NOVA School of Science and Technology

2022/2023

Eletrofisiologia

*Deteção de contrações musculares*

Ana Fernandes 59995

Diogo Amaro 59781

Docentes

Senhora Professora Carla Quintão

Senhor Professor Pedro Moura

Índice

[Introdução e Objetivos3](#Intro_obje)

[Recolha de dados3](#recolha_dados)

[Pré-processamento do sinal4](#Pré_processamento)

[Tratamento do sinal5](#tratamento)

[Aplicação de um filtro passa banda5](#passa_banda)

[Quadrar o sinal6](#quadrado)

[Envelope do sinal6](#envelope)

[Transformada de Fourier6](#fft)

[Estudo do sinal em MatLab7](#estudo_sinal_matlab)

[Algorithm27](#algo2)

[Algorithm\_test8](#algo_test)

[Apresentação de resultados10](#ap_results)

[Amplitude de contração10](#amplitude_contract)

[Duração de contração10](#dur_contract)

[Discussão de resultados11](#disc_results)

[Justificação de resultados13](#justifi_results)

[Considerações finais14](#considerações_finais)

[Referências15](#refs)

*Figura 1 - Sinal de EMG processado*4

*Figura 2 - Sinal sem filtro passa banda*5

*Figura 3 - Sinal com filtro passa banda*5

*Figura 4 - Sinal quadrado*5

*Figura 5 - Envelope do sinal (Grupo de Controlo)*6

*Figura 6 - Envelope do sinal (Grupo de Pacientes)*6

*Figura 7 - Espectro de Potências (Esq.)*6

*Figura 8 - Espectro de Potências (Dir.)*6

*Figura 9 - Instantes de contração e descontração*8

*Figura 10 - Erro de* *deteção*10

*Figura 11 - Sinal do grupo de Controlo*11

*Figura 12 - Sinal do grupo de Pacientes*11

*Figura 13 - Contrações no grupo de Controlo*12

*Figura 14 - Contrações no grupo de Pacientes*12

*Figura 15 - Sinal EMG Pt10\_FM*13

*Figura 16 - Contrações musculares Pt10\_FM*13

**1.** **Introdução e Objetivos**

A Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa com avanço progressivo que afeta os neurónios motores superiores e inferiores. Os neurónios motores são o elo de comunicação entre o sistema nervoso central e os músculos, a doença ELA afeta precisamente estes neurónios, provocando uma desassociação entre os mesmos e os músculos que estes controlam. Isto provoca, nos doentes, o aumento da fraqueza muscular a nível distal no membro superior, e na zona mais proximal dos músculos do membro inferior, provocando a perda de coordenação motora. No final, leva à perda total da capacidade de realizar movimentos voluntários, como comer, andar, falar, entre outras limitações, até comprometer o diafragma, provocando a morte por asfixia. [1] As implicações que a ELA tem nos músculos do membro superior são, mais concretamente, a rigidez muscular e o exagero dos movimentos involuntários reflexos. Quando os neurónios estão relacionados com os músculos do membro inferior, as consequências são cãibras musculares, contrações involuntárias momentâneas, dando a sensação que o músculo nunca atinge, efetivamente, o repouso, a este fenómeno chama-se fasciculação. [2]

Com este trabalho pretendemos estudar, ainda que muito superficialmente, as consequências desta doença nos pacientes, através da análise de sinais eletromiográficos, e posterior comparação com os sinais de um grupo de controlo, aparentemente, saudável. As principais diferenças que esperamos encontrar podem estar relacionadas com os tempos e amplitudes de contração, como consequência da existência de potenciais de fibrilação e fasciculação aquando do relaxamento muscular. Para estudar o sinal que nos foi fornecido, vamos marcar, através de algoritmos criados em MATLAB, os momentos de contração e descontração para que, posteriormente, possamos observar a sua duração e amplitude. Com estas características de cada sinal, vamos fazer as devidas comparações com os sinais de controlo e tentar chegar às conclusões teóricas.

**1.1. Recolha de dados**

Os dados de EMG utilizados para análise foram adquiridos enquanto os sujeitos realizam uma tarefa mecânica de afastamento dos dedos. A amostra é constituída por sujeitos com esclerose lateral amiotrófica e por um grupo de controlo.

Estes registos foram adquiridos por Maria Marta Santos no âmbito da sua tese de Mestrado: Study of the electromyographic signal dynamic behavior in amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

A recolha de dados seguiu um protocolo de aquisição específico, composto por 3 segundos de afastamento de dedos seguidos de 3 segundos de relaxação. Isto, durante 6 minutos ou até o indivíduo atingir o limite físico. Foram adquiridos sinais na mão direita (canal 3), na mão esquerda (canal 1), no braço direito (canal 4) e no braço esquerdo (canal 2).

Os dados foram recolhidos a uma frequência de amostragem de 1000Hz pelo dispositivo BioPlux.

**2. Pré-processamento do sinal**

O sinal de EMG é um sinal elétrico produzido pela atividade muscular, que pode ser medido através de elétrodos colocados na pele. Os elétrodos captam a atividade elétrica dos músculos subjacentes e convertem-na num sinal elétrico que pode ser registado e processado. Este sinal, por definição, encontra-se em valores digitais. Para isso, e antes de qualquer análise, é necessária a conversão dos sinais em milivolts (mV):

Na expressão de conversão, x representa o valor digital do sinal, n o número de bits utilizados para digitalizar o sinal (=12bits) e Vcc a tensão de alimentação do circuito utilizado para recolher o sinal de EMG (=5V). Este sinal, depois de transformado, foi armazenado em Data\_Transformada.

Para facilitar a análise, foram pré-estabelecidas variáveis como Fs, igual à frequência de amostragem, seconds que representa o intervalo de tempo de 40 segundos, time que é o intervalo de tempo desde o instante em que a primeira amostra foi recolhida, até chegar à amostra que foi recolhida no instante t=40 segundos e Data\_sec que corresponde aos números de amostras recolhidos durante os 40 segundos.

Nesta fase, os dados estão devidamente convertidos e as variáveis necessárias estão corretamente definidas. Os dados encontram-se, assim, aptos para análise. Dado que temos informação associada a 4 secções dos membros superiores, é necessário fazer a respetiva dissociação da matriz original. Dado que a primeira coluna da variável Data\_Transformada é referente ao índice, temos as seguintes correspondências: Mão esquerda - canal 2; Braço esquerdo - canal 3; Mão direita - Canal 4 e Braço Direito - Canal 5.

Para finalizar, procedeu-se à junção dos 4 vetores obtidos numa única matriz, Data\_base que, de seguida, foi segmentada num intervalo de tempo de 40 segundos através da variável Data\_Sec, definida previamente em cima. Neste ponto da análise, temos uma matriz de dimensão (40000x4), armazenada na variável Data, que contém os registos musculares referentes às 4 secções dos membros superiores, recolhidos durante 40 segundos.

Podemos observar, pela amplitude do sinal, que o indivíduo possui mais força no membro superior direito do que no esquerdo, o que indica ser o seu braço dominante.

Uma imagem com texto, captura de ecrã, Tipo de letra, número

Descrição gerada automaticamente

Figura 1 - Sinal de EMG processado

**3. Tratamento do sinal**

Com os dados devidamente organizados, procedeu-se, nesta etapa, a uma análise mais direcionada para o objetivo principal do trabalho.

**3.1. Aplicação de um filtro passa banda**

A aplicação deste filtro permite a passagem de frequências entre os 50 e os 300 Hz, eliminando as restantes. Quando analisamos um sinal de EMG, pretendemos que sejam vistas as mais altas frequências, porque são essas que correspondem a contrações mais intensas. Eliminar as frequências mais baixas permite eliminar o sinal que resulta de uma contração mais fraca e menos notória para a análise pretendida.

Uma imagem com texto, captura de ecrã, file, diagrama

Descrição gerada automaticamenteUma imagem com texto, captura de ecrã, file, Gráfico

Descrição gerada automaticamente

Figura 2 - Sinal sem o filtro passa banda

Figura 3 - Sinal com o filtro passa banda

**3.2. Quadrar o sinal**

Nesta fase, começamos por fazer a média do sinal e, posteriormente, removê-la, reduzindo o offset a 0. Esta alteração não apresenta extrema relevância no sinal de EMG, mas resolvemos fazê-la para limpar o sinal o máximo possível. Seguidamente, fizemos o quadrado do sinal resultante para acentuar os pontos de maior amplitude, que correspondem às contrações a analisar.

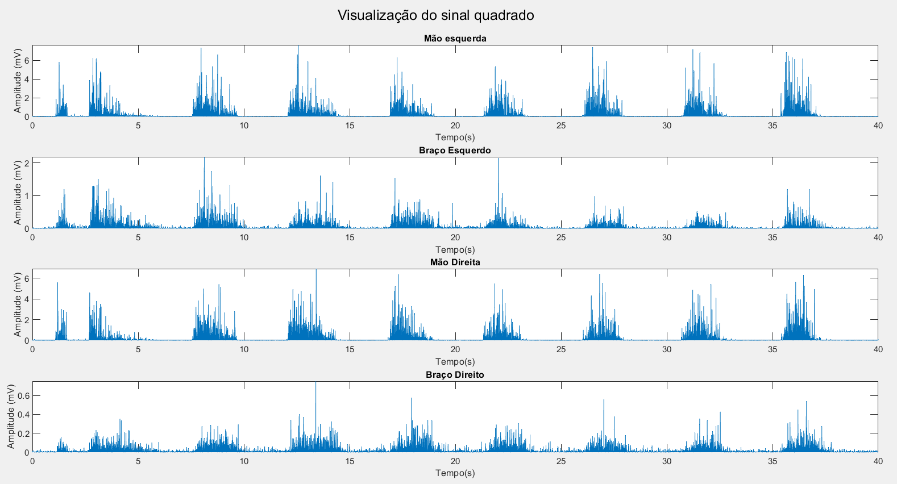
Optou-se por uma abordagem de quadrado ponto a ponto, ao invés de aplicação direta do valor absoluto aos sinais, por a primeira permitir dar ênfase das regiões de aumento repentino de atividade muscular, relativamente ao valor base do tónus muscular, permitindo uma deteção mais clara das contrações e uma consequente análise mais objetiva dessas mesmas contrações.

Figura 4 - Sinal quadrado

**3.3. Envelope do sinal**

Para a aplicação de um envelope ao grupo de Controlo, considerou-se uma média móvel com 1000 amostras por janela que, com uma Data de 40.000 amostras, perfaz um total de 40 janelas. Este pareceu-nos ser um valor que consideramos razoável para o resultado que pretendemos.

Por outro lado, para a análise do sinal de EMG referente ao grupo de doentes, considerou-se vantajoso utilizar uma janela de 1500 para suavizar o sinal, já que neste grupo o sinal recolhido é consideravelmente mais irregular que os sinais recolhidos no grupo de controlo.

Uma imagem com texto, captura de ecrã, Gráfico, file

Descrição gerada automaticamenteUma imagem com texto, captura de ecrã, file, Gráfico

Descrição gerada automaticamente

Figura 6 - Envelope do sinal (Grupo de Pacientes)

Figura 5 - Envelope do sinal (Grupo de Controlo)

**3.4. Transformada de Fourier**

Nesta etapa, procedeu-se a uma segunda transformação dos registos de EMG. Para estudar o sinal em domínio de frequências, foi aplicada a função *fft (Fast Fourier Transform)*, que, através de um ciclo for, itera sobre os 4 registos de EMG presentes na matriz de interesse, e aplica diretamente a função a cada um desses registos, individualmente:

Uma imagem com texto, captura de ecrã, file, diagrama

Descrição gerada automaticamenteUma imagem com texto, captura de ecrã, file, diagrama

Descrição gerada automaticamente

Uma imagem com texto, captura de ecrã, file, Gráfico

Descrição gerada automaticamente

Figura 8 - Espectro de Potências (Dir.)

Figura 7 - Espectro de Potências (Esq.)

**4. Estudo do sinal em MatLab**

Depois de devidamente tratados e processados, podemos começar a estudar os sinais que nos foram fornecidos. Com o intuito de perceber a diferença entre o sinal recolhido no grupo de controlo e no grupo de doentes, decidimos estudar a duração e a amplitude de cada contração nos diferentes grupos. Para tal, foram criados dois algoritmos:

**4.1. Algorithm2**

Este primeiro algoritmo permite-nos estudar o sinal individualmente em cada um dos 4 canais.

É criada uma variável Min referente aos valores mínimos do sinal de EMG no canal 2, que corresponde ao sinal recolhido no braço esquerdo. Com a média desses valores mínimos, criamos um threshold, que funciona como um limiar que nos vai indicar o início de uma contração muscular.

Iteramos sobre o sinal, fazendo um teste em cada amostra: se o sinal nesse instante for menor ou igual ao threshold definido, assume que o sinal naquele índice é igual a 0, e diferente de 0 quando for maior.

Inicializamos 4 vetores que vão ser preenchidos em cada iteração do ciclo for sobre o sinal:

1. O vetor contraction, que armazena valores de amplitude correspondentes a contração;
2. O vetor relaxation, que armazena valores de amplitude correspondentes a descontração;
3. O vetor tempo\_contract, que armazena instantes correspondentes ao início da contração;
4. O vetor tempo\_relax, que armazena instantes correspondentes ao início da descontração;

O sinal é percorrido desde a segunda até à penúltima amostra. Caso o sinal seja maior do que 0 num determinado instante, significa que é maior que o threshold definido, apontando para um momento de contração muscular. Caso seja igual a 0, significa que não ultrapassou o threshold definido, indicando um momento de descontração muscular. Obtém-se assim dois vetores que reúnem as amplitudes das amostras correspondentes a momentos de contração e descontração:

for i = 2:length(Data\_tratada)-1

   if data1(i)>0

      contraction(end+1)=Data\_tratada(i, 2);

   end

   if(data1(i)==0)

      relaxation(end+1)=Data\_tratada(i, 2);

   end

Posteriormente, fomos perceber em que instantes começaram as contrações e descontrações. Se uma determinada amostra fizer parte de um momento de descontração e a amostra imediatamente anterior estiver inserida num momento de contração, então o momento de passagem de um estado para o outro indica o início de uma descontração.

Por sua vez, se a amostra estiver num momento de descontração e a amostra seguinte num de contração, o instante de transição corresponde ao começo de uma contração.

Adicionamos cada instante de contração e descontração aos vetores tempo\_contract e tempo\_relax, respetivamente:

Uma imagem com texto, captura de ecrã, file, Gráfico

Descrição gerada automaticamente

Figura 9 - Instantes de contração e descontração

if data1(i) == 0 && data1(i-1)>0

      tempo\_relax(end+1)=time(i);

   end

   if data1(i) == 0 && data1(i+1)>0

      tempo\_contract(end+1)=time(i);

   end

end

De forma a percecionar visualmente o início e fim de uma contração, inserimos linhas verticais verdes e vermelhas, respetivamente, nos instantes correspondentes.

**4.2. Algorithm\_test**

Este algoritmo permite-nos analisar os 4 canais de EMG em simultâneo. Utiliza o threshold definido manualmente no ficheiro principal, e tem de ser ajustado conforme o ficheiro que estamos a ler. Isto porque um registo de EMG vai invariavelmente depender do indivíduo a quem foi recolhido esse registo e, por conseguinte, o threshold estabelecido também dependerá do sinal do indivíduo.

Começamos por criar duas matrizes 4x20 onde serão armazenados os instantes do sinal correspondentes a contrações e as descontrações, tempo\_contract e tempo\_relax, respetivamente. É também inicializada uma variável c, que indicará se a contração está ou não ativa:

c = 0: indica momento de descontração;

c = 1: indica momento de contração;

De forma a conseguir ler os 4 canais de EMG em simultâneo, foi criado um ciclo for que itera sobre todas as colunas da matriz Data\_tratada, e cria uma variável data1, que a cada iteração faz corresponder um dos quatro canais.

Seguidamente, inicializam-se as variáveis beginning\_index e end\_index, que vão tomar todos os valores dos 4 canais do sinal e armazenar aqueles que correspondem ao início e ao término de uma contração muscular, respetivamente.

O sinal é igualmente percorrido da segunda à última amostra. Caso o sinal seja maior que o threshold definido, o sinal imediatamente anterior seja menor que esse threshold e o estado atual do sinal seja de descontração (c = 0), é inserido um círculo verde no sinal nesse exato momento, dado que estamos perante uma contração muscular. O estado da variável c é então alterado para o valor 1, e o instante correspondente a esta alteração de estado é armazenado na matriz tempo\_contract. O algoritmo avança para o índice seguinte, de forma a evitar leituras repetidas.

Caso o sinal seja menor que o threshold, a amostra imediatamente anterior seja maior que o threshold e o estado atual do sinal seja de contração (c = 1), é inserido um círculo vermelho nesse exato instante, dado que estamos perante o início de uma descontração muscular. O procedimento estabelecido é exatamente igual ao descrito anteriormente. O estado da variável c é alterado, neste caso para o valor c = 0 e o instante correspondente a esta alteração de estado é armazenado, agora, na matriz tempo\_relax. O índice do sinal é incrementado em 1 unidade e o algoritmo prossegue a leitura:

hold on;

    beginning\_index(t)=0;

    end\_index(t)=0;

    for i = 2 : 40000

        if data1(i) >= threshold && data1(i-1) < threshold && c == 0

           plot(time(i), data1(i), 'og');

           tempo\_contract(t, beginning\_index(t)) = time(i);

           c = 1;

     beginning\_index(t) = beginning\_index(t) + 1;

   elseif data1(i) <= threshold && data1(i-1) > threshold && c == 1

           plot(time(i), data1(i), 'or');

           tempo\_relax(t, end\_index(t)) = time(i);

           c = 0;

           end\_index(t) = end\_index(t) + 1;

        end

    end

    hold off;

**5. Apresentação de resultados**

**5.1. Amplitude de contração**

Do algoritmo supracitado, surgem os vetores tempo\_contract e tempo\_relax, que serão utilizados agora para encontrar a amplitude de cada contração.

Percorremos o vetor onde se encontram os instantes de contração e, por cada intervalo, são encontrados os índices de começo e fim da mesma. Seguidamente, é encontrado o valor máximo de amplitude dentro do intervalo de cada contração e essa amplitude é adicionada ao vetor amplitude\_contracao, que será posteriormente visualizado em função do tempo de contração.

**5.2. Duração de contração**

Por último, fomos calcular a duração de cada contração. Antes disto, e nesta fase, é importante fazer um levantamento geral a nível de funcionamento dos dois algoritmos criados ao longo do projeto.

O algorithm2 percorre os vetores que guardam os tempos de contração e descontração até ao índice 8, porque geralmente a 9ª descontração ocorre já depois do intervalo de tempo que estamos a considerar na análise, ou seja, verifica-se após os 40 segundos.

Muitas vezes, o algorithm\_test, como depende de um threshold definido manualmente sem critério definido, regista uma descontração sem que antes seja registada uma contração, como podemos ver na seguinte figura:

Uma imagem com texto, captura de ecrã, software, Ícone de computador

Descrição gerada automaticamente

Figura 10 - Erro de deteção

Por esta razão, idealmente, é preferível utilizar o primeiro algoritmo. No entanto, e para evitar que a análise da duração da contração seja afetada por estes erros, sempre que o tempo de contração é superior ao de descontração, ignoramos o primeiro instante de relaxamento e começamos a contar a duração da contração a partir da primeira contração registada. Desta forma, o erro sistemático indicado anteriormente é totalmente anulado, independentemente do algoritmo utilizado.

É inicializado um vetor duracao\_contract (controlo ou pacientes, conforme o ficheiro lido). No entanto, e caso o algorithm\_test seja o escolhido, o processo é semelhante ao anterior, mas passa a ser necessário especificar qual o canal de interesse.

**6. Discussão de resultados**

Para esta unidade, e para efeitos de simplificação na apresentação dos resultados, foram selecionados alguns ficheiros de ambos os grupos de indivíduos, e analisados em paralelo, de forma a enfatizar as diferenças entre eles. As próximas duas imagens referem-se ao ficheiro *“Ct21\_PV.txt”* (grupo de Controlo) e ao ficheiro *“Pt24\_VR.txt”* (grupo de Pacientes)

Uma imagem com texto, captura de ecrã, file, Tipo de letra

Descrição gerada automaticamenteUma imagem com texto, captura de ecrã, file, Tipo de letra

Descrição gerada automaticamente

Figura 11 - Sinal do grupo de Controlo

Figura 12 - Sinal do grupo de Pacientes

Através da visualização do sinal destes dois ficheiros, conseguimos perceber, imediatamente, que as contrações e descontrações no sinal de Controlo são muito mais facilmente observáveis. Isto não se verifica no caso do sinal do Paciente.

É também possível verificar que, no caso do ficheiro do Paciente, são detetadas amplitudes com dimensões anormais na fase de repouso do movimento. Este facto prende-se com as características da própria doença. Potenciais de fasciculação em repouso são característicos da esclerose lateral amiotrófica, ou seja, são potenciais que impedem o músculo de atingir um estado total de repouso dado que existe desenervação nos plexos. [3]

Fazendo agora uma análise da amplitude das contrações do sinal dos ficheiros *“Ct4\_ClF.txt”* e *“Pt24\_VR.txt”*, obtemos as seguintes representações:

Uma imagem com texto, captura de ecrã, file, Gráfico

Descrição gerada automaticamenteUma imagem com texto, captura de ecrã, file, Gráfico

Descrição gerada automaticamente

Figura 13 - Contrações no grupo de Controlo

Figura 14 - Contrações no grupo de Pacientes

Aplicando o código criado para estudo da duração das contrações e da amplitude das mesmas, obtivemos os seguintes resultados, em forma de vetores:

duracao\_contract\_controlo =

2.6640 2.1650 3.1520 2.8870 2.8500 2.9230 2.8950 2.8220

amplitude\_contracao\_controlo =

0.0297 0.0543 0.1131 0.1036 0.0963 0.1373 0.1020 0.1228 0.0768

duracao\_contract\_pacientes =

3.2090 3.0610 2.2830 2.9150 3.0410 3.0420 2.6610 3.2270

amplitude\_contracao\_pacientes =

0.0170 0.0124 0.0109 0.0117 0.0111 0.0179 0.0117 0.0137

Comparando o sinal recolhido de pacientes do sexo masculino e feminino, também conseguimos perceber que no sexo masculino as consequências da doença são muito mais visíveis. Por exemplo, o sinal EMG do paciente 24\_VR, feminino, ilustrado em cima, apresenta muitos menos potenciais de fasciculação comparado com o sinal do paciente, masculino, 10\_FM. O mesmo para as contrações, onde o paciente 10\_FM apresenta tempos e amplitudes de contração muito mais irregulares do que o paciente 24\_VR.

Uma imagem com texto, file, Gráfico, diagrama

Descrição gerada automaticamenteUma imagem com texto, captura de ecrã, número, Tipo de letra

Descrição gerada automaticamente

Figura 15 - Sinal EMG Pt10\_FM

Figura 16 - Contrações musculares Pt10\_FM

**6.1. Justificação de resultados**

Ao longo deste trabalho, e como descrito anteriormente, um dos focos principais passou por comparar os tempos e as amplitudes das contrações musculares entre o grupo de controlo e o grupo de pacientes com esclerose lateral amiotrófica. Como expectável, os resultados revelaram diferenças significativas ao nível destes dois parâmetros. Verificou-se que, de modo geral, o grupo de pacientes com ELA demonstrou tempos de contração mais irregulares, ou seja, verificou-se que contrações musculares sucessivas apresentavam grandes discrepâncias quer a nível temporal, quer a nível morfológico. O mesmo se verificou para amplitudes de contração. Estes resultados estão em total concordância com as características fisiopatológicas da esclerose lateral amiotrófica.

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é uma doença neurodegenerativa caracterizada pela degeneração seletiva dos neurónios motores superiores e inferiores e pela fraqueza progressiva e paralisia dos músculos voluntários. A junção neuromuscular é a componente responsável pela ligação entre as fibras musculares e os neurónios motores. É precisamente ao nível desta ligação que a ELA atua. Verifica-se um comprometimento severo ao nível da capacidade de comunicação entre os músculos e os nervos, e é por esta razão que ocorre uma paralisia muscular progressiva e involuntária [4]. Consequentemente, ocorre uma diminuição na excitabilidade muscular e uma redução da função muscular. Estas alterações fisiológicas explicam tempos de contração mais curtos, bem como contrações musculares menos amplas.

No grupo de pacientes com ELA, observou-se também uma notável irregularidade e uma não dependência de padrões claros e previsíveis nos sinais de EMG. Para além disso, quando comparados pacientes do sexo masculino com pacientes do sexo feminino, nota-se uma clara diferença dos sinais obtidos, o que também vai de acordo com o que se sabe sobre esta doença, que tem uma leve predominância sobre o sexo masculino.

**7. Considerações finais**

É importante ressaltar que os resultados obtidos neste trabalho devem ser interpretados levando emconsideração as características individuais dos participantes e as possíveis limitações do estudo, como o tamanho da amostra e a variabilidade dos dados. No entanto, consideramos que a análise dos sinais fornecidos conduziu a conclusões que são coerentes com a literatura existente sobre a esclerose lateral amiotrófica, que descreve a progressão da doença como uma causa subjacente para a redução na duração e amplitude das contrações musculares.

Concluindo, a análise dos sinais de EMG de ambos os grupos revelou não só as diferenças significativas que existem a nível fisiológico entre os dois grupos, como também forneceu informações sobre padrões de atividade muscular distintos na esclerose lateral amiotrófica (ELA) em comparação com o grupo de controlo.

**8. Referências**

[[1] Jensen, L., Jørgensen, L. H., Bech, R. D., Frandsen, U., & Schrøder, H. D. (2016). Skeletal Muscle Remodelling as a Function of Disease Progression in Amyotrophic Lateral Sclerosis. BioMed research international, 2016, 5930621.](https://www.hindawi.com/journals/bmri/2016/5930621/)

[[2] Špulák, D., Cmejla, R., Bačáková, R., Kračmar, B., Satrapová, L., & Novotný, P. (2014). Muscle activity detection in electromyograms recorded during periodic movements. *Computers in Biology and Medicine, 47,* 93–103.](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0010482514000249?via%3Dihub)

[[3] Madureira, C. (2012). *Diagnóstico Diferencial de Esclerose Lateral Amiotrófica - A propósito de um caso clínico* [Tese de Mestrado, Universidade da Beira Interior – Ciências da Saúde]. Covilhã.](https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/1098/1/Disserta%c3%a7%c3%a3o%20Cristina%20Madureira.pdf)

[[4] Scaricamazza, S., Salvatori, I., Ferri, A., & Valle, C. (2021). Skeletal Muscle in ALS: An Unappreciated Therapeutic Opportunity?. *Cells*, *10*(3), 525.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8000428/)