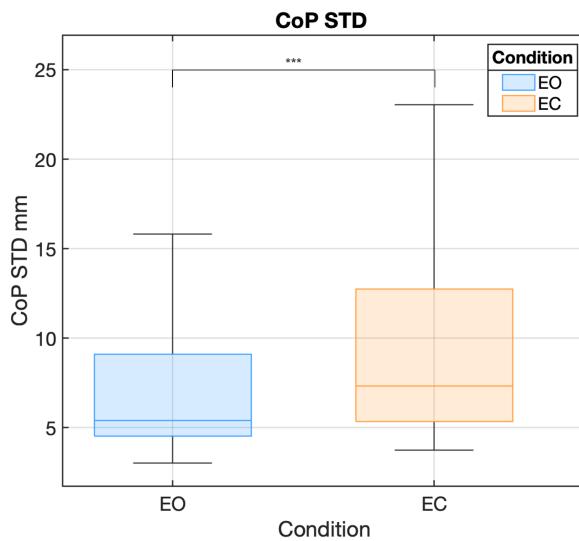


Figura 19: Distribuzione dei valori della deviazione standard del CoP per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p<0.0001$ .

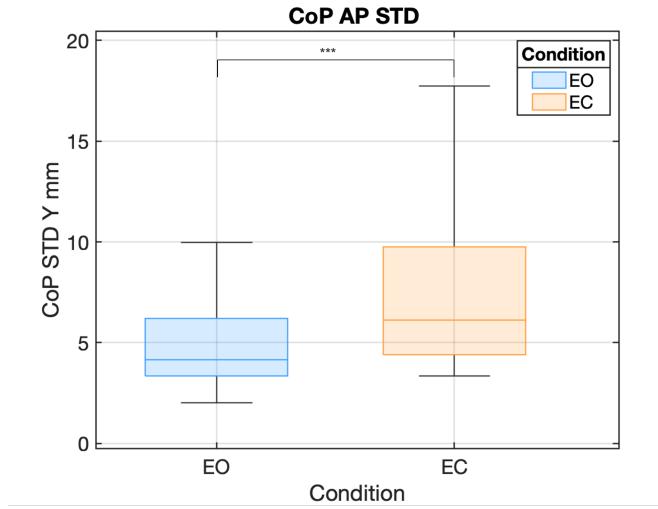


Figura 20: Distribuzione dei valori della deviazione standard del CoP AP per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p<0.0001$ .

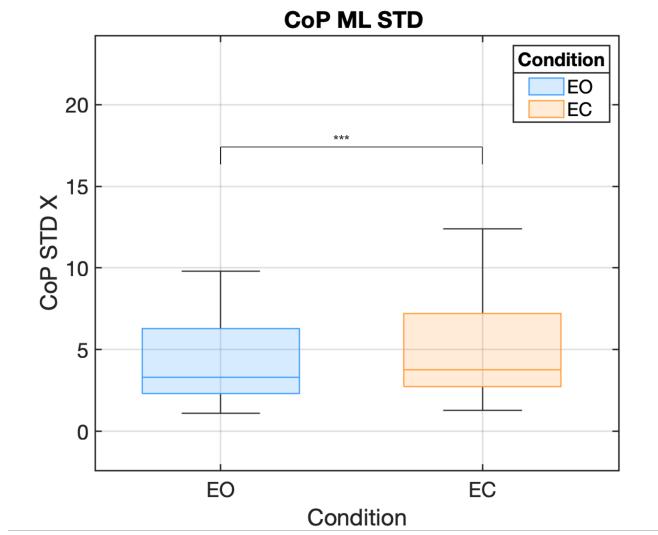


Figura 21: Distribuzione dei valori della deviazione standard del CoP ML per le due condizioni visive con condensazione dei 3 Timepoint; i 3 asterischi indicano una differenza statisticamente significativa con  $p<0.0001$ .

Per quanto concerne la posizione media del CoP ML rispetto al centro dell'appoggio, come anticipato non sono emerse differenze statisticamente significative; dalla rappresentazione dei singoli punti e dalla rispettiva connessione dei punti corrispondenti ad un singolo soggetto tra T0 e T1. E' possibile notare, in maniera più marcata per la condition EO, come alcuni partano da valori positivi (sbilanciamento verso gamba controllo) e diminuiscono, mentre altri partano da valori negativi (sbilanciamento verso gamba studio) ed aumentino. 22

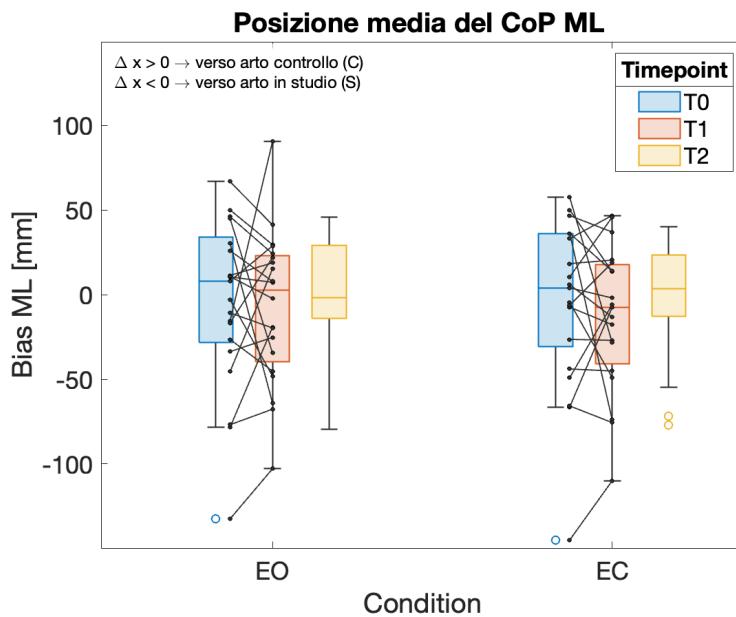


Figura 22: Distribuzione dei valori del bias ML per le due condizioni visive a ciascun Timepoint, con rappresentazione dei singoli punti.

## 7.2 Metriche MU

Per le seguenti metriche, dai boxplot, è possibile notare come i valori risultino tendenzialmente maggiori per la gamba controllo, nello specifico:

- la mFR presenta una mediana pari a 7.79 Hz per la gamba studio e 8.96 Hz per la gamba controllo; 23
- Q1 e Q3 del CoVISI risultano [25.65 34.79] % per la gamba studio e [32.2 38.81] % per la gamba controllo; 24
- Q1 e Q3 dell'intermittency risultano [10.42 24.95] % per la gamba studio e [17.87 30.99] % per la gamba controllo ; 25

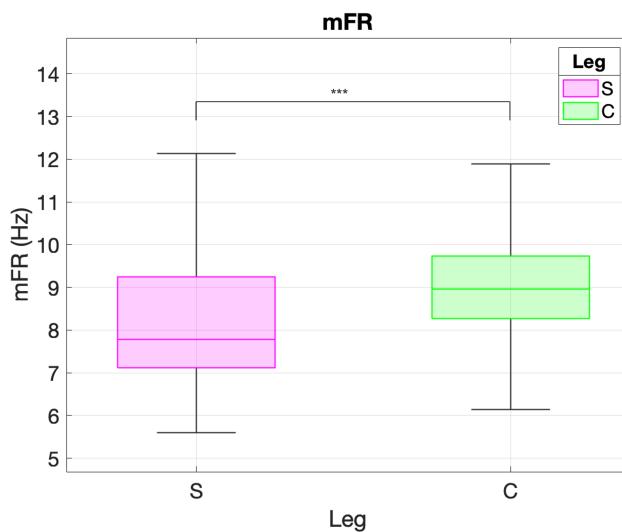


Figura 23: Distribuzione dei valori della frequenza media di scarica delle MU per le due gambe con condensazione dei Timepoint e delle Condition.

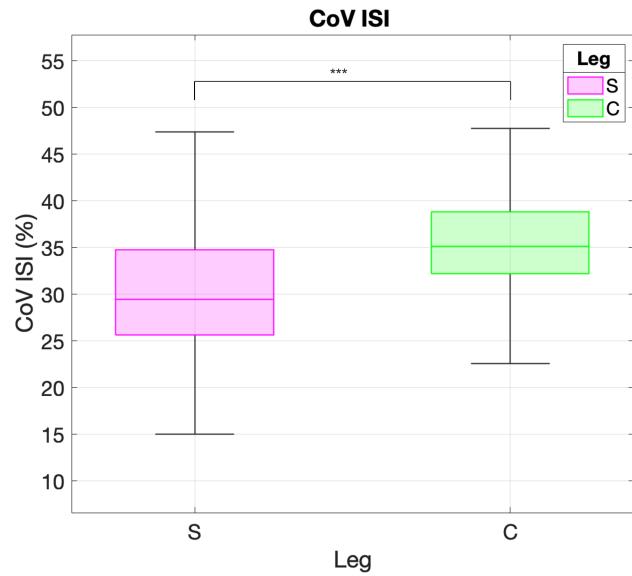


Figura 24: Distribuzione dei valori del CoV ISI delle MU per le due gambe con condensazione dei Timepoint e delle Condition.

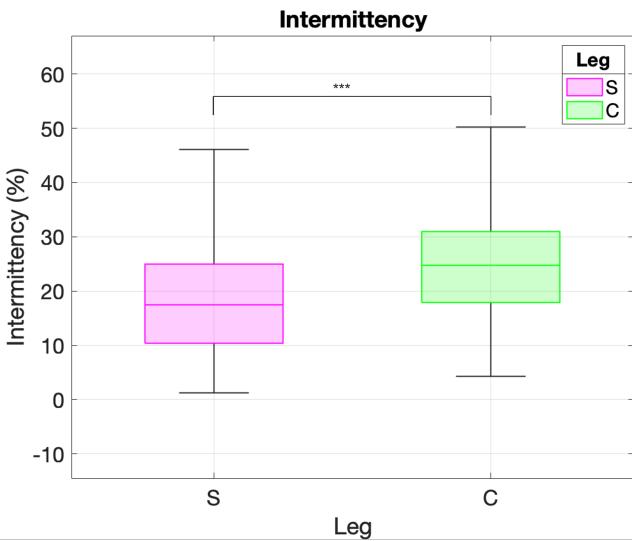


Figura 25: Distribuzione dei valori dell'intermittenza delle MU per le due gambe con condensazione dei Timepoint e delle Condition.

### 7.3 Metriche di interazione MU-CoP AP

Dal confronto dei valori della *CST-CoP AP coherence* tra le due gambe emerge un significativo aumento per la gamba controllo, in entrambe le bande di interesse Q1 e Q3 risultano infatti:

- **0-0.5 Hz**: [0.33 0.58] per S e [0.54 0.75] per C;
- **0.5-5 Hz**: [0.24 0.40] per S e [0.37 0.59] per C.

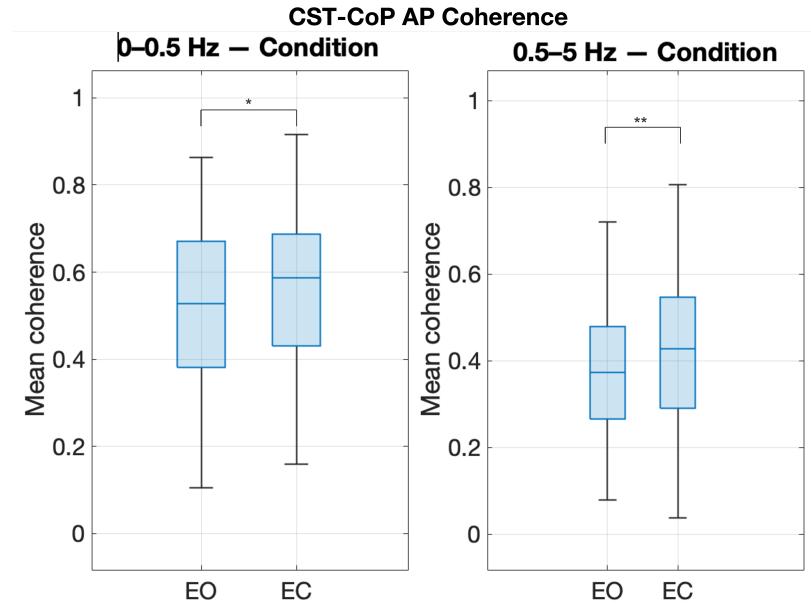


Figura 26: Distribuzione dei valori della coerenza media tra CST e CoP AP in entrambe le bande di bassa frequenza, per le due condizioni visive, con condensazione dei timepoint e delle gambe. Nel grafico della banda a frequenza minore l'asterisco si riferisce a un  $p.value=0.0266$ , mentre nel grafico a frequenza maggiore i due asterischi riflettono  $p.value=0.00641$

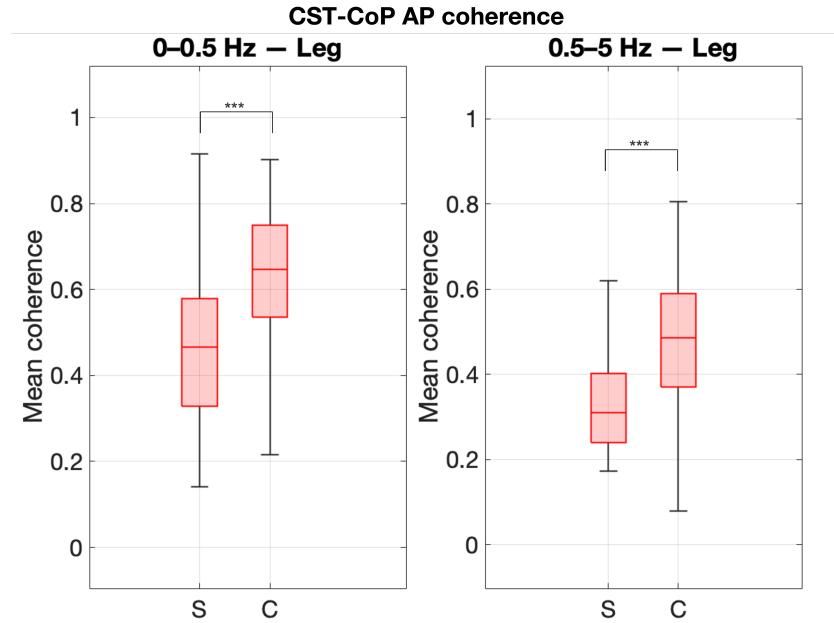


Figura 27: Distribuzione dei valori della coerenza media tra CST e CoP AP in entrambe le bande di bassa frequenza, per le due gambe, con condensazione dei timepoint e delle condition. I 3 asterischi fanno riferimento ad un  $p.value < 0.0001$

Per la *MU disharge - CoP AP distribution*, sono state realizzate delle figure separate per le due differenti condizioni visive, per una maggiore leggibilità e poichè, per lo scopo di questo studio, si è interessati ad indagare il confronto tra gambe e/o tra Timepoint.

Per il coefficiente di Pearson, le differenze statisticamente significative sono state indagate successivamente alla trasformazione matematica *atanh*, per poter rappresentare gli intervalli di confidenza di  $R$  nel dominio z. Dai grafici degli istogrammi 28, 29, si intuisce una chiara tendenza di aumento lineare degli spike per bin per tutte le combinazioni Timepoint X Leg, leggermente più visibile nel complesso per la condition EC.

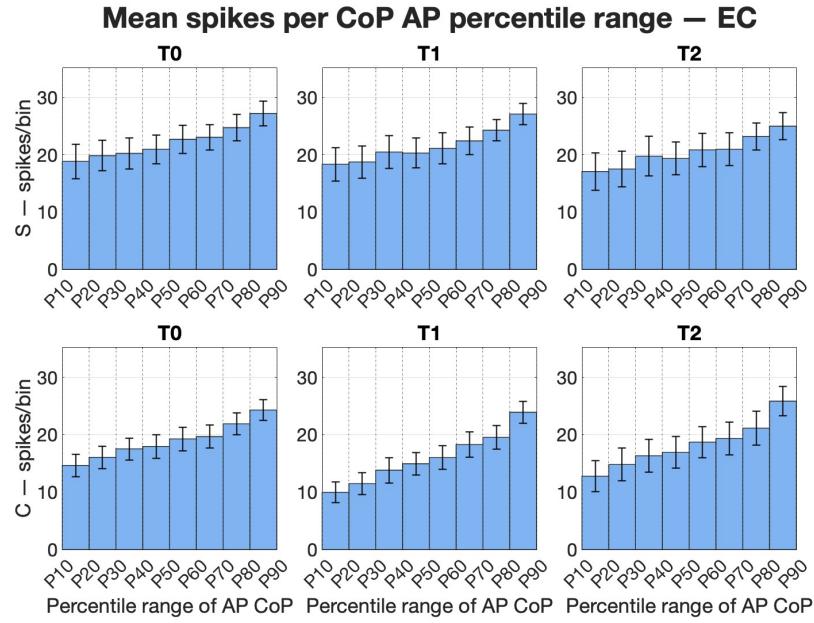


Figura 28: Distribuzione del numero medio di scariche delle unità motorie all'interno degli 8 bin percentilari(da P10 a P90) del CoP AP per la condition EC, per ciascuna gamba e Tiempoint

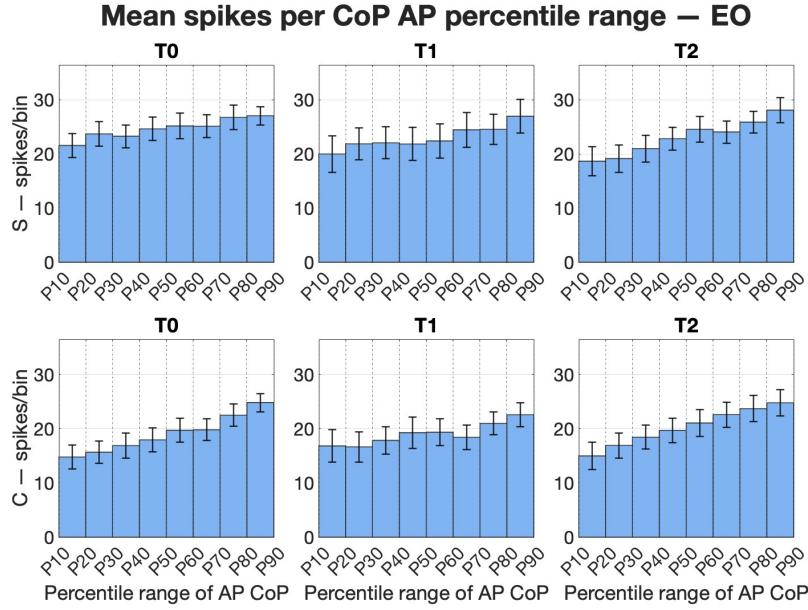


Figura 29: Distribuzione del numero medio di scariche delle unità motorie all'interno degli 8 bin percentilari(da P10 a P90) del CoP AP per la condition EO, per ciascuna gamba e Tiempoint

Tale ipotesi di dipendenza lineare è confermata dai valori di  $R$  ed i rispettivi  $p.value$ : gli IC di Pearson, per la condition EC, risultano tutti al di sopra di  $z=0.981$  ovvero  $R=0.75$ , con dei  $p.value$  tutti al di sotto di 0.0002, per entrambe le gambe e a ciascun timepoint.<sup>30</sup> Ad EO gli IC risultano tutti al di sopra di  $z=0.68$ , ovvero  $R=0.59$ , con dei  $p.value$  tutti al di sotto di 0.001 per entrambe le gambe e a ciascun timepoint.<sup>31</sup> Non emergono invece differenze significative né confrontando le gambe nè i Timepoint, in quanto gli IC hanno un'intersezione non nulla.

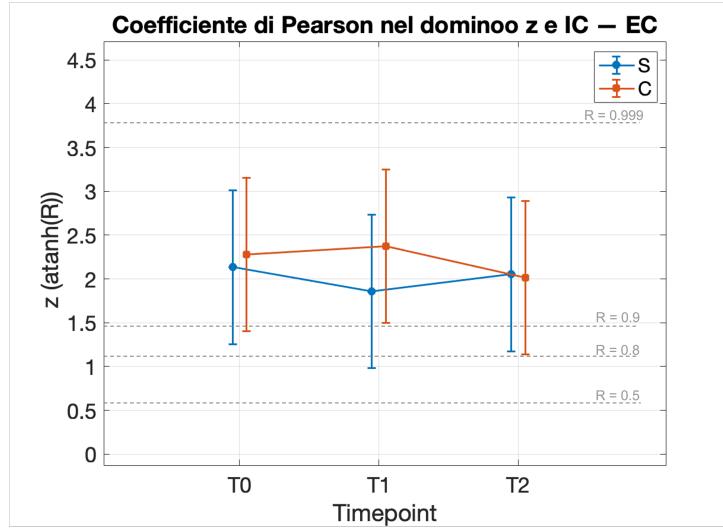


Figura 30: Rappresentazione del coefficiente di correlazione di Pearson medio tra MU spikes e CoP AP nel dominio z con relativo intervallo di confidenza, per ciascuna gamba e a ogni Timepoint, nella condition EC.

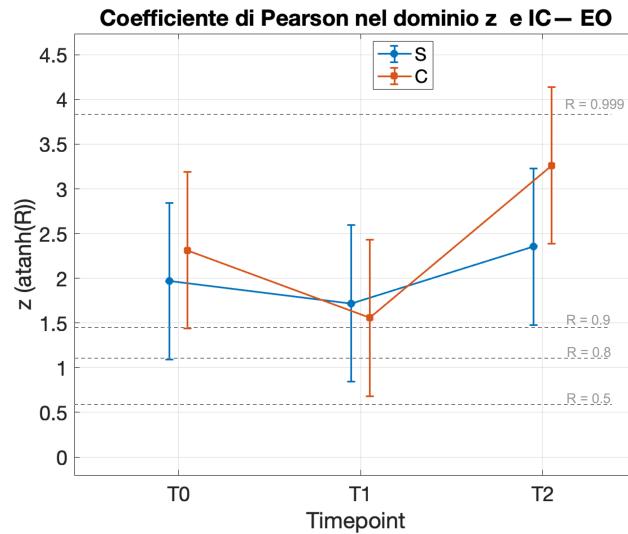


Figura 31: Rappresentazione del coefficiente di correlazione di Pearson medio tra MU spikes e CoP AP nel dominio z con relativo intervallo di confidenza, per ciascuna gamba e a ogni Timepoint, nella condition EO.

Analizzando adesso le pendenze e le intercette con i rispettivi IC, ottenute dalla regressione, è possibile notare come sono presenti molteplici differenze significative, in particolare: Ad **EO**, per quanto concerne la pendenza, a T0 si ha un IC con valori più elevati per la gamba controllo rispetto alla gamba studio; nel confronto tra Timepoint emerge una differenza significativa sia per la gamba studio, nella quale si ha un aumento dei valori nel passaggio da T0 a T2, sia per la gamba controllo che mostra una diminuzione significativa ma nel passaggio da T0 a T1.<sup>34</sup> Gli IC dell'intercetta per le due gambe sono distinti tra loro, con valori maggiori per la gamba studio, ma tendono ad avvicinarsi progressivamente nel corso dei Timepoint; nello specifico, infatti l'intercetta della gamba studio mostra una tendenza significativa a diminuire nel corso dei Timepoint passando da 21(T0) spikes a 16.5(T2), e quella della gamba controllo aumenta显著mente da T0 a T1.<sup>35</sup>

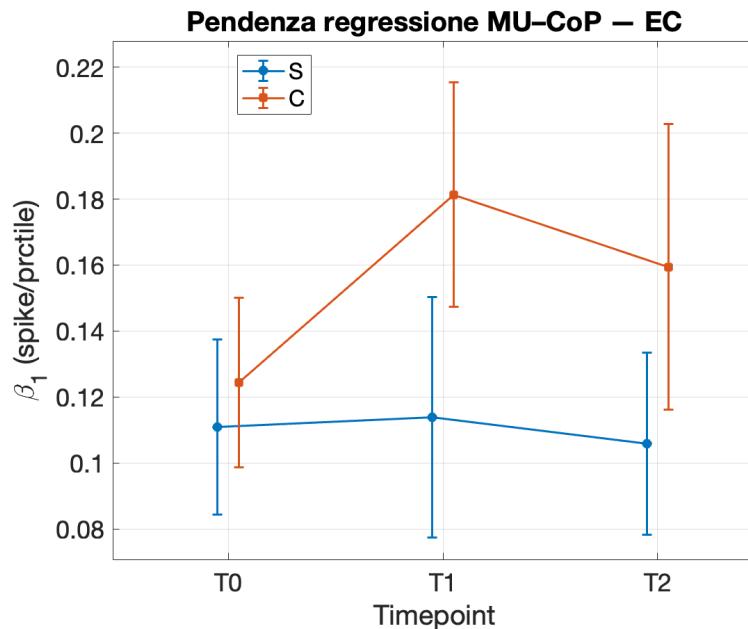


Figura 32: Rappresentazione della pendenza media della regrezzione lineare MU spike-CoP AP con relativo intervallo di confidenza per ciascuna gamba e a ogni Timepoint, nella condition EC.

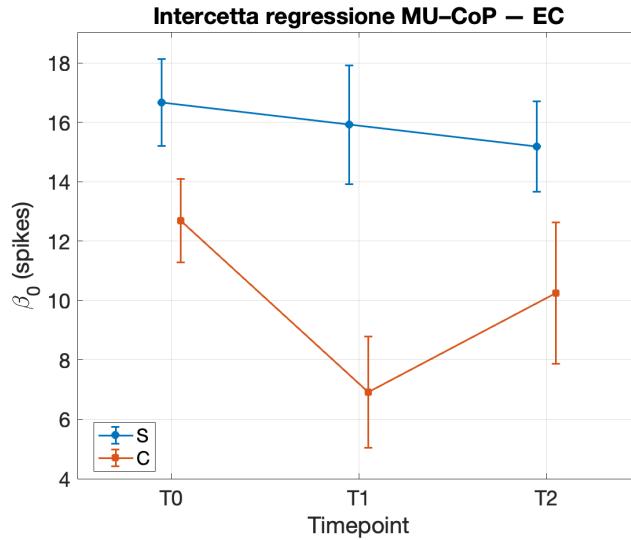


Figura 33: Rappresentazione dell'intercetta media della regrezzione lineare MU spike-CoP AP con relativo intervallo di confidenza per ciascuna gamba e a ogni Timepoint, nella condition EC.

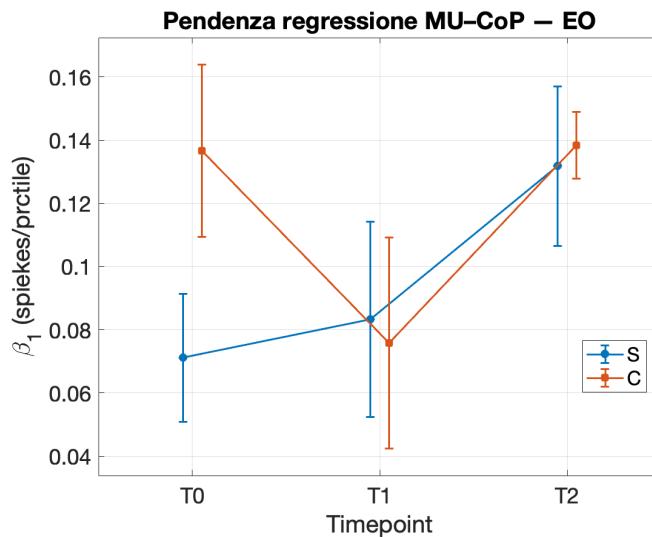


Figura 34: Rappresentazione della pendenza media della regrezzione lineare MU spike-CoP AP con relativo intervallo di confidenza per ciascuna gamba e a ogni Timepoint, nella condition EO.

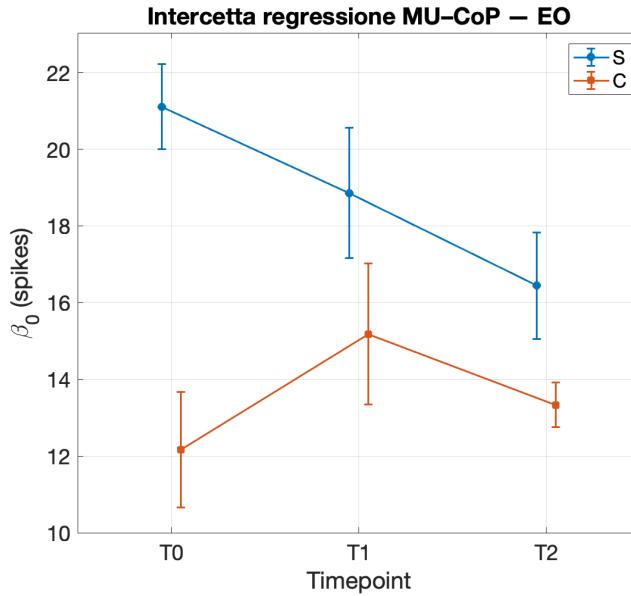


Figura 35: Rappresentazione dell’intercetta media della regrezzione lineare MU spike-CoP AP con relativo intervallo di confidenza per ciascuna gamba e a ogni Timepoint, nella condition EO.

In sintesi, i risultati mostrano che: (i) tutte le metriche del CoP, ad eccezione del bias medio–laterale, aumentano in condizioni ad occhi chiusi rispetto agli occhi aperti, senza variazioni legate al timepoint; (ii) le MU della gamba controllo presentano frequenza di scarica media, variabilità temporale (CoVISI) e intermittency maggiori rispetto alla gamba studio; (iii) la coerenza CST–CoP è più elevata nella gamba controllo in entrambe le bande di bassa frequenza; (iv) la relazione tra numero di spike e posizione antero–posteriore del CoP è marcatamente lineare in tutte le condizioni, ma parametri di intercetta e pendente mostrano alcune variazioni nel tempo, soprattutto alla condizione EO.

## 8 Discussione

L’obiettivo di questo studio era valutare se l’iniezione focale di BoNT nel gastrocnemio mediale dei soggetti con spasticità dell’arto inferiore si associasse a un controllo posturale più efficiente dal punto di vista del comportamento di scarica delle MU, con una maggiore modulazione rispetto al CoP AP, senza necessariamente una diminuzione dello sway.

L’assenza di un effetto del timepoint sulle metriche globali del CoP 15, 16 17, 18, 19, 21, 20 suggerisce che, nel nostro campione, la BoNT non ha prodotto cambiamenti misurabili sull’ampiezza dello sway durante la stazione eretta senza perturbazioni. Questo risultato è coerente con quanto è riportato nelle aspettative dell’introduzione e con quanto riportato in letteratura, dove l’effetto della tossina botulinica sulle oscillazioni posturali risulta eterogeneo e non univocamente orientato verso un miglioramento dello sway. [11, 21] L’incremento di area ellittica, deviazione standard e velocità media in EC rispetto a EO conferma la ben nota dipendenza visiva del controllo dell’equilibrio nei soggetti con spasticità dell’arto inferiore conseguente a patologie del SNC, descritta anche in studi su pazienti post-ictus. [12] Dal grafico del bias CoP ML 22 è possibile notare una differente strategia di carico adottata dai soggetti prima del trattamento e dopo questo non è possibile confermare un riequilibrio del peso corporeo tra le due gambe;

Per quanto riguarda le metriche basate sul comportamento intrinseco delle unità motorie, i valori di indicatori quali la frequenza media di scarica 23, l’intermittenza 25 e il CoV ISI 24 risultano più fisiologici (notevole intermittenza, elevata variabilità) nella gamba controllo, ma rimangono stabili nel tempo, senza alcuna interazione significativa con il fattore Timepoint. Analogamente, la coerenza tra CST delle MU e la dinamica del CoP AP 27, metrica rappresentativa della modulazione del firing da parte di un CSI in

funzione dello sway, risulta più elevata nella gamba controllo, ma non evidenzia variazioni dopo la BoNT per entrambe le bande rappresentative degli spostamenti del CoP. Questi risultati suggeriscono che tali metriche globali potrebbero essere non sufficientemente sensibili per rilevare cambiamenti specifici del comportamento globale delle MU legati al trattamento.

Un quadro diverso emerge invece analizzando direttamente la relazione tra spike MU e posizione del CoP in direzione antero-posteriore 28 ???. La modellazione percentile-based, combinata con la regressione lineare MU–CoP, permette di distinguere due aspetti fondamentali: la modulazione dell'attivazione legata al compito (pendenza), cioè quanto la probabilità di scarica varia in funzione dello spostamento anteriore del CoP; [13] l'attivazione tonica di base (intercetta), cioè il livello minimo di firing nelle posture più arretrate del corpo. 35 34. A T0, le due gambe mostrano profili chiaramente distinti: la gamba studio presenta una modulazione ridotta e una maggiore attivazione di base, caratteristiche coerenti con la fisiopatologia del muscolo spastico, in cui l'eccitabilità tonica è aumentata a causa dell'iperattività del riflesso da stiramento e della perdita di inibizione discendente [18]. Dopo la BoNT, tali differenze si ridimensionano: la gamba studio mostra una maggiore modulazione del firing (pendenza più alta) e una riduzione dell'intercetta, coerente con la diminuzione dell'attività tonica. Parallelamente, la gamba controllo mostra un adattamento complementare, con una lieve riduzione della modulazione e un aumento dell'attivazione tonica, verosimilmente connesso al nuovo equilibrio di carico e alla redistribuzione posturale conseguente alla riduzione della spasticità. Nel complesso, i valori delle due gambe tendono ad avvicinarsi dopo il trattamento: non si parla di normalizzazione completa, ma di un riassetto funzionale del sistema neuromuscolare, nel quale il muscolo trattato assume un comportamento più fisiologico dal punto di vista della modulazione in base al CoP, e quello controlaterale si riorganizza per

adeguarsi alla nuova condizione. In sintesi, questa metrica — che integra simultaneamente informazione neuromuscolare e stabilometrica — si conferma la più sensibile dello studio e suggerisce che gli effetti della BoNT emergano soprattutto quando si osserva come il sistema neuromuscolare modula il firing in funzione del compito posturale, piuttosto che tramite misure aggregate o indipendenti.

## 9 Conclusioni, Limiti e Sviluppi futuri

In conclusione in tale studio le metriche stabilometriche classiche non hanno mostrato variazioni significative dopo il trattamento. Questo risultato è coerente con l'impostazione prudente adottata in fase introduttiva, secondo cui lo sway potrebbe non modificarsi in modo sistematico dopo la BoNT, in linea con una letteratura eterogenea e spesso contraddittoria. Per il bias medio-laterale è plausibile che l'elevata variabilità inter-soggetto nelle strategie di carico contribuisca ulteriormente all'assenza di pattern comuni; tale risultato però potrebbe altresì essere legato ad una mancata analisi integrata con il punteggio MAS.

La relazione MUspike –CoP ha rappresentato una metrica in grado di rilevare un cambiamento post-tossina, suggerendo che gli effetti della tossina potrebbero emergere più chiaramente quando si analizza l'integrazione tra attività neuromuscolare e compito posturale. Al contempo le metriche classiche basate esclusivamente sul comportamento di scarica delle MU, insieme alla coerenza, non sono risultate sensibili a variazioni; ciò potrebbe però dipendere da fattori clinici e metodologici non approfonditi. Per questo diventa fondamentale, per uno sviluppo futuro, un superamento di tali limiti, attraverso approcci multimodali che considerino nell'analisi diversi fattori che potrebbero influenzare i risultati, come:

- la correlazione dei risultati con le variazioni dei punteggi della scala MAS, e/o l'esclusione dei soggetti con nessuna variazione del punteggio (i non-responders);
- la durata totale del trattamento, cioè da quanto tempo i soggetti coinvolti sono sottoposti a cicli ripetuti di BoNT, per indagare possibili fenomeni di adattamento;
- la patologia d'origine, che influenza la fisiopatologia della spasticità;
- la quantità e continuità della fisioterapia, nota per modulare in modo rilevante il controllo posturale.

## Riferimenti bibliografici

- [1] Hogene Kim et al. “Ankle stiffness asymmetry is associated with balance function in individuals with chronic stroke”. In: *Scientific Reports* 13.1 (21 set. 2023), p. 15721. ISSN: 2045-2322. DOI: 10.1038/s41598-023-41815-w.
- [2] Maha Haki et al. “Review of multiple sclerosis: Epidemiology, etiology, pathophysiology, and treatment”. In: *Medicine* 103.8 (23 feb. 2024), e37297. ISSN: 1536-5964. DOI: 10.1097/MD.00000000000037297.
- [3] Jacqueline Tibbett et al. “Impact of spasticity on transfers and activities of daily living in individuals with spinal cord injury”. In: *The Journal of Spinal Cord Medicine* 42.3 (mag. 2019), pp. 318–327. ISSN: 2045-7723. DOI: 10.1080/10790268.2017.1400727.
- [4] Dirk Dressler, Fereshte Adib Saberi e Egberto Reis Barbosa. “Botulinum toxin: mechanisms of action”. In: *Arquivos de Neuro-Psiquiatria* 63.1 (2005), pp. 180–185. DOI: 10.1590/S0004-282X2005000100035.
- [5] Thanh-Nhan Doan, Mei-Ying Kuo e Li-Wei Chou. “Efficacy and Optimal Dose of Botulinum Toxin A in Post-Stroke Lower Extremity Spasticity: A Systematic Review and Meta-Analysis”. In: *Toxins* 13.6 (18 giu. 2021), p. 428. ISSN: 2072-6651. DOI: 10.3390/toxins13060428.
- [6] Aurore Thibaut et al. “Spasticity after stroke: physiology, assessment and treatment”. In: *Brain Injury* 27.10 (2013), pp. 1093–1105. ISSN: 1362-301X. DOI: 10.3109/02699052.2013.804202.
- [7] Fin Biering-Sørensen, Jens Bo Nielsen e Karsten Klinge. “Spasticity-assessment: a review”. In: *Spinal Cord* 44.12 (2006), pp. 708–722. DOI: 10.1038/sj.sc.3101928.

- [8] Allison Brashear et al. “Intramuscular injection of botulinum toxin for the treatment of wrist and finger spasticity after a stroke”. In: *The New England Journal of Medicine* 347.6 (2002), pp. 395–400. DOI: 10.1056/NEJMoa011892.
- [9] Yukihiro Hara. “Rehabilitation with Functional Electrical Stimulation in Stroke Patients”. In: *International Journal of Physical Medicine & Rehabilitation* 01 (1 gen. 2013). DOI: 10.4172/2329-9096.1000147.
- [10] Or Gal et al. “Clinical Outcome Assessments for Spasticity: Review, Critique, and Recommendations”. In: *Movement Disorders* 40.1 (2025), pp. 22–43. DOI: 10.1002/mds.30062.
- [11] T. Trappier et al. “Influence sur le contrôle postural du traitement par toxine botulique chez les sujets cérébrolésés [Influence of treatment with botulinum toxin after stroke to control posture]”. In: *Annales de Réadaptation et de Médecine Physique* 49.4 (2006), pp. 155–165. DOI: 10.1016/j.annrmp.2006.02.006.
- [12] Philippe Kerzoncuf et al. “Poststroke postural sway improved by botulinum toxin: a multicenter randomized double-blind controlled trial”. In: *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 63.3 (2020), pp. 241–247. DOI: 10.1016/j.apmr.2019.04.024.
- [13] Taian M. M. Vieira et al. “Recruitment of motor units in the medial gastrocnemius muscle during human quiet standing: is recruitment intermittent? What triggers recruitment?” In: *Journal of Neurophysiology* 107.2 (15 gen. 2012), pp. 666–676. ISSN: 0022-3077, 1522-1598. DOI: 10.1152/jn.00659.2011.
- [14] Ian D. Loram, Constantinos N. Maganaris e Martin Lakie. “Human postural sway results from frequent, ballistic bias impulses by soleus and gastrocnemius”. In: *Journal of Physiology* 564.1 (2005), pp. 295–311. DOI: 10.1113/jphysiol.2004.076307.

- [15] Yoshiyuki Asai et al. “A model of postural control in quiet standing: robust compensation of delay-induced instability using intermittent activation of feedback control”. In: *PloS One* 4 (8 lug. 2009). ISSN: 1932-6203. DOI: [10.1371/journal.pone.0006169](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006169).
- [16] Joshua W. Cohen et al. “Differential behavior of distinct motoneuron pools that innervate the triceps surae”. In: *Journal of Neurophysiology* 129.1 (1 gen. 2023), pp. 272–284. DOI: [10.1152/jn.00336.2022](https://doi.org/10.1152/jn.00336.2022).
- [17] Joshua W. Cohen et al. “Analysis of shared synaptic inputs to different motor unit subgroups in triceps surae during a postural standing task”. In: *Journal of Neurophysiology* 134.3 (2025), pp. 1007–1019. ISSN: 0022-3077. DOI: [10.1152/jn.00508.2024](https://doi.org/10.1152/jn.00508.2024).
- [18] Alexander C. H. Geurts et al. “A review of standing balance recovery from stroke”. In: *Gait & Posture* 22.3 (nov. 2005), pp. 267–281. ISSN: 0966-6362. DOI: [10.1016/j.gaitpost.2004.10.002](https://doi.org/10.1016/j.gaitpost.2004.10.002).
- [19] Nicolas Genthon et al. “Contribution of each lower limb to upright standing in stroke patients”. In: *Stroke* 39.6 (giu. 2008), pp. 1793–1799. ISSN: 1524-4628. DOI: [10.1161/STROKEAHA.107.497701](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.107.497701).
- [20] Taian M. Vieira et al. “Postural Muscle Unit Plasticity in Stroke Survivors: Altered Distribution of Gastrocnemius’ Action Potentials”. In: *Frontiers in Neurology* 10 (2019), p. 686. DOI: [10.3389/fneur.2019.00686](https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00686).
- [21] Tim Kiemel, Yingying Zhang e John J. Jeka. “Identification of neural feedback for upright stance in humans: stabilization rather than sway minimization”. In: *Journal of Neuroscience* 31.42 (2011), pp. 15144–15153. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.1013-11.2011](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1013-11.2011).

- [22] Vanni Taglietti e Cesare Casella. “Fisiologia e Biofisica delle cellule”. Tessuti muscolari: “Muscolo scheletrico”. In: *Fisiologia e Biofisica delle cellule*. I. EDISES, 2015. Cap. 13. ISBN: 9788879598682.
- [23] William F. Ganong. “Tessuti eccitabili: i muscoli”. In: *Fisiologia medica*. A cura di Giulio Stella. 4a edizione italiana. Padova: Piccin-Nuova Libraria, 1975. Cap. 3.
- [24] C. J. Heckman e Roger M. Enoka. “Motor Unit”. In: *Comprehensive Physiology* 2.4 (ott. 2012), pp. 2629–2682. ISSN: 2040-4603. DOI: 10.1002/cphy.c100087.
- [25] Lorne M. Mendell. “The size principle: a rule describing the recruitment of motoneurons”. In: *Journal of Neurophysiology* 93.6 (giu. 2005), pp. 3024–3026. ISSN: 0022-3077. DOI: 10.1152/classicessays.00025.2005.
- [26] Farzin Halabchi et al. “Medial Gastrocnemius Strain: Clinical Aspects and Algorithmic Approach”. In: *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 38 (), p. 55. ISSN: 1016-1430. DOI: 10.47176/mjiri.38.55.
- [27] Kenneth S. Saladin. *Anatomy & Physiology: The Unity of Form and Function*. 10<sup>a</sup> ed. New York, NY: McGraw Hill LLC, 2024. ISBN: 9781265328627.
- [28] R. Fitzpatrick e D. I. McCloskey. “Proprioceptive, visual and vestibular control of human posture”. In: *Journal of Physiology* 478 (1994), pp. 173–186. DOI: 10.1113/jphysiol.1994.sp020240.
- [29] I. D. Loram e M. Lakie. “Direct measurement of human ankle stiffness during quiet standing: the intrinsic mechanical stiffness is insufficient for stability”. In: *Journal of Physiology* 545 (2002), pp. 1041–1053. DOI: 10.1113/jphysiol.2002.025049.

- [30] David A. Winter. “Human balance and posture control during standing and walking”. In: *Gait Posture* 3.4 (1995), pp. 193–214. DOI: 10.1016/0966-6362(96)82849-9.
- [31] L. Giorgi et al. “Eziopatogenesi e fisiopatologia della spasticità”. In: *Rivista di Chirurgia e Riabilitazione della Mano e dell'Arto Superiore* 38.1 (2000), pp. 9–12.
- [32] Carlo Trompetto et al. “Pathophysiology of Spasticity: Implications for Neurorehabilitation”. In: *BioMed Research International* 2014 (2014), pp. 1–8. DOI: 10.1155/2014/354906.
- [33] Simon Schading-Sassenhausen, Volker Dietz e Patrick Freund. “Effect of corticospinal and reticulospinal tract damage on spastic muscle tone and mobility: a retrospective observational MRI study”. In: *eBioMedicine* 118 (2025), p. 105824. DOI: 10.1016/j.ebiom.2025.105824.
- [34] Sophie Tasseel-Ponche, Annie P. Yelnik e Isabelle V. Bonan. “Motor strategies of postural control after hemispheric stroke”. In: *Neurophysiologie Clinique* 45.4–5 (2015), pp. 327–333. DOI: 10.1016/j.neucli.2015.09.003.
- [35] Yang Liu et al. “Motor unit distribution and recruitment in spastic and non-spastic bilateral biceps brachii muscles of chronic stroke survivors”. In: *Journal of Neural Engineering* 19.4 (2023). DOI: 10.1088/1741-2552/ac86f4.
- [36] Richard W. Bohannon e Melissa B. Smith. “Interrater reliability of a modified Ashworth scale of muscle spasticity”. In: *Physical Therapy* 67.2 (1987), pp. 206–207. DOI: 10.1093/ptj/67.2.206.

- [37] StrokEngine. *Modified Ashworth Scale (MAS)*. <https://strokengine.ca/en/assessments/modified-ashworth-scale/>. Accessed: 2025-01-29.
- [38] Wu T et al. “Effectiveness of Botulinum Toxin for Lower Limbs Spasticity after Stroke: A Systematic Review and Meta-Analysis”. In: *Topics in stroke rehabilitation* 23 (giu. 2016). ISSN: 1074-9357. DOI: 10.1080/10749357.2016.1139294. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27077980/>.
- [39] Irene Otero-Luis et al. “Effect of Botulinum Toxin Injections in the Treatment of Spasticity of Different Etiologies: An Umbrella Review”. In: *Pharmaceuticals* 17.3 (2024), p. 310. DOI: 10.3390/ph17030310.
- [40] Emilie Ojardias et al. “Time course response after single injection of botulinum toxin to treat spasticity after stroke: Systematic review with pharmacodynamic model-based meta-analysis”. In: *Annals of Physical and Rehabilitation Medicine* 65.3 (2022), p. 101579. DOI: 10.1016/j.rehab.2021.101579.
- [41] Yi-Ting Chen et al. “The Effects of Botulinum Toxin Injections on Spasticity and Motor Performance in Chronic Stroke with Spastic Hemiplegia”. In: *Toxins* 12.8 (2020), p. 492. DOI: 10.3390/toxins12080492.
- [42] Bhasker Amatya et al. “Non-pharmacological interventions for spasticity in adults: an overview of systematic reviews”. In: *NeuroRehabilitation* 24.4 (2009), pp. 291–306. DOI: 10.1016/j.rehab.2017.10.001.
- [43] S. F. Sun et al. “Combined botulinum toxin type A with modified constraint-induced movement therapy for chronic stroke patients with upper limb spasticity: a randomized controlled study”. In: *Neurorehabilitation and Neural Repair* 24.1 (2010), pp. 34–41. DOI: 10.1177/1545968309341060.

- [44] Edward W. To et al. “A prospective study of the effect of botulinum toxin A on masseteric muscle hypertrophy with ultrasonographic and electromyographic measurement”. In: *British Journal of Plastic Surgery* 54.3 (2001), pp. 197–200. DOI: 10.1054/bjps.2000.3526.
- [45] Eun Sook Park et al. “Architectural changes of the gastrocnemius muscle after botulinum toxin type A injection in children with cerebral palsy”. In: *Yonsei Medical Journal* 55.5 (2014), pp. 1406–1412. DOI: 10.3349/ymj.2014.55.5.1406.
- [46] Anand D. Pandyan et al. “Spasticity: clinical perceptions, neurological realities and meaningful measurement”. In: *Disability and Rehabilitation* 27.1-2 (2002), pp. 2–6. DOI: 10 . 1080 / 09638280400014576.
- [47] Hélène Moron et al. “Contribution of Single-Fiber Evaluation on Monitoring Outcomes Following Injection of Botulinum Toxin-A: A Narrative Review of the Literature”. In: *Toxins* 13.5 (2021), p. 356. DOI: 10.3390/toxins13050356.
- [48] Dario Farina e Roberto Merletti, cur. *Surface electromyography: physiology, engineering, and applications*. IEEE Press Series on Biomedical Engineering. Piscataway, NJ: IEEE Press, 2016. 1 p. ISBN: 978-1-118-98702-5 978-1-119-08290-3 978-1-119-08293-4. DOI: 10 . 1002 / 9781119082934.
- [49] Valentina Agostini et al. “Elettromiografia di superficie: un approccio non invasivo per l’analisi dell’attività muscolare”. In: *Giornale Italiano di Medicina Riabilitativa* 40.4 (2006).
- [50] Lukas Gerald Wiedemann et al. “High-density electromyographic data during isometric contractions of the ankle joint in children with cerebral palsy pre and post BoNT-A treatment”. In: *Data in Brief* 24 (2019), p. 103840. DOI: 10.1016/j.dib.2019.103840.

- [51] Laura C. Miller et al. “High-density surface EMG decomposition allows for recording of motor unit discharge from proximal and distal flexion synergy muscles simultaneously in individuals with stroke”. In: *Proceedings of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Conference (EMBC)*. 2014, pp. 5340–5344. DOI: [10.1109/EMBC.2014.6944832](https://doi.org/10.1109/EMBC.2014.6944832).
- [52] Xu Zhang e Ping Zhou. “High-Density Myoelectric Pattern Recognition Toward Improved Stroke Rehabilitation”. In: *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 59.6 (2012), pp. 1649–1657. DOI: [10.1109/TBME.2012.2191551](https://doi.org/10.1109/TBME.2012.2191551).
- [53] Michael W. Whittle. *Gait Analysis: An Introduction*. 4th. Butterworth-Heinemann, 2007. ISBN: 978-0-7506-8883-3. DOI: [10.1016/B978-0-7506-8883-3.X5001-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-8883-3.X5001-6).
- [54] William M. White, Dirk Dressler e Mark Hallett. “Improving botulinum toxin therapy: recommendations for managing adverse events and patient dropout”. In: *Toxicon* 48.7 (2006), pp. 947–955. DOI: [10.1016/j.toxicon.2006.07.008](https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.07.008).
- [55] Roberto Merletti, Aleš Holobar e Dario Farina. “Analysis of motor units with high-density surface electromyography”. In: *Journal of Electromyography and Kinesiology* 18.6 (2008), pp. 879–890. DOI: [10.1016/j.jelekin.2008.09.002](https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2008.09.002).
- [56] Ales Holobar e Damijan Zazula. “Multichannel Blind Source Separation Using Convolution Kernel Compensation”. In: *IEEE Transactions on Signal Processing* 55.9 (2007), pp. 4487–4496. DOI: [10.1109/TSP.2007.896108](https://doi.org/10.1109/TSP.2007.896108).
- [57] A. Del Vecchio et al. “Tutorial: Analysis of motor unit discharge characteristics from high-density surface EMG signals”. In: *Journal of Electromyography and Kinesiology* 52 (2020), p. 102440. DOI: [10.1016/j.jelekin.2020.102440](https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2020.102440).

- [58] Kevin E. Power et al. “Endurance-exercise training adaptations in spinal motoneurones: potential functional relevance to locomotor output and assessment in humans”. In: *European Journal of Applied Physiology* 122.6 (giu. 2022), pp. 1367–1381. ISSN: 1439-6319, 1439-6327. DOI: 10.1007/s00421-022-04918-2.
- [59] Taian M. Vieira et al. “The Sensitivity of Bipolar Electromyograms to Muscle Excitation Scales With the Inter-Electrode Distance”. In: *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering* (2023).
- [60] Aida Bendo et al. “A Theoretical Study on the Evaluation of the Stability and Postural Sway, Based on the Results of the Confidence Ellipse”. In: *International Journal of Science and Research (IJSR)* 4.1 (2015), pp. 1776–1779. ISSN: 2319-7064. DOI: 10.21275/SUB15608.
- [61] Nadal J. Oliveira LF Simpson DM. “Calculation of area of stabilometric signals using principal component analysis”. In: *Physiological Measurement* (1996).
- [62] Alessandro Del Vecchio et al. “You are as fast as your motor neurons: speed of recruitment and maximal discharge of motor neurons determine the maximal rate of force development in humans”. In: *The Journal of Physiology* 597.9 (2019), pp. 2445–2456. ISSN: 1469-7793. DOI: 10.1113/JP277396.
- [63] Christopher M. Laine et al. “Motor Neuron Pools of Synergistic Thigh Muscles Share Most of Their Synaptic Input”. In: *The Journal of Neuroscience* 35 (), pp. 12207–12216. ISSN: 0270-6474, 1529-2401. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0240-15.2015.
- [64] Daniele Borzelli et al. “Synaptic inputs to motor neurons underlying muscle coactivation for functionally different tasks have different spectral characteristics”. In: *Journal of Neurophysiology* 131.6 (), pp. 1126–1142. ISSN: 0022-3077, 1522-1598. DOI: 10.1152/jn.00199.2023.

- [65] Duarte M. Zatsiorsky VM. “Instant equilibrium point and its migration in standing tasks: rambling and trembling components of the stabilogram”. In: *Motor Control* (1999). DOI: 0.1123/mcj.3.1.28.
- [66] David A. Winter et al. “Stiffness control of balance in quiet standing”. In: *Journal of Neurophysiology* 80.3 (1998), pp. 1211–1221. DOI: 10.1152/jn.1998.80.3.1211.