

UNIVERSITÀ DI PADOVA



FACOLTÀ DI INGEGNERIA

ANATOMIA E FUNZIONALITÀ DELLA FASCIA CRURALE

Misure e modelli

Laureando: Guglielmo Frigo

Relatore: Prof. Luigino Benetazzo

Correlatori: Prof. Arturo Natali
Dott.sa Carla Stecco

Corso di laurea triennale in
INGEGNERIA BIOMEDICA

Data 25/09/08

ANNO ACCADEMICO 2007/2008

Autorizzo consultazione e prestito tesi.

Indice

GENERALITÀ

CAPITOLO I: Anatomia e fisiologia del sistema fasciale	1	
1.1	Introduzione	1
1.2	Il tessuto connettivo	1
1.2.1	La sostanza fondamentale	2
1.2.2	Le cellule del tessuto connettivo	4
1.2.3	Le fibre collagene	5
1.2.4	Le fibre elastiche	7
1.2.5	Le funzioni del tessuto connettivo	8
1.3	Il sistema fasciale	9
1.3.1	Organizzazione delle fasce nel tronco	9
1.3.2	Organizzazione delle fasce negli arti	10
1.4	La fascia profonda degli arti	10
1.4.1	Descrizione istologica	11
1.4.2	Differenze tra arti superiori ed inferiori	12
CAPITOLO II: Caratterizzazione funzionale della fascia	13	
2.1	Introduzione	13
2.2	Aspetti meccanici	13
2.3	Aspetti neurosensoriali	17
CAPITOLO III: Analisi sperimentale	22	
3.1	Introduzione	22
3.2	Analisi istologica del campione	22
3.2.1	Colorazione <i>Azan Mallory</i>	23
3.2.2	Acquisizione delle immagini	23
3.3	Elaborazione delle immagini	23
3.4	Sviluppo del modello tridimensionale	24
3.4.1	Ricostruzione dei volumi	25
3.4.2	Ricostruzione delle superfici esterne	25
3.5	Misure	26
3.6	Innervazione della fascia	26
CONCLUSIONE	29	

APPENDICE A: Listati	30
A.1 <i>Scale Levels</i>	30
A.2 <i>CreateVTKfile</i>	33
APPENDICE B: Tavole	37
B.1 Immagini 1 – 4	37
B.2 Immagini 5 – 8	38
B.3 Immagini 9 – 12	39
B.4 Immagini 13 – 16	40
B.5 Immagini 17 – 20	41
B.6 Immagini 21 – 24	42
B.7 Immagini 25 – 28	43
B.8 Immagini 29 – 32	44
B.9 Immagini 33 – 36	45
B.10 Immagine 37	46
B.11 Modello ottenuto tramite <i>Volume Viewer</i>	46
B.12 Modello ottenuto tramite <i>CreateVTKfile</i>	47
B.12.1 Tavola 1	47
B.12.2 Tavola 2	48
APPENDICE C: Tabelle	49
C.1 Misure di area e frazione di volume delle tre componenti	49
C.2 Misure dell'angolo tra le orientazioni dei due strati nel piano xy	50
C.3 Misure dello spessore dei due strati nel piano xz	50
APPENDICE D: Tavole	51
D.1 Sezione 21, ingrandimento 5x	51
D.2 Sezione 23, ingrandimento 10x	51
D.3 Sezione 15, ingrandimento 25x	52
D.4 Sezione 13, ingrandimento 63x	52
D.5 Semifini, ingrandimento 40x [a] e 63x [b]	53
D.6 Microscopio elettronico, ingrandimento 10000x [a] e 20000x [b]	54

BIBLIOGRAFIA

Generalità

Nella comunità scientifica medica la Fascia Profonda è attualmente oggetto di approfondite ricerche, il cui obiettivo riguarda la caratterizzazione anatomico-funzionale delle parti preposte alle articolazioni, in particolare degli arti inferiori e superiori del corpo umano. In effetti, recenti risultati le attribuiscono un ruolo di primo piano nella percezione e coordinazione dei movimenti, grazie alle peculiari proprietà meccaniche e alla fitta innervazione che la contraddistinguono.

L'indagine svolta riguarda un campione di Fascia Crurale, prelevato nella regione posteriore del ginocchio, uno dei distretti corporei maggiormente coinvolti nell'attuazione dei movimenti. L'analisi istologica del tessuto ha messo in luce una struttura composta, in cui ogni componente comporta una particolare influenza sulla funzionalità del tessuto. Pertanto, è importante comprendere i diversi contributi e le interazioni che determinano la risposta ad una sollecitazione. A tal proposito, è di particolare interesse concettuale ed operativo il poter disporre di modelli tridimensionali computerizzati. Infatti, un modello computerizzato, se adeguatamente dettagliato nella rappresentazione che fornisce, consente un'elevata flessibilità nell'approccio sperimentale e nelle misurazioni che lo sostanziano.

Obiettivo dello studio qui presentato è stato, appunto, la messa in essere di un modello delle fibre collagene della Fascia Crurale e delle relative procedure capaci di misurazioni dettagliate.

CAPITOLO I

Anatomia e fisiologia del sistema fasciale

1.1 Introduzione

In ambito bioingegneristico, ogni tentativo di modellizzazione del comportamento meccanico di un tessuto biologico deve essere necessariamente preceduto da un'attenta analisi degli aspetti di carattere anatomico ed istologico. Solo una precisa conoscenza della morfometria e della funzionalità dei tessuti in esame permette di considerare con la dovuta attenzione aspetti quali la disposizione delle strutture fibrose o la percentuale relativa della componente liquida, e di ottenere un'interpretazione costitutiva dei risultati raggiunti.

Tali considerazioni generali si applicano certamente al campione di fascia crurale, oggetto di questo lavoro, che entra a far parte del sistema fasciale, un insieme di tessuti connettivi che si dispiega all'interno del nostro organismo. Pertanto, è indispensabile considerare la configurazione anatomica di tali tessuti e i ruoli che questi svolgono all'interno del nostro organismo.

1.2 Il tessuto connettivo

Il termine tessuto connettivo viene utilizzato per descrivere “un gruppo di tessuti diversi che condividono una comune origine dal mesenchima dell'embrione” [1].

Il mesenchima è il tessuto embrionale da cui originano tutti i tessuti connettivi. È composto da cellule che, non avendo una marcata caratterizzazione, possono differenziarsi nei diversi tipi cellulari che costituiscono il tessuto connettivo. Tuttavia, “alcune cellule mesenchimali restano tali anche nel tessuto pienamente maturo e svolgono il ruolo di cellule staminali” [2].

Questa famiglia di tessuti biologici è caratterizzata da una struttura composita, in cui le cellule sono legate ad una matrice extracellulare, a sua volta costituita da una fase liquida ed una fibrosa. Il numero, la tipologia e le modalità di associazione delle cellule, assieme alle

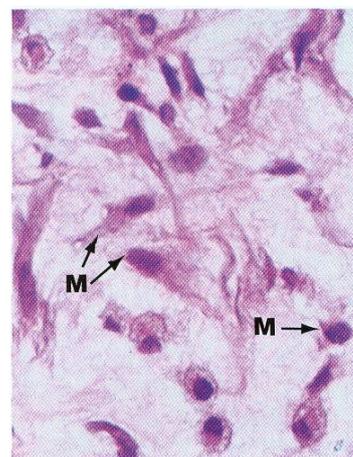


Figura 1.21 Cellule mesenchimali (M) [2].

caratteristiche chimiche e fisiche e ai rapporti quantitativi tra le diverse componenti della matrice, permettono di distinguere diverse forme di tessuto connettivo [3]. Infatti, si definiscono connettivi sia tessuti caratterizzati da una matrice extracellulare solida come le cartilagini o le ossa deputate al sostegno di tutto il corpo, sia tessuti molli quali quello adiposo ricco di lipidi, principale risorsa

energetica dell'organismo. Una prima suddivisione individua quattro classi principali: tessuto connettivo propriamente detto, tessuto cartilagineo, tessuto osseo, sangue e linfa.

Il tessuto connettivo propriamente detto è presente in tutto l'organismo e funge da elemento di coesione tra componenti strutturali diverse. Al suo interno si distribuisce una fitta rete di vasi sanguigni per veicolare le sostanze nutritive dirette agli organi e raccogliere i rifiuti del loro metabolismo.

Dal punto di vista strutturale, le cellule che lo compongono si trovano disperse all'interno di un'abbondante matrice extracellulare, che a sua volta può essere suddivisa in una componente fibrosa e in una gelatinosa altamente idratata: la sostanza fondamentale. La fase fibrillare è composta da fibre collagene, fibre elastiche, ma anche altre classi di microfibrille, come la fibrillina.

In base alla percentuale relativa di cellule, fibre o sostanza fondamentale è possibile identificare due principali varianti: il tessuto connettivo denso e il tessuto connettivo lasso. Nel primo si registra un'ampia percentuale di fibre che sono tra loro strettamente intrecciate, mentre nel secondo il loro numero è decisamente inferiore e di conseguenza anche il loro intreccio è meno fitto.

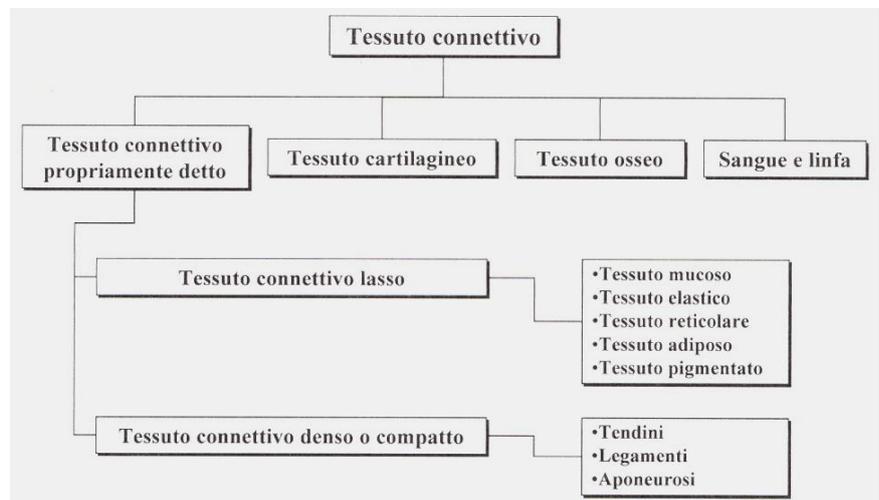


Figura 1.22 Classificazione tessuti connettivi [3].

Un'ulteriore discriminazione nell'ambito dei tessuti densi permette di distinguere quelli definiti irregolari in cui le fibre collagene presentano un orientamento casuale, da quelli definiti regolari in cui le fibre collagene si organizzano in fasci paralleli, come nei tendini, o in lamine piatte, come nelle aponeurosi. Le aponeurosi, infatti, sono strutture costituite da più strati connettivali posti parallelamente l'uno sopra l'altro e separano i muscoli gli uni dagli altri. Le regioni in cui raggiungono maggiore spessore ed evidenza sono quella ventrale addominale, quella dorsale addominale e quella palmare.

1.2.1 La sostanza fondamentale

La sostanza fondamentale è una fase gelatinosa altamente idratata, al cui interno si trovano immerse le cellule e le fibre del tessuto. La componente acquosa costituisce un veicolo per le sostanze di nutrimento e rifiuto che transitano tra i vasi sanguigni e il parenchima degli organi adiacenti. La sua

struttura amorfa è costituita, oltre che da acqua, sali minerali e vitamine, da mucopolisaccaridi acidi o glicosaminoglicani (GAGs) e glicoproteine.

I GAGs sono dei polimeri a sviluppo lineare, che si formano a seguito della “ripetizione lineare di monomeri costituiti da due unità di natura glucidica” [3]. La loro funzione principale è quella di formare una sorta di matrice gelatinosa che promuove la coesione cellulare ed è in grado di trattenere l’acqua a livello degli spazi interstiziali, ma essi presentano anche delle importanti proprietà polielettrolitiche che permettono di stabilizzare il bilancio elettrolitico.

Tra i principali esponenti di questa famiglia polimerica si contano la condroitina solfato, l’eparina, il dermatan solfato e l’acido ialuronico. Si deve all’elevata viscosità in soluzione di quest’ultimo la consistenza gelatinosa, che non ostacola la diffusione dei prodotti del metabolismo, ma quella dei batteri che tentassero di penetrare nei tessuti. Non a caso si è riscontrato che le specie batteriche più invasive sono quelle in grado di sintetizzare l’enzima ialuronidasi, capace di spezzare le catene di acido ialuronico.

Tuttavia, all’interno della sostanza fondamentale tali molecole si organizzano in macrostrutture, i proteoglicani, costituiti da un singolo filamento proteico su cui si inseriscono numerose catene polisaccaridiche, costituite da glicosaminoglicani. L’estrema idrofilia conferisce loro la capacità di legare acqua e di ripartirla per tutta la sostanza fondamentale, regolando così gli scambi osmotici con le popolazioni cellulari. Inoltre, conferiscono alla sostanza fondamentale plasticità e al tempo stesso una resistenza considerevole nei confronti delle forze di compressione. A loro volta i proteoglicani si uniscono a lunghe catene lineari di acido ialuronico, originando dei veri e propri aggregati. L’insieme delle molecole proteoglicaniche viene così a costituire una rete tridimensionale aggrovigliata le cui maglie sono occupate esclusivamente da acqua ed elettroliti.

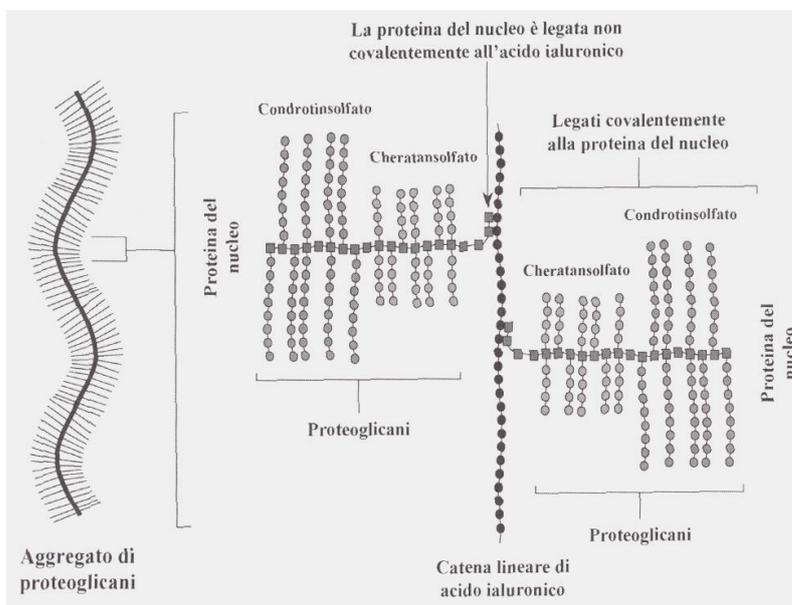


Figura 1.2.11 Struttura di un aggregato di proteoglicani [3].

Sotto la denominazione “glicoproteine della sostanza fondamentale” sono raggruppati vari tipi di molecole in grado di svolgere funzioni specifiche nei tessuti in cui sono presenti. Molte glicoproteine presenti nella sostanza fondamentale sono glicoproteine plasmatiche passate nella matrice extracellulare, ma, accanto a queste

glicoproteine che diffondono dal plasma nella sostanza fondamentale, sono anche presenti le glicoproteine proprie della matrice.

Una classe rilevante è costituita dalle glicoproteine strutturali, come la fibronectina o la laminina, che hanno il ruolo principale di raccordare il complesso di molecole della matrice extracellulare alle popolazioni cellulari in essa accolte.

1.2.2 Le cellule del tessuto connettivo

Tra le cellule disperse nella matrice si possono individuare due gruppi: le cellule fisse e quelle mobili.

Delle prime il principale esempio sono i fibroblasti, costituenti una popolazione stabile data la loro lunga sopravvivenza e addetti alla produzione delle strutture fibrose e alla secrezione della sostanza fondamentale. Infatti, “sintetizzano e secernono i precursori dei glicosamminoglicani, del collagene, dell’elastina e tutti gli altri componenti della matrice extracellulare” [2]. Si è osservato che nei fibroblasti attivi i principali artefici del processo di sintesi delle proteine, ossia il citoplasma, l’apparato del Golgi e il reticolo endoplasmatico rugoso si espandono in modo evidente.

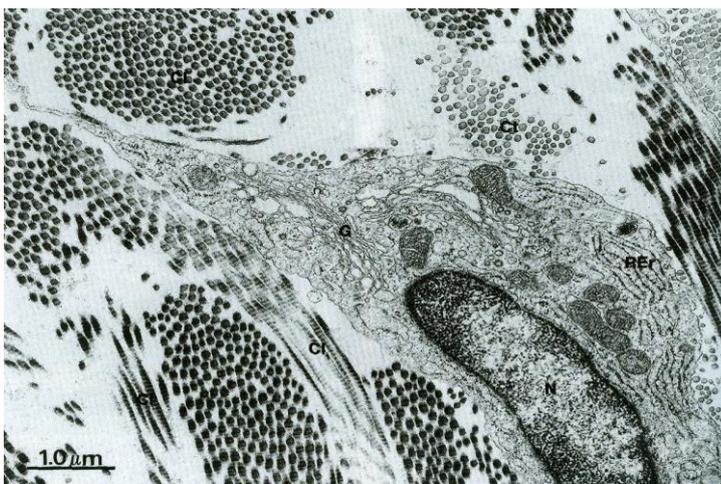


Figura 1.2.21 Fibroblasti in cui si evidenziano il nucleo (N), l’apparato del Golgi (G), il reticolo endoplasmatico rugoso (REr), fasci di fibrille di collagene in sezione trasversale (Ct) o longitudinale (Cl) [2].

Un altro esempio è costituito dagli adipociti in grado di immagazzinare e, all’occasione, rilasciare lipidi, usati come scorte di energia pronta all’uso. Infatti, presentano particolari recettori “che modulano la captazione e il rilascio dei lipidi” [2]. Dato l’ingente accumulo di materiale lipidico hanno al loro interno una grossa goccia lipidica mentre il nucleo e gli organuli citoplasmatici sono spostati alla periferia della cellula. Possono trovarsi come cellule singole o aggregate in maniera cospicua e allora costituiscono il tessuto adiposo.

Tra le seconde si enumerano delle cellule mobili di vita limitata

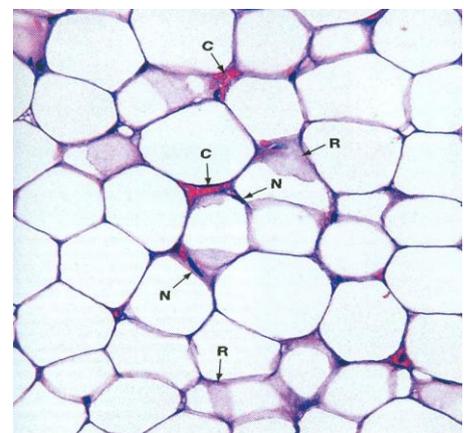


Figura 1.2.22 Tessuto adiposo bianco: capillari (C), nucleo (N) e citoplasma (R) degli adipociti [2].

e presenti in numero variabile, che svolgono un importante ruolo nei meccanismi difensivi dei tessuti, quali eosinofili, monociti, macrofagi, linfociti, plasmacellule e mastociti. Esse, infatti, provengono dal sangue e diffondono tra le fibre, ma il loro numero aumenta soprattutto in caso di reazioni infiammatorie all'ingresso di batteri patogeni. Particolare attenzione meritano i macrofagi che svolgono una duplice funzione. Da un lato collaborano alla difesa immunitaria ingerendo i batteri e attivando, tramite particolari antigeni, la produzione di nuovi anticorpi da parte dei linfociti. Dall'altro

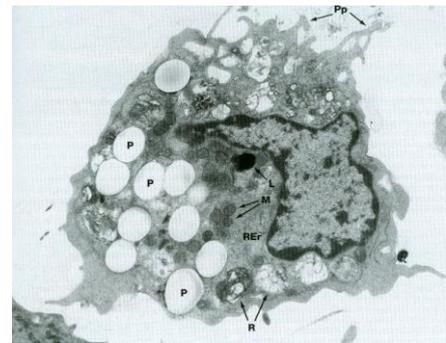


Figura 1.2.23 Macrofago: mitocondri (M), reticolo endoplasmatico rugoso (REr), lisosomi (L), particelle inglobate (P), corpi residui (R), pseudopodi (Pp) [2].

sono preposti al mantenimento dei tessuti grazie alla digestione di tutti i detriti cellulari, quali cellule morte e altre particelle. Quando sono inattivi presentano dimensioni ridotte e si disperdono fra le fibre della matrice, al contrario, una volta attivati, diventano ipertrofici e si spostano di moto ameboide attraverso la sostanza fondamentale grazie a delle particolari proiezioni citoplasmatiche, i pseudopodi.

1.2.3 Le fibre collagene

Una costante in tutti i tipi di tessuto connettivo è la presenza delle fibre collagene, che svolgono funzioni di supporto e collegamento. Il collagene viene secreto all'interno della matrice extracellulare come tropocollagene, costituito da “tre catene polipeptidiche (catene α) legate insieme per formare una struttura elicoidale lunga 300 nm e del diametro di 1,5 nm” [2]. Dal punto di vista della composizione chimica, ogni catena presenta la ripetizione della tripletta di sequenza: glicina, prolina e idrossiprolina $(\text{Gly-Pro-Hyp})_n$. La glicina, di dimensioni ridotte, occupa prevalentemente l'interno della superelica, mentre prolina e idrossiprolina conferiscono il caratteristico andamento a spirale.

La polimerizzazione delle molecole di tropocollagene genera dei lunghi filamenti che si intrecciano tra loro in una superelica molto compatta, detta anche fibrilla. Questa struttura è stabilizzata dalle interazioni che vengono a formarsi tra le tre eliche che costituiscono la superelica. Si riscontrano, infatti, legami ionici, reticolazioni intercatena o *cross links*, ma soprattutto legami ad idrogeno tra i gruppi N-H della glicina e i gruppi O-H dell'idrossiprolina con “direzione perpendicolare all'asse della superelica” [3].

Le fibrille si dispongono, poi, lungo uno stesso asse a formare file parallele sfalsate, il che giustifica le tipiche striature periodiche che si osservano al microscopio elettronico. L'instaurazione di legami incrociati tra fibrille adiacenti origina le fibre propriamente dette, che, a loro volta, si associano per costituire i fasci.

I fasci di fibre collagene, quindi, non si presentano come coacervi fibrosi senza alcun ordine apparente, ma come una struttura caratterizzata da un'elevata organizzazione gerarchica, in cui le fibre sono mantenute allineate ed adiacenti dai legami chimici che si instaurano tra di loro. Tale configurazione interna giustifica il comportamento meccanico delle fibre collagene. In assenza di sollecitazione esterna, esse assumono una caratteristica conformazione ondulata, denominata *crimped configuration*.

Se, invece, le si sottopone ad una prova di carico nella direzione predominante di sviluppo delle fibrille, si assiste ad una risposta tipicamente non lineare, in cui da un'iniziale regione a bassa rigidità si passa, attraverso un progressivo incremento, ad una regione ad alta rigidità. Infatti, in condizione di limitata sollecitazione esterna, le fibrille di collagene si trovano in una conformazione tipicamente ondulata ed i legami tra le fibrille non sono tensionati. L'applicazione della sollecitazione comporta un crescente stiramento delle fibrille, definito *uncrimping*, accompagnato da un progressivo tensionamento dei legami inter- e intra-fibrillari. Questo determina un graduale incremento della rigidità della struttura, sino al raggiungimento del suo valore massimo. Superato questo valore, all'interno della struttura iniziano a manifestarsi processi inelastici di danneggiamento, fino alla rottura dei legami inter- e intra-fibrillari, con conseguente decadimento delle proprietà meccaniche.

La risposta microstrutturale, quindi, giustifica le elevate capacità di resistenza agli sforzi di trazione manifestate da strutture biologiche, come i tendini e i legamenti, costituite dall'aggregazione di più fasci. Nel caso del legamento parodontale o PDL, che collega l'osso alveolare alla radice del dente, nella regione entesiale, ossia di inserzione delle fibre collagene del PDL sulla superficie della radice, si registra un modulo elastico di 1-3 GPa [4].

Sottoposte all'ebollizione, il calore denatura le molecole proteiche che, dopo il raffreddamento della miscela, danno origine a un gel altamente viscoso (gelatina).

Il collagene è la proteina presente in maggiore abbondanza nel nostro organismo, rappresentandone circa un quarto del totale. Tuttavia, non si tratta di una singola molecola che si ripete identica a se stessa in tutti i distretti corporei, ma di una famiglia di strutture proteiche, che sono state identificate in ventisette tipi. Il tipo I, presente in percentuali maggiori rispetto agli altri, è rintracciabile nel derma, nelle ossa, nei tendini e nelle fasce. Il tipo II caratterizza la cartilagine ialina ed elastica, il

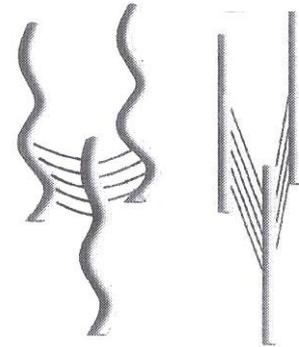


Figura 1.2.32 Configurazione *crimped* e *uncrimped* delle fibrille di collagene.

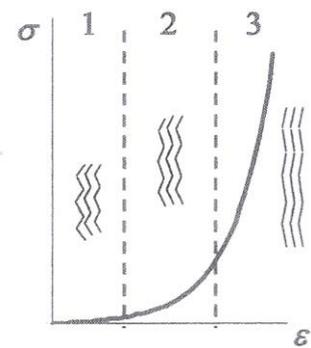


Figura 1.2.33 Diagramma tensione-deformazione della prova di trazione monoassiale.

nucleo dei dischi intervertebrali e il corpo vitreo, mentre il tipo III si trova nelle pareti dei vasi sanguigni, nel rene, nella milza, ma soprattutto nei tessuti connettivali lassi. I tipi IV e V abbondano nelle lamine basali o nelle lamine esterne alle fasce muscolari, quelli IX e X principalmente nelle cartilagini, mentre percentuali minori sono riservate agli altri.

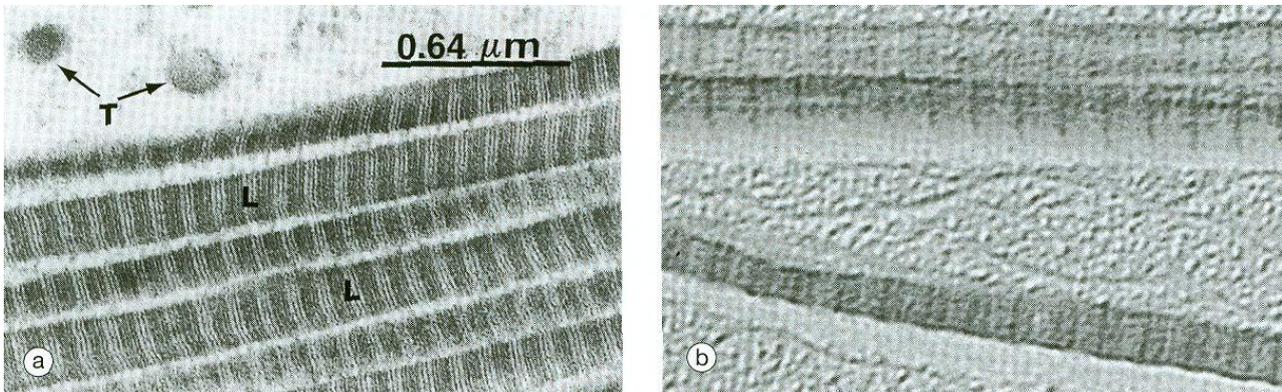


Figura 1.2.31 Fotografia (a): fibre di collagene di tipo I in sezione longitudinale (L) o trasversale (T); fotografia (b): fibre di collagene di tipo I dissociate [2].

1.2.4 Le fibre elastiche

Le fibre elastiche si distinguono dalle precedenti per il diametro, più piccolo ed uniforme, e per il fatto che tendono a ramificarsi, fino a formare una sorta di rete lassa. Si presentano in prevalenza nei tessuti connettivi lassi dove formano strutture ramificate di fibre sottili, mentre in altri tessuti fibre più grosse si dispongono parallelamente a comporre lamine fenestrate.

Dal punto di vista strutturale, “sono costituite da un asse amorfo di elastina circondato dalla glicoproteina microfibrillare fibrillina” [1]. All’interno della catena amminoacidica, si sono individuate la desmosina e l’isodesmosina come possibili responsabili dei legami crociati, o *cross links*, che si formano tra le molecole, dando luogo alle reticolazioni apparentemente casuali tra le varie catene. La particolare struttura tridimensionale conferisce alle catene delle ottime proprietà elastiche: le fibre sottoposte a trazione sono capaci di notevoli dilatazioni, fino a valori del 150 % con carichi di 20-30 kg/cm², per poi ritornare alla configurazione iniziale una volta cessata la sollecitazione. All’applicazione di un carico, le catene tendono a disporsi secondo la direzione della

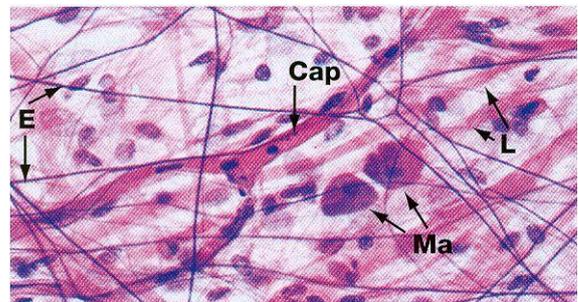


Figura 1.2.41 Fibre di elastina (E), fibre di collagene in sezione longitudinale (L), mastociti (Ma), capillare (Cap) [2].

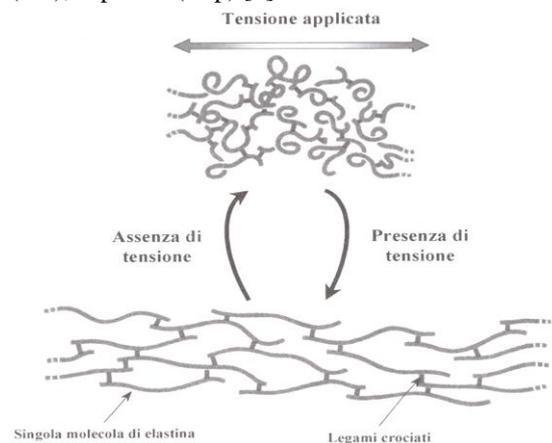


Figura 1.2.42 Fibre elastiche sottoposte a condizioni di carico e scarico [3].

sollecitazione. Al momento della disapplicazione, ritornano alla conformazione di massima entropia, cui corrisponde un minimo energetico, determinando un completo recupero della deformazione precedentemente conseguita. A tale scopo risulta fondamentale la presenza dei *cross links*, che impediscono il verificarsi di scorrimenti irreversibili tra le diverse catene, assicurando l'assenza di eventuali deformazioni residue.

Le fibre elastiche, infatti, abbondano in regioni, come i polmoni o l'aorta, in cui è richiesta un'elevata dilatazione durante la fase di carico, ma anche un rapido ed efficace ritorno elastico. Tuttavia, le fibre di elastina risultano intrecciate con quelle di collagene, dotate di scarsa elasticità, che "limitano l'entità della deformazione, evitando così la lacerazione dei tessuti" [3].

1.2.5 Le funzioni del tessuto connettivo

La peculiare composizione rende il tessuto connettivo un mezzo capace di svolgere funzioni anche molto diverse tra loro. La componente gelatinosa, rappresentata dalla sostanza fondamentale, conferisce rigidità nei confronti degli sforzi di compressione e i suoi flussi all'interno della matrice fibrosa attribuiscono carattere viscoelastico al comportamento meccanico del tessuto, "nonché interessanti proprietà come collante, lubrificante ed ammortizzatore d'urti" [3]. Infatti, le lunghe catene di GAGs sono ricche di cariche negative che, essendo concordi, si respingono l'un l'altra favorendo disposizioni lineari ed estese. Inoltre, la sostanza fondamentale è ricca anche di vitamine e sali minerali e funge da veicolo per il trasporto delle sostanze nutritive dai vasi alle cellule e dei cataboliti lungo il percorso inverso. Sempre dal punto di vista trofico, è importante ricordare la riserva energetica rappresentata dagli adipociti. Infine, al suo interno si trovano dispersi o diffondono dai vasi sanguigni i principali interpreti della risposta immunitaria, che combattono l'insorgere di eventi patologici o l'ingresso di batteri patogeni.

La compresenza sia di fibre collagene che di fibre elastiche permette al tessuto di svolgere al meglio la funzione di supporto meccanico. Le larghe maglie del coacervo fibroso sia consentono il flusso della sostanza fondamentale al loro interno, sia assicurano sostegno e protezione alle cellule, che non perdono integrità o conformazione, anche al variare delle condizioni. La flessibilità e la capacità di recuperare la forma originaria anche dopo deformazioni elevate, conferite dalle fibre elastiche, motivano l'abbondanza di tessuto connettivale lasso nei siti in cui è richiesta della mobilità, quali le pareti dei vasi arteriosi o polmonari. Il tessuto connettivo denso, invece, si concentra dove è necessaria maggiore solidità e i fasci di collagene sono orientati in modo tale da resistere a varie configurazioni di sollecitazione.

Un altro ruolo importante svolto dal tessuto connettivo è la riparazione dei tessuti. I fibroblasti, infatti, a seguito di una lesione in una qualsiasi parte del corpo, proliferano e aumentano la fibrogenesi, cioè la produzione di nuove strutture fibrose. Ciò consente di riparare non solo i danni

subiti dai tessuti connettivi, ma anche quelli subiti da tessuti con una scarsa capacità di rinnovarsi. Un esempio eclatante è fornito dall'infarto del miocardio, a seguito del quale cicatrici di tessuto connettivo denso, ricco di fibre, sostituiscono le parti lese.

1.3 Il sistema fasciale

Con il termine fascia si è soliti indicare un insieme di strutture connettivali, che possono differire molto tra di loro sia dal punto di vista istologico che funzionale. Il sistema delle fasce, che si dipana all'interno del nostro organismo, si dimostra essere stratificato, e la composizione e il numero di questi strati variano a seconda del distretto corporeo.

1.3.1 Organizzazione delle fasce nel tronco

Nel tronco, per esempio, sotto la cute costituita da epidermide e derma, si susseguono l'ipoderma e la fascia profonda. A sua volta, l'ipoderma può essere suddiviso in tre strati: superficiale, intermedio detto anche fascia superficiale, profondo. Il primo è costituito dai legamenti cutanei, fasci di fibre collagene che ancorano il derma allo strato intermedio e formano una sorta di reticolazione, il *retinaculum cutis*, nelle cui cavità si accumulano i lobuli adiposi. Quello intermedio presenta fasci di fibre dall'andamento parallelo alla cute, arrivando a costituire un vero e proprio strato lamellare da cui deriva il nome di *fascia superficialis*.

Lo strato profondo, infine, è composto da una sottile lamina di tessuto connettivo lasso che permette lo scorrimento sulle strutture sottostanti.

La fascia profonda si estende lungo tutto il corpo collegandosi nei vari distretti con i muscoli che ricopre. Come nel caso precedente, la sua struttura può essere tripartita in tre lamine, separate ciascuna da un sottile strato di tessuto adiposo che agevola gli scorrimenti e i movimenti relativi. All'interno di ognuna di queste lamine è individuabile uno sdoppiamento che accoglie al suo interno vari muscoli, i quali risultano indivisibili dall'epimisio degli stessi. Per esempio, nella lamina più superficiale si può rintracciare la fascia del gran dorsale o del grande gluteo; in quella media la fascia interdentata; in quella profonda la fascia degli *erector spinae*.

Ciascun muscolo, infatti, è avvolto da una guaina di tessuto connettivo denso, denominata epimisio, che prosegue in

FASCE DEL TRONCO

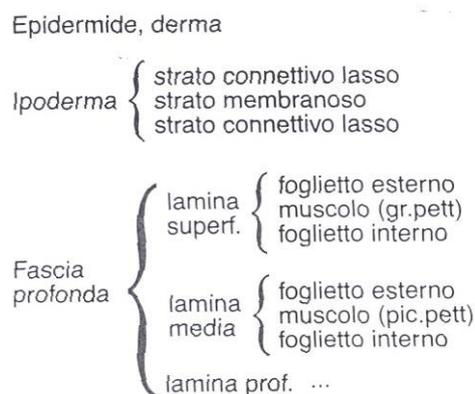


Figura 1.3.11 Suddivisione macroscopica delle fasce nel tronco [5].

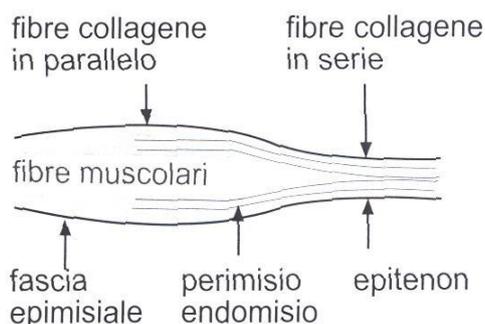


Figura 1.3.12 Scheletro connettivale di un muscolo [5].

modo continuo tramite l'epitenon fino al tendine e quindi all'inserzione sull'elemento scheletrico. Dall'epimisio originano dei setti connettivali che circondano gruppi di fibre muscolari. Sottili membrane basali, rinforzate da alcune fibre reticolari di collagene di tipo III, delimitano le singole fibre, costituendo il cosiddetto endomisio. È interessante notare come in epimisio, perimisio ed endomisio si registrino fibre collagene di orientamento parallelo a quelle muscolari, mentre in epitenon e, successivamente, tendine si registrino fibre collagene disposte in serie a quelle muscolari. La particolare disposizione delle fibre collagene influenza le proprietà meccaniche di questa struttura: mentre le fibre poste in parallelo presentano una conformazione ondulata in grado di adattarsi alle variazioni volumetriche del muscolo, quelle poste in serie esibiscono un andamento maggiormente stirato, che conferisce una maggiore rigidità agli sforzi di trazione. I tendini, infatti, traggono la loro struttura dalla “trasformazione delle fibre collagene ondulate del perimisio in fibre collagene parallele ed inestensibili” [5].

1.3.2 Organizzazione delle fasce negli arti

Negli arti, invece, si manifesta una diversa organizzazione delle fasce. Nulla cambia per quanto

FASCE DEGLI ARTI	
Epidermide, derma	
Ipoderma	{ strato connettivo lasso strato membranoso strato connettivo lasso
Fascia profonda	{ fibre collagene ondulate fibre collagene aponevrotiche fibre collagene ondulate
Fascia epimisiale	{ fibre collagene ondulate fibre muscolari periostio

Figura 1.3.21 Suddivisione macroscopica delle fasce negli arti [5].

riguarda la cute o l'ipoderma. Al contrario, la fascia profonda, a differenza dell'esempio precedente, non contiene al proprio interno i muscoli, ma scorre semplicemente sopra allo strato epimisiale. Una prova di questa differenziazione è rintracciabile nei ponti di fibre collagene, che nel tronco uniscono fra loro due muscoli, mentre negli arti scorrono all'interno della fascia profonda [5].

Si può concludere che, procedendo dall'esterno verso l'interno: immediatamente sotto l'ipoderma si trovano le prime fibre collagene ondulate della fascia profonda, all'interno dello sdoppiamento si rintraccia una conformazione di tipo aponevrotico, successivamente una lamina di tessuto connettivo lasso permette lo scorrimento sulla fascia epimisiale sottostante. Da quest'ultima si dipanano poi all'interno del muscolo il perimisio e l'endomisio.

1.4 La fascia profonda degli arti

Semplificando leggermente lo schema presentato, si può affermare che all'interno del sistema della fascia si distinguono due strutture: quella superficiale e quella profonda. La superficiale è formata da uno strato fibroelastico che divide l'ipoderma in due regioni distinte: la prima tra il derma e la fascia stessa composta principalmente di tessuto adiposo, la seconda, che arriva fino alla fascia profonda, di tessuto connettivo lasso contenente alcuni adipociti.

La profonda è un tessuto connettivo con una maggiore percentuale fibrosa. I muscoli degli arti sono avvolti dall'epimisio, uno strato di tessuto connettivo denso irregolare che si sviluppa sotto la fascia profonda e dal quale si dipanano altri tessuti connettivi, come il perimisio e l'endomisio, che avvolgono i singoli fasci e le singole fibre del muscolo per facilitarne l'allungamento e lo scorrimento reciproco. L'epimisio e la fascia profonda negli arti sono facilmente separabili grazie allo strato di tessuto connettivo lasso, chiamato anche tessuto areolare, che li separa e permette ai muscoli di scorrere sotto la fascia. Il tessuto areolare ha consistenza gelatinosa, perché è ricco di sostanza fondamentale e le fibre di collagene ed elastina formano una matrice irregolare. Si tratta di un tessuto in cui si contano parecchi fibroblasti. Alcune fibre tengono connessi i due strati adiacenti per evitare il distacco, ma questo non pregiudica il movimento relativo dei due strati. Come nel resto dell'organismo, il tessuto connettivo lasso svolge la funzione di attutire i carichi e dividere i diversi strati, ma funge anche da mezzo di trasporto tra i tessuti per il circolo delle sostanze nutritive e dei cataboliti e da riserva di acqua e sali in caso di carenza.



Figura 1.41 Fascia profonda della regione anteriore del braccio, dell'avambraccio e della coscia, e della regione posteriore della gamba [6].

1.4.1 Descrizione istologica

Dal punto di vista istologico, la fascia profonda è una struttura composta da più strati sovrapposti dello spessore medio di 1 mm e vi si possono individuare due regioni principali.

La prima è composta dai due strati che delimitano il tessuto: due sottili lamine caratterizzate da abbondante matrice extracellulare, piccole fibre di collagene in configurazione ondulata, molte fibre elastiche. Questa conformazione la fa assomigliare molto allo

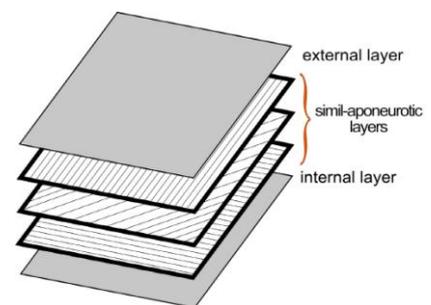


Figura 1.4.11 Struttura della fascia profonda degli arti [6].

strato epimisiale. Inoltre, dato l'alto numero di fibre nervose riscontrate in questi strati, si ipotizza che questi ultimi siano implicati nella propriocezione [6].

La seconda regione è composta dagli strati mediani, che presentano una struttura simil-aponeurotica a lamine sovrapposte. Si tratta di 2 o 3 strati di fasci paralleli di fibre di collagene con l'aggiunta di poche fibre nervose. I diversi strati sono separati da sottili lamine di tessuto connettivo lasso che ne permette lo scorrimento relativo. L'allineamento delle fibre varia da strato a strato così che il tessuto assume una struttura simile a quella di un materiale composito.

1.4.2 Differenze tra arti superiori ed inferiori

Tale organizzazione strutturale permette al tessuto di resistere sia agli sforzi di pressione interna (dovuti alle variazioni di volume che si registrano nei muscoli durante la contrazione o la distensione), sia a quelli di trazione lungo varie direzioni, in quanto di volta in volta si sollecitano fasci di fibre diverse. In questo modo, la fascia è in grado di contenere il volume muscolare sia durante il periodo di contrazione sia durante quello di distensione. La forte resistenza di questi strati permette di trasmettere la tensione generata dalla contrazione muscolare agli altri segmenti corporei connessi con la fascia, svolgendo un ruolo di coordinazione dell'attività motoria periferica.

La fascia profonda degli arti inferiori ha un contenuto di fibre elastiche molto inferiore rispetto a quella degli arti superiori, in cui invece esse formano una rete irregolare lungo tutto lo spessore della fascia. Questa differenza può ricollegarsi ad un processo di adattamento funzionale: mentre, infatti, gli arti superiori hanno bisogno di una maggiore elasticità per i diversi e complessi movimenti che compiono, gli arti inferiori sono principalmente coinvolti nel controllo della postura [6].

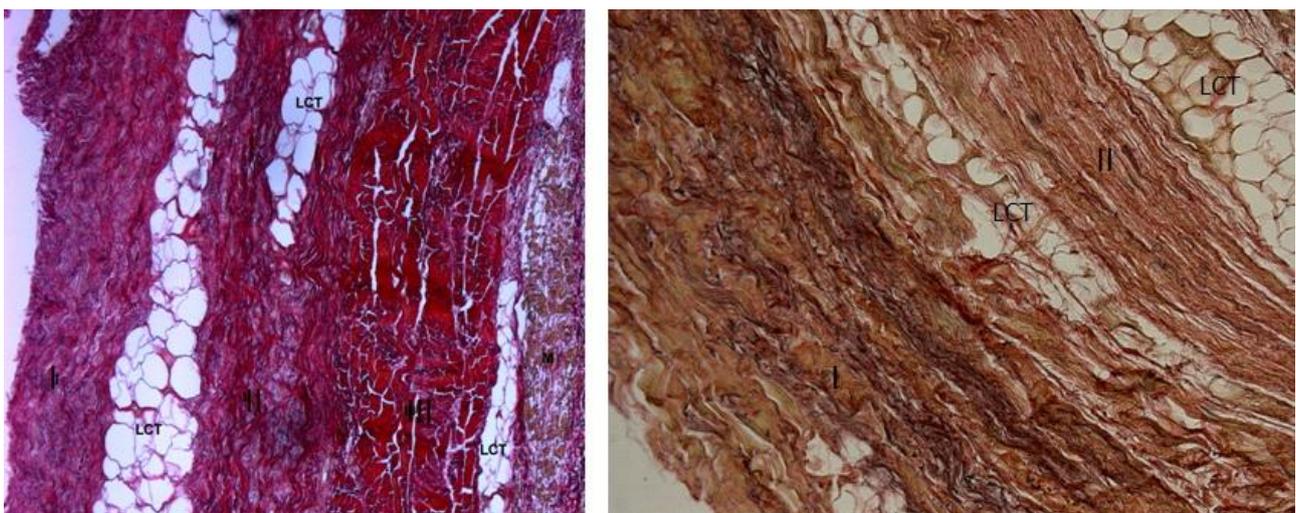


Figura 1.4.21 A sinistra fascia crurale, a destra fascia brachiale. In entrambi si possono ravvisare 2 o 3 strati di fibre di collagene con differenti direzioni (I, II, III), separati da sottili strati di tessuto connettivo lasso (LCT) [6].

CAPITOLO II

Caratterizzazione funzionale della fascia

2.1 Introduzione

La fascia profonda degli arti, grazie alla sua particolare configurazione strutturale, svolge un ruolo di primaria importanza nell'attuazione e nella coordinazione dei movimenti. È, infatti, uno degli elementi che costituiscono la cosiddetta catena miocinetica. Con questo termine si indica l'insieme dei tessuti che permettono di applicare la corretta forza risultante ad ogni giunto corporeo per l'esecuzione di un preciso movimento. La funzione della fascia coinvolge sia il sistema muscolare, nella trasmissione e nella distribuzione delle forze generate dalle contrazioni muscolari, sia il sistema nervoso, nella percezione del movimento e delle variazioni volumetriche dei muscoli.

2.2 Aspetti meccanici

Lo studio della funzionalità biomeccanica della fascia profonda è strettamente connesso con quello degli altri tessuti con cui essa entra in relazione. La fascia profonda, infatti, non solo avvolge il tessuto muscolare consentendogli di scorrere e modificare il proprio volume, ma anche presenta sulla sua superficie le inserzioni di altre strutture connettivali, come tendini o fasce profonde di distretti corporei adiacenti.

Il tessuto muscolare è costituito da un insieme di fibre, denominate fibre muscolari, tra di loro connesse per mezzo di particolari formazioni di tessuto connettivo: l'epimisio, il perimisio e l'endomisio. La funzione di queste strutture connettivali non è solo quella di avvolgere le singole fibre, ma anche di consentirne un facile scorrimento riducendo al minimo i fenomeni di attrito tra fibre adiacenti. La caratteristica principale delle fibre muscolari è la capacità di contrarsi e sviluppare così le forze che agiscono nel nostro organismo. Si pensi, per esempio, al battito cardiaco o alla locomozione. L'unità base contrattile delle fibre muscolari è costituita dal sarcomero, una struttura di natura proteica formata da filamenti di miosina e actina sovrapposti. Proprio l'interazione e lo scorrimento relativo di queste componenti sono la causa della contrazione muscolare. La ripetizione lungo uno stesso asse di più sarcomeri porta alla formazione di una miofibrilla. A loro volta le fibre muscolari sono costituite da un migliaio circa di miofibrille associate tra loro lungo una stessa direzione e sono avvolte da una membrana denominata sarcolemma.

I tendini, invece, sono strutture biologiche di collegamento tra muscoli ed elementi scheletrici,

permettendo la trasmissione della forza sviluppata nella contrazione muscolare alle ossa. Sono costituiti da fasci unidirezionali di fibre collagene disposti parallelamente alla direzione dell'asse del tendine stesso. La loro funzione biomeccanica, tuttavia, non si esaurisce nella semplice trasmissione di forze e sollecitazioni, ma comprende anche la prevenzione del danneggiamento dei muscoli in caso di applicazione di carichi eccessivi, soprattutto di natura impulsiva, agli elementi scheletrici. Infatti, i tendini collegano tra di loro due strutture di rigidità molto diversa perché il muscolo è un tessuto molle, l'osso un tessuto duro. L'interposizione tra osso e muscolo di un elemento viscoelastico garantisce assorbimento e dissipazione nella trasmissione dei carichi, in particolare se impulsivi.

All'interno di questo contesto funzionale si inserisce il ruolo svolto dalla fascia profonda, che si dimostra in grado di resistere non solo agli sforzi indotti dalle variazioni di volume dei muscoli sottostanti durante le contrazioni e le distensioni, ma anche alle forze trasmesse attraverso le espansioni tendinee.

La fascia profonda è caratterizzata da un'elevata capacità di adattamento agli sforzi di allungamento, che le deriva dalla configurazione ondulata, *crimped*, delle fibre di collagene e dalla presenza delle fibre elastiche. Infatti, mentre la disposizione in direzioni diverse nei differenti strati delle fibre collagene consente di resistere a sforzi di trazione lungo varie direzioni, le fibre elastiche consentono al tessuto di ritornare alla configurazione di riposo, una volta cessata la sollecitazione [7]. Grazie alla compresenza di questi due contributi si può definire la fascia un tessuto "estremamente flessibile, ma allo stesso tempo molto resistente e quasi inestensibile" [8].

Ma sarebbe riduttivo valutare la funzionalità biomeccanica della fascia profonda considerando un singolo distretto corporeo e non le sue interazioni con il resto dell'organismo e soprattutto con i distretti che gli sono adiacenti. Infatti, le fasce che avvolgono i diversi muscoli si inseriscono con continuità l'una nell'altra dando luogo ad una sorta di grande sistema fasciale.

Uno studio dinamometrico ha dimostrato che queste inserzioni hanno una resistenza ed una elasticità relazionate alla massa muscolare e alla forza che il muscolo è normalmente in grado di sviluppare. Alla base di questa variazione è rintracciabile un fenomeno di adattamento funzionale: quanto più elevata è la forza che un muscolo è in grado di sviluppare, tanto più marcate sono le proprietà meccaniche delle strutture connettivali ad esso connesse. Perciò è ipotizzabile che siano in grado di trasmettere alla fascia le forze generate dalle contrazioni muscolari [9]. Quando i muscoli si contraggono per attuare un movimento, simultaneamente sollecitano la fascia che li avvolge, ma sottopongono a trazione anche le fasce ad essa collegate.

Le connessioni tra fasce adiacenti non sono, tuttavia, l'unica via di trasmissione delle forze generate

dalla contrazione muscolare. Da uno studio svolto sugli arti superiori [9] si è potuto notare che numerose espansioni tendinee si inseriscono nella fascia e presentano tutte la medesima conformazione strutturale dal punto di vista anatomico. La connessione tra i due tessuti non è ottenuta tramite una semplice adesione dell'espansione tendinea sulla superficie della fascia, ma presenta una progressiva gradienza. La disposizione delle fibre collagene nelle due strutture non coincide dal momento che nell'espansione tendinea si trovano fasci unidirezionali, mentre nella fascia profonda piani paralleli di fibre. A questa diversità di organizzazione corrisponde una diversa capacità resistente a seconda delle direzioni di sollecitazione. La rigidità delle fibre collagene agli sforzi di trazione dipende in maniera decisiva dalla direzione della sollecitazione. Essa è massima se tale direzione coincide con l'asse della fibra, mentre decresce notevolmente se si considera la direzione perpendicolare. Pertanto, se il loro accoppiamento fosse netto e diretto, senza alcuna zona di caratteristiche intermedie, si genererebbero sovratensioni e possibili rotture.

Un'accurata analisi di queste espansioni dimostra, invece, come sia presente una progressiva gradienza da un tessuto all'altro e come le fibre evolvano in direzione e conformazione, come si registra nelle giunzioni del tendine con le ossa e con i muscoli. Alla graduale variazione della struttura corrisponde anche una graduale variazione delle proprietà meccaniche, che permette di ottenere un campo di tensioni e deformazioni che evolve con continuità senza alti picchi localizzati. La continuità strutturale che viene così a formarsi tra i due tessuti ha indotto i ricercatori a parlare di trasmissione e continuità miofasciale, a indicare come l'accoppiamento dei due tessuti permetta di massimizzare la propagazione delle forze, senza incorrere in fenomeni degenerativi. La presenza, poi, di numerose espansioni di strutture tendinee o fasciali allarga questa continuità a differenti muscoli, che possono così collaborare nel generare un preciso sistema di forze. I muscoli, quindi, non devono essere considerati come dei semplici attuatori meccanici che svolgono la loro funzione in maniera indipendente l'uno dall'altro, ma come elementi capaci di interazioni meccaniche grazie alla struttura di tessuto connettivo che li avvolge.

Inoltre, in conformità con il tono basale dei muscoli, anche la fascia profonda è mantenuta ad uno stato di tensione basale. Questo aspetto risulta molto rilevante dal momento che solo una membrana sotto tensione è in grado di percepire ogni variazione della sua lunghezza.

Un ulteriore contributo alla trasmissione miofasciale viene fornito anche dalle strutture connettivali che avvolgono le fibre muscolari. Esistono, infatti, particolari catene di molecole, le molecole trans-sarcolemmali, che attraversano il sarcolemma e pongono in connessione diretta la fibra muscolare con l'endomysio. In questo modo la forza espressa durante la contrazione viene convogliata sull'endomysio

e successivamente sulla fascia. Si viene così a formare una nuova via di comunicazione tra le fibre muscolari e la fascia indipendente dalle espansioni tendinee. Inoltre, data la continuità delle strutture connettivali che avvolgono muscoli adiacenti, le forze possono essere trasmesse dall'uno all'altro attraverso un percorso parallelo a quello tendineo [10].

Diretta conseguenza di questo fenomeno è il fatto che i singoli sarcomeri non sono caricati solo da forze direzionate dalle inserzioni tendinee o dalle serie di sarcomeri che compongono le fibre muscolari, ma anche da forze trasmesse dalle connessioni miofasciali. A prova di ciò si è notato che la forza misurata all'origine del muscolo non sempre coincide con quella esercitata sull'inserzione tendinea: necessariamente sul muscolo agiscono carichi aggiuntivi provenienti dalle connessioni miofasciali [10].

Si è ipotizzato che questa forma di trasmissione miofasciale possa influenzare la conformazione dei singoli sarcomeri all'interno dei fasci muscolari. Le sollecitazioni aggiuntive che ne derivano non sono distribuite, infatti, in maniera uniforme all'interno delle fibre muscolari, ma sono esercitate solo su alcuni sarcomeri. Pertanto, tali sarcomeri presentano la capacità di contrarsi a differenti angolazioni.

La modellizzazione ad elementi finiti [11] sembra confermare questa ipotesi ed attribuisce alla trasmissione miofasciale un'ulteriore influenza sulla conformazione dei sarcomeri. Si osserva, infatti, che anche la lunghezza dei sarcomeri non è un parametro costante ed è possibile riscontrare una distribuzione parallela delle lunghezze dei sarcomeri tra fibre muscolari adiacenti, a indicare come in particolari zone del fascio muscolare i sarcomeri abbiano un potere contrattile maggiore. Questo fenomeno è presente in maniera più marcata nei muscoli più lunghi e può essere una spiegazione del fatto che le prestazioni ottimali si riscontrano nei muscoli di maggiore lunghezza [11].

Alla luce di questi aspetti, la fascia profonda non può più essere considerata semplicemente deputata alla protezione e all'avvolgimento delle fibre nervose e dei vasi sanguigni, ma riveste un ruolo di primo piano nella catena miocinetica. L'attuazione di un movimento complesso richiede che più forze e momenti vengano esercitati su diversi giunti all'interno del sistema muscolo scheletrico. Essa non è, perciò, determinata dall'azione di un singolo muscolo, ma interessa più muscoli simultaneamente. Si vengono così a delineare gruppi di muscoli agonisti e antagonisti tra loro.

Le forze attive e passive generate dai sarcomeri devono essere trasmesse attraverso il sarcolemma. Nonostante sia generalmente riconosciuto che queste forze vengono veicolate soprattutto attraverso la giunzione miotendinea, non va dimenticato il ruolo della trasmissione miofasciale, che fornisce due diversi contributi: quello extramuscolare e quello intramuscolare. Innanzitutto, si definisce matrice extracellulare di un muscolo l'insieme delle strutture connettivali che rivestono le fibre: endomisio,

perimio ed epimio. La trasmissione miofasciale extramuscolare attraversa le connessioni della matrice extracellulare del muscolo con le strutture non muscolari o ossee che lo circondano. La trasmissione miofasciale intramuscolare sfrutta, invece, le molecole trans-sarcolemmali, che connettono le miofibrille periferiche direttamente all'endomio [11].

A differenza della giunzione miotendinea, la trasmissione miofasciale non è limitata al singolo gruppo muscolare in questione, ma coinvolge tutti i gruppi muscolari adiacenti, siano essi agonisti o antagonisti. Pertanto i muscoli non devono essere considerati come generatori di forze indipendenti, ma come elementi in continua interazione reciproca [12].

Infatti, per quanto riguarda i muscoli agonisti, si è appurato che l'interazione intermuscolare non deriva solo dal percorso tendineo, ma anche da quello miofasciale. Da misure sugli arti dei ratti si è riscontrato che il connettivo che rinforza vasi e nervi è abbastanza rigido da trasmettere le forze tra il muscolo e l'osso, ma lo stesso si può dire anche per la fascia che avvolge il compartimento muscolare o i tessuti epitendinei. È il rapporto delle rigidità che determina la frazione di forza trasmessa dal singolo percorso [13].

Nonostante si potesse immaginare che muscoli agonisti ed antagonisti avessero due percorsi di comunicazione separati, la trasmissione miofasciale li mantiene in stretta relazione e permette la simultaneità delle distensioni e delle contrazioni dei due gruppi. Addirittura si è misurato che il simultaneo allungamento di un gruppo di muscoli agonisti aumenta la trasmissione miofasciale tra i muscoli antagonisti [10].

Inoltre, si è dimostrato che l'interazione tra muscoli antagonisti vicini avviene soprattutto attraverso la trasmissione miofasciale extramuscolare e quindi le forze generate nei sarcomeri dei muscoli antagonisti possono essere parzialmente esercitate sui tendini dei muscoli agonisti vicini.

In definitiva, l'allungamento di un muscolo o di un gruppo di muscoli, agonisti o antagonisti, al suo tendine distale produce sulla fascia un carico in direzione distale che viene trasmesso agli altri muscoli vicini [12]. In questo modo le forze generate dai muscoli non vengono esercitate su singoli tendini, ma vengono distribuite su tutte le espansioni tendinee circostanti, permettendo di ottenere un campo di forze e spostamenti molto complesso.

2.3 Aspetti neurosensoriali

La scoperta della presenza di numerose terminazioni nervose all'interno del sistema fasciale ha fatto ipotizzare ai ricercatori che le sue funzioni non si esauriscano nel contenimento e coordinamento dei muscoli, ma possano comprendere anche la percezione degli spostamenti e degli schemi motori all'interno della tridimensionalità dello spazio [5]. Inoltre, si è notato che l'innervazione della fascia

risponde a criteri di natura funzionale.

Nella fascia superficiale sono presenti i termocettori, sensibili alle variazioni di temperatura, e i recettori sensibili alla pressione come i corpuscoli del Pacini. A questo ben si presta la struttura lamellare concentrica del tessuto perché permette alla pressione di attivare tali recettori. Anche i corpuscoli del Pacini, all'interno della capsula di connettivo denso che li avvolge, presentano molte lamelle concentriche alternate a strati di matrice extracellulare ricca di fibre collagene e al centro la terminazione nervosa vera e propria [2]. Questa particolare struttura permette di amplificare lo stimolo meccanico ed aumentare così la sensibilità dei corpuscoli.

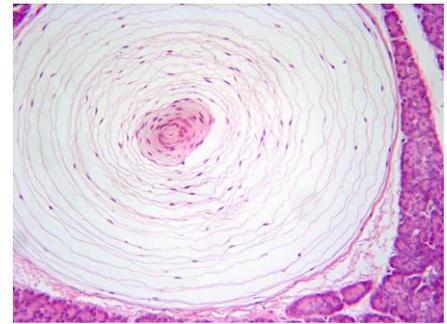


Figura 2.31 Sezione trasversale di un corpuscolo di Pacini.

L'innervazione della fascia superficiale rappresenta, quindi, una fase intermedia tra la percezione cutanea chiamata esterocezione perché rivolta agli stimoli dell'ambiente esterno e quella della fascia profonda che viene definita propriocezione perché fornisce la sensazione della posizione nello spazio.

Nella fascia profonda e nelle strutture connettivali ad essa collegate, invece, si possono individuare recettori diversi a seconda della zona considerata.

Nell'epimisio e nell'endomisio si trovano i fusi neuromuscolari sensibili agli stiramenti muscolari. Sono posti in parallelo alle fibre muscolari e sotto uno strato connettivo di protezione presentano delle fibre muscolari modificate cui si associano delle fibre nervose sensitive [2]. Quando il muscolo subisce uno stiramento, anche i fusi si stirano e se il loro allungamento supera un certo limite rilasciano un segnale, che induce l'organismo a diminuire la sollecitazione. In questo modo, concorrono alla regolazione del tono muscolare ed impediscono l'insorgere di danni alle fibre muscolari.

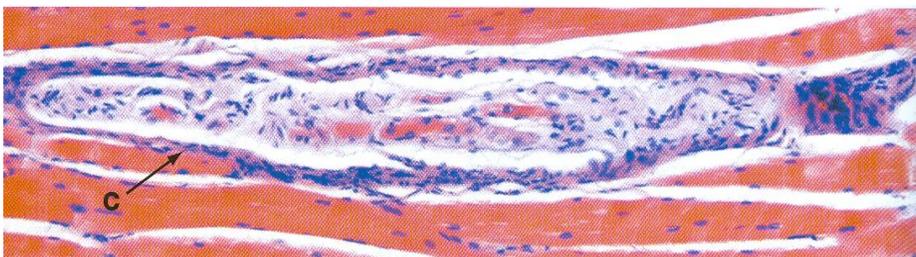


Figura 2.32 Sezione longitudinale di un fuso neuromuscolare, in cui si distingue la capsula connettivale esterna (C) [2].

Sebbene non siano posizionati esattamente nella fascia profonda, il meccanismo di funzionamento di questi recettori richiede che la fascia presenti precise caratteristiche meccaniche. Se, infatti, l'elasticità si mantiene nel *range* di valori fisiologico, l'attivazione di un fuso viene trasmessa attraverso la fascia e può stimolare gli altri recettori. Una fascia troppo rigida, invece, non si adatta alle variazioni del fuso e in questo modo lo isola dalle altre terminazioni nervose [5].

Nelle giunzioni miotendinee sono presenti gli organi muscolotendinei del Golgi, anch'essi sensibili agli stiramenti muscolari. Sono posti in serie alle fibre muscolari e attorno alla terminazione nervose si dispongono delle fibre collagene secondo una fitta trama. In questo modo, “a seconda della direzione dello stiramento, le fibre si avvolgono o si svolgono” [5] e attivano o meno lo stimolo nervoso inibitorio.

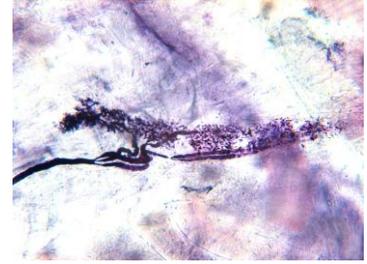


Figura 2.33 Organo muscolo tendineo del Golgi.

Nella fascia propriamente detta si riscontrano soprattutto le terminazioni nervose libere, la più semplice forma di recettore sensoriale, essendo “costituite semplicemente da rami terminali di fibre nervose” [2]. Le fibre nervose si inseriscono tra le fibre collagene e sono avvolte da uno strato di tessuto connettivo lasso che funge da ammortizzatore degli sforzi imposti durante le variazioni dei muscoli sottostanti la fascia. In questo modo, la terminazione nervosa viene stimolata solo se lo stiramento del muscolo supera un certo limite. Tuttavia questa funzione ammortizzatrice può essere deteriorata da traumi, processi di degenerazione, sforzi eccessivi o interventi chirurgici che diminuiscano la capacità dei diversi strati di scorrere l'uno sopra l'altro.



Figura 2.34 Fibra nervosa che si ramifica nelle terminazioni nervose libere [2]

Quindi, l'attivazione delle terminazioni nervose è strettamente collegata alle fibre collagene. Negli strati della fascia si possono distinguere due principali gruppi di fibre: quelle ondulate, o *crimped*, e quelle distese parallelamente l'una all'altra. Le prime allungandosi sollecitano le terminazioni libere e sono responsabili della percezione motoria, le seconde, essendo inestensibili, trasmettono le tensioni da un muscolo a quelli dei segmenti adiacenti e sono coinvolte nella coordinazione motoria dei vari muscoli. Proprio la compresenza di queste famiglie di fibre dimostra come nella fascia convivano funzioni sia di natura meccanica, sia di natura sensoriale.

Oltre alle terminazioni libere, sono presenti anche recettori incapsulati, come i corpuscoli di Ruffini e quelli di Pacini.

Tutti i recettori coinvolti nell'innervazione della fascia profonda sono di natura propriocettiva, ma superato un limite fisiologico di allungamento si trasformano in nocicettori e generano un segnale doloroso. A riprova di ciò si è riscontrato che i pazienti che soffrono di dolori cronici alla zona lombare della spina dorsale, presentano un'innervazione anomala e deficitaria della fascia toracolombare [14]. Questo aspetto suggerisce che la fascia controlli la corretta sollecitazione della spina lombare e una sua disfunzione porti a movimenti sbagliati o sforzi eccessivi, con il conseguente stimolo doloroso.

L'innervazione della fascia non si presenta costante nei vari distretti del nostro organismo. Per esempio, ad un'analisi delle fasce degli arti superiori si è notata una differenza nella densità di innervazione in relazione all'area considerata. Questa variazione sembra rispondere ad un processo di adattamento funzionale.

Infatti, le espansioni tendinee del pettorale maggiore nella fascia del bicipite e nel *lacertus fibrosus* (l'aponeurosi del bicipite) risultano meno innervate rispetto alla fascia brachiale e antebrachiale, anzi l'innervazione è principalmente perivascolare e sembra, pertanto, legata più al sistema cardiocircolatorio che a quello fasciale. Una possibile spiegazione risiede nel fatto che tali espansioni svolgono prevalentemente la funzione di trasmissione meccanica. Un altro esempio è fornito dal *flexor retinaculum*, il legamento trasverso del carpo. Quest'ultimo, assieme alle superfici ossee sottostanti, crea un canale, detto tunnel carpale, attraversato da varie formazioni: medialmente i tendini flessori delle dita, anterolateralmente il nervo mediano e lateralmente il tendine del muscolo flessore lungo del pollice. Il legamento è così coinvolto nella percezione sia del movimento sia delle variazioni volumetriche del muscolo e risulta essere maggiormente innervato [15].

Dal momento che “le varie tipologie di recettori inviano al cervello sempre la stessa scarica nervosa in qualsiasi parte del corpo si trovino” [5], per conferire loro un valore direzionale è necessario che vengano mappati in una struttura che riassume una direzione motoria.

Si ipotizza che, grazie allo stato di tensione basale in cui la fascia è mantenuta dalle numerose espansioni muscolari, la contrazione di un muscolo, andando a tensionare una specifica area della fascia, stimoli i recettori presenti in quell'area e quindi possa inviare informazioni diverse a seconda dell'area stimolata. In questo modo la fascia forma una sorta di intelaiatura all'interno della quale i diversi tipi di recettori sono inseriti. Pertanto, il sistema fasciale avvolgendo i diversi gruppi muscolari forma “un'architettura che corrisponde alla tridirezionalità dello spazio” [5].

Un esempio significativo dell'innervazione della fascia è fornito dalla *pectoral girdle*, il distretto corporeo formato dalla clavicola, dalla scapola e dai tessuti che li connettono.

I muscoli addetti al movimento di queste ossa presentano delle espansioni che vanno ad inserirsi nella fascia brachiale. Si è osservato che a seconda dei movimenti svolti, queste espansioni allungano selettive porzioni della fascia, il che ha indotto a ipotizzare che il tensionamento di specifiche aree della fascia sia affiancato dall'attivazione di specifici propriocettori all'interno della fascia: ad ogni movimento seguirebbe uno specifico percorso di recettori attivati [16].

Concludendo, la fascia profonda svolge un ruolo di primo piano nella struttura della cosiddetta catena miocinetica, perché non solo trasmette alle altre espansioni muscolari e connettivali le sollecitazioni meccaniche, ma anche allarga, attraverso le terminazioni del sistema nervoso, i confini della zona interessata e permette una più articolata e complessa coordinazione dei movimenti [16].

CAPITOLO III

Analisi sperimentale

3.1 Introduzione

Nell'ambito dello studio di un tessuto biologico, lo sviluppo di un suo modello tridimensionale rappresenta un mezzo di notevole utilità, viste le molteplici informazioni che racchiude. Innanzitutto, garantisce un'immediata e semplice comprensione della struttura geometrica del campione. Infatti, la natura digitale del modello ne consente un'analisi secondo qualsiasi punto di vista e ingrandimento. Inoltre, ogni manipolazione ed elaborazione non richiede necessariamente un'alterazione irreversibile dell'originale, come avverrebbe con il campione biologico.

Proprio per queste notevoli caratteristiche, l'analisi sperimentale si è concentrata sull'elaborazione di un metodo di ricostruzione tridimensionale, che potesse diventare un ulteriore supporto nell'indagine istologica dei tessuti. Attraverso l'utilizzo di particolari pacchetti *software*, si è cercato di realizzare una procedura efficiente e flessibile, tale da essere facilmente adattata anche all'analisi di campioni analoghi a quello oggetto di questo studio.

Il risultato finale è, quindi, uno strumento di rappresentazione e misura *software-based*, che persegue l'obiettivo di migliorare la risoluzione e l'accuratezza nello studio dei vetrini.

3.2 Analisi istologica del campione

Il campione di fascia crurale è stato prelevato nella porzione più distale del poplite, un muscolo triangolare ed appiattito, che si trova nella regione posteriore del ginocchio, teso tra femore e tibia, e ha la funzione di flettere e far ruotare all'interno la gamba.

Per rendere possibile la sua osservazione al microscopio ottico, se ne sono ricavate 50 sezioni, caratterizzate da uno spessore di 7 μm e distanziate l'una dall'altra di 14 μm . Le sezioni presentano una forma

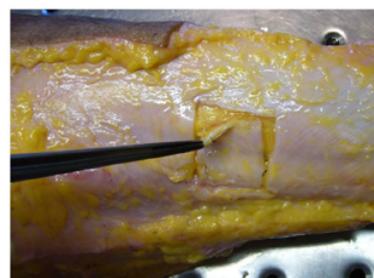


Figura 3.21 Foto scattata durante il prelievo del campione.

quadrangolare, dalle dimensioni medie di 7 mm per 2 mm. A partire da questi dati è possibile ricostruire la geometria del campione prelevato, che risulta essere un parallelepipedo di base pari all'area di sezione e di altezza pari a 0.7 mm. Il valore ottenuto si dimostra coerente con le descrizioni offerte della fascia profonda, come di una lamina di tessuto connettivo dallo spessore medio di circa 1 mm.

3.2.1 Colorazione *Azan Mallory*

Per poter discriminare le fibre collagene dalle altre componenti del tessuto è necessario compiere un ulteriore passaggio. Infatti, al microscopio ottico le sezioni si presentano trasparenti alla luce e prive di un grado di contrasto sufficiente ad essere percepito dall'occhio umano. Tramite l'utilizzo di particolari sostanze, definite *stains* o coloranti, è possibile aumentare il contrasto dell'immagine, evidenziando la componente del tessuto specifica del colorante utilizzato. Per evidenziare la localizzazione e la struttura delle fibre collagene all'interno del tessuto connettivo si impiega la colorazione istologica *Azan Mallory*. Questo particolare trattamento prevede dapprima l'utilizzo dell'Azocarminio, un colorante acidofilo, che colora i nuclei molto intensamente di rosso e il citoplasma di rosso pallido; poi si sottopone il campione alla miscela di Mallory, contenente blu di anilina, orange G e acido ossalico, che colora intensamente di blu le fibre di collagene, di arancio le cellule del sangue e le fibre muscolari. In questo modo, sia la localizzazione che l'orientazione delle fibre collagene sono facilmente distinguibili.

3.2.2 Acquisizione delle immagini

Nella composizione del modello tridimensionale si sono considerate le prime 37 sezioni. L'acquisizione delle immagini è avvenuta attraverso il microscopio ottico *Leica DM4500 B*, avvalendosi del software *LAS 2.3.3* con l'ingrandimento di 2.5x e con le seguenti specifiche dell'illuminazione: Ap. 24, Fld. 32, Int. Fine 105, intensità 13.

Dal momento che l'ingrandimento utilizzato non permette di comprendere l'intero vetrino in una sola immagine, si è proceduto a sovrapporre le immagini di ogni vetrino attraverso la funzione *Crea* offerta dal software *HP Image Zone 5.0*. Inoltre, il rapporto medio tra i pixel dell'immagine acquisita e le dimensioni reali del campione è di 0.184 pixel/7 μm .

3.3 Elaborazione delle immagini

Le 37 immagini così ottenute sono state allineate secondo l'angolo in basso a destra, tramite il software *ImageJ 1.40g*. Per facilitare le operazioni di allineamento, le immagini sono state ridimensionate al 25% delle loro dimensioni originali. Tuttavia, a causa degli inevitabili artefatti sopraggiunti durante la preparazione dei vetrini, lo *stack* così ottenuto non è composto da immagini di dimensioni uniformi. Per ovviare a questa discrepanza, ogni immagine è stata inserita nell'angolo in alto a sinistra di un riquadro bianco di dimensioni standard. In questo modo, l'allineamento è preservato ed è possibile ritagliare all'interno di questi riquadri un nuovo *stack*, che contenga tutte le immagini, di dimensioni 1270 pixel per 388 pixel.

Utilizzando sempre *ImageJ*, si converte lo *stack* dal formato RGB al formato *Greyscale* a 8 bit, in cui le diverse tonalità sono rappresentate da 256 livelli di grigio. Successivamente, si applica un processo di soglia 13 – 58, che converte l'immagine in formato binario: i livelli di grigio compresi

all'interno dell'intervallo del filtro vengono uniformati al valore 255 corrispondente al nero, mentre i restanti livelli sono uniformati al livello 0 corrispondente al bianco.

Sono, a questo punto, distinguibili due principali famiglie di fibre collagene, caratterizzate da una specifica orientazione. Grazie allo strumento di selezione manuale, a partire dallo *stack* originale, è possibile ottenere due *stack*, contenenti ciascuno una singola famiglia di fibre, che vengono definiti per comodità direzione I e direzione II. Nei casi in cui la discriminazione delle fibre fosse disturbata da eccessivo rumore, si è applicato un filtro *Median* con il raggio di 1 pixel.

Mentre la direzione I viene lasciata inalterata, con un istogramma piatto tranne un picco a 255, la direzione II viene elaborata tramite il *plugin Scale Levels* (vedi Listato A.1) che mantiene il formato binario, ma permette di trasferire i valori corrispondenti a livelli di grigio contenuti in uno specificato intervallo all'interno di un altro specificato intervallo. Il criterio seguito nella scelta di questi due intervalli prevede di attribuire ad ogni componente uno specifico range di colorazione, rendendolo più facilmente distinguibile dagli altri. Nel caso particolare della direzione II, l'istogramma viene modificato in modo tale che il picco non si trovi più a 255, come nell'immagine binaria, ma a 201.

Dopo aver riconvertito le immagini al formato *Greyscale* a 8 bit, tramite la funzione di *Image Calculator*, le due direzioni vengono sommate in un unico *stack* e quindi sottratte allo *stack* originale. Il risultato di questa operazione rappresenta la componente del tessuto che non è identificabile come fibre collagene e, ripetendo il procedimento adottato per la direzione II, gli si attribuisce un intervallo di variazione da 0 a 128. Infine, lo si somma alle due direzioni precedentemente ricavate.

Pertanto, nello *stack* definitivo, si notano tre diverse componenti: la famiglia di fibre collagene caratterizzata dal livello di grigio 255, la famiglia caratterizzata dal livello 201 e le altre componenti tessutali rappresentate con livelli di grigio che variano tra 0 e 128 (vedi Tavole B.1 – 10).

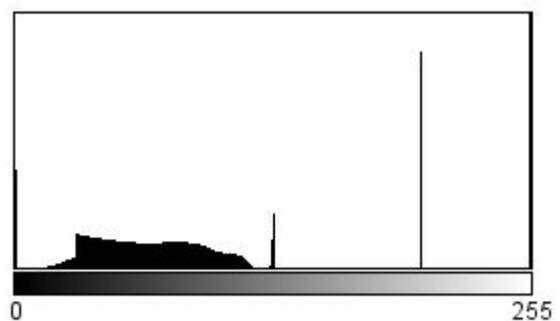


Figura 3.3.1 Istogramma dello *stack* definitivo.

3.4 Sviluppo del modello tridimensionale

In questo paragrafo vengono espone due differenti procedure di modellizzazione di un preparato biologico, a partire da un insieme di sezioni parallele. Alla base di questi due metodi si rintraccia un differente approccio al trattamento delle informazioni contenute nelle singole immagini. È, altresì, interessante portare a termine entrambi i procedimenti, che possono evidenziare caratteristiche diverse della struttura in esame. Inoltre, il confronto dei risultati può, in caso positivo, avvalorare la

veridicità e l'affidabilità dei modelli proposti, in caso negativo, mettere in luce eventuali discrepanze ed errori di valutazione.

3.4.1 Ricostruzione dei volumi

Il primo metodo di ricostruzione tridimensionale preso in considerazione prevede, a questo punto, l'utilizzo del *plugin Volume Viewer*. L'applicazione simula uno spazio tridimensionale, caratterizzato da una terna di assi ortogonali x , y e z , e, al suo interno, genera il modello propriamente detto. La sua lettura risulta molto semplice grazie alla possibilità di adottare una visuale di insieme o di uno dei tre piani formati dai tre assi ortogonali. Inoltre, è concesso all'utente di scorrere le diverse sezioni che compongono il modello, consentendogli di apprezzare l'evoluzione della struttura e della geometria delle diverse componenti. Un altro particolare di estrema utilità è il fatto che, qualunque sia l'angolo di osservazione adottato, la specifica sezione in esame si presenta sempre ortogonale alla visuale dell'utente.

Le informazioni deducibili da tale modello confermano la descrizione della fascia crurale come di un materiale composito formato da 2 o 3 strati di fibre collagene. Dall'analisi delle sezioni secondo i piani xz e yz , infatti, si dimostra la presenza di due strati fibrosi collagenici sovrapposti l'uno all'altro e caratterizzati da una diversa orientazione delle fibre (vedi Tavola B.11).

3.4.2 Ricostruzione delle superfici esterne

Il secondo metodo di ricostruzione segue, invece, un diverso approccio. A partire dagli *stack* contenenti, rispettivamente, la direzione I, la direzione II e la restante componente tessutale, si sfrutta la funzione *Stack to Images* offerta da *ImageJ* per scomporli in 37 singole immagini. Grazie al software *vtkGUI 1.0*, si processano le immagini, eseguendo il programma *CreateVTKfile* (vedi Listato A.2).

In questo caso, si considerano singolarmente le tre componenti e se ne ricostruisce solamente la superficie esterna. Con il metodo precedente, invece, il volume di ogni singola componente viene ricostruito, contestualmente agli altri, sezione per sezione.

Dal momento che, al termine di questa operazione, si ottengono tre separati oggetti, per completare il modello è necessario visualizzarli contemporaneamente servendosi del software *Paraview 3.2.1*, che contempla, tra l'altro, la possibilità di conferire ad ogni superficie specifici colore e gradazione di trasparenza. Nel presente studio si è deciso di servirsi della colorazione *Solid Color* e di attribuire alla direzione I il colore rosso, alla direzione II il colore giallo e alla restante componente tessutale il colore azzurro, quest'ultimo con un grado di opacità pari allo 0,20. Anche in questo caso, inoltre, la lettura del modello risulta molto semplificata dall'opportunità di adottare un qualsivoglia angolo di osservazione.

Per quanto riguarda, poi, le informazioni di carattere strutturale, si nota come esse coincidano perfettamente con quelle offerte dal metodo precedente. La presente modellizzazione consente di apprezzare non solo il parallelo andamento dei due strati sovrapposti, ma anche, probabilmente, la presenza di un ulteriore terzo strato, localizzato sopra la direzione I e con un'orientazione delle fibre molto simile a quella della direzione II (vedi Tavole B.12.1 – 2).

3.5 Misure

Le informazioni che si possono ricavare dallo sviluppo di un modello tridimensionale non si riducono alle semplici osservazioni di natura geometrica fin qui svolte. Infatti, un modello non costituisce soltanto una rappresentazione del campione prelevato che evidenzia una componente o una funzione rispetto alle altre, ma anche un ambiente di misura privilegiato, con la risoluzione e l'accuratezza conferite dall'utilizzo dei calcolatori.

Dalla misura delle aree occupate dalle singole componenti in ogni sezione, *ImageJ* fornisce il risultato del *Voxel Counter*, il valore medio per sezione e la frazione di volume. I dati raccolti evidenziano come le due direzioni abbiano un volume confrontabile pari circa al valore di 8%, mentre preponderante è la restante componente tessutale, la cui frazione volumetrica si aggira attorno al valore di 80% (vedi Tabella C.1).

Un altro elemento importante, soprattutto in chiave di eventuali studi del comportamento meccanico del tessuto, è l'angolo che viene a formarsi tra le due direzioni delle fibre. A seguito di dieci misurazioni, effettuate nel piano xy, servendosi dell'*Angle Tool* di *ImageJ*, si riscontra un valore medio di circa 78 gradi, con una deviazione standard inferiore a 4,3 (vedi Tabella C.2).

Infine, si è prodotta una stima dello spessore dei due strati, basata su insiemi di cinque misure in cinque diverse zone del modello, secondo il piano xz. I risultati, espressi in mm, prevedono uno spessore medio di 0,10 e 0,11, rispettivamente per la direzione I e per la direzione II. In entrambi i casi la deviazione standard non raggiunge il valore di 0,03 (vedi Tabella C.3).

3.6 Innervazione della fascia

Lo studio della componente collagenica della fascia crurale non si esaurisce nella sua caratterizzazione meccanica, ma deve comprendere anche il rapporto che si instaura con le fibre nervose e le loro terminazioni. Pertanto, si è prelevato un ulteriore campione, adiacente al precedente, le cui sezioni sono state trattate con colorazione immunostochimica *antibody anti-S100*. Tale procedura si basa su un criterio diverso da quello adottato nella tecnica istologica di *Azan Mallory*. In questo caso, infatti, il colore non si impregna in tutto il tessuto con gradazioni diverse a seconda delle componenti, ma è associato ad un anticorpo che si lega selettivamente ad uno specifico recettore presente nelle cellule di Schwann. Dal momento che tali cellule

compongono una guaina che avvolge le fibre nervose, questo procedimento pone in evidenza l'andamento e le dimensioni di tali espansioni nervose.

Ad una prima analisi, l'innervazione della fascia si concentra attorno ai vasi sanguigni, ma è rintracciabile anche all'interno degli strati fibrosi. Se il primo aspetto non è molto rilevante, perché comune alle altre regioni dell'organismo e attribuibile piuttosto allo studio del sistema circolatorio, il secondo aspetto avvalorava l'ipotesi di un coinvolgimento della fascia nei processi di propriocezione e coordinazione dei movimenti.

Utilizzando il microscopio ottico con ingrandimento 5x, si possono osservare solo i fasci di fibre più spessi e si nota come siano avvolti da uno strato di tessuto adiposo (vedi Tavola D.1), la cui funzione consiste nel proteggere il nervo dalle pressioni esterne e nel consentirgli di scorrere liberamente rispetto agli altri tessuti. Aumentando, poi, l'ingrandimento a 10x, si constata che i fasci si ramificano in espansioni più sottili che si distribuiscono in varie direzioni (vedi Tavola D.2). Addirittura, passando a 25x, si possono distinguere i rami più sottili estendersi tra le fibre collagene con un andamento ad esse parallelo (vedi Tavola D.3). Questa particolare organizzazione strutturale consente ai nervi di essere sensibili allo stiramento degli strati fibrosi della fascia. Ciò è confermato anche dal massimo ingrandimento consentito, pari a 63x, che mostra proprio due fibre nervose completamente compenstrate nello strato collagenico (vedi Tavola D.4).

Tuttavia, l'analisi dell'innervazione della fascia non può avvalersi solo della colorazione immunoistochimica. Tale tecnica non è, infatti, in grado di evidenziare le terminazioni nervose, che non sono ricoperte dalle cellule di Schwann e non vengono, di conseguenza, riconosciute. Perciò, è necessario ricorrere a strumenti con risoluzione ancora maggiore, come i microscopi elettronici a trasmissione.

La differenza fondamentale con la microscopia ottica è che non viene utilizzata la luce per rivelare il preparato, ma un fascio di elettroni, che, accelerati da un'elevata differenza di potenziale, attraversano la sezione del campione, producendo un'immagine fortemente ingrandita su uno schermo fluorescente. Le sezioni devono avere uno spessore molto ridotto, dell'ordine dei 50 – 70 nm, ma il loro taglio è preceduto dalla preparazione di sezioni semifini di circa 1 mm di spessore, la cui osservazione al microscopio ottico permette di selezionare i campi utili da destinare all'esame elettronico. Proprio dall'esame delle semifini, si rileva come le fibre collagene avvolgano completamente le terminazioni nervose, avvalorando l'ipotesi che sia proprio il loro stiramento ad attivare lo stimolo nervoso (vedi Tavola D.5). La conferma definitiva giunge dal microscopio elettronico, le cui immagini, ad ingrandimento elevato, mostrano come le terminazioni nervose si insinuino tra i fasci di fibre collagene (vedi Tavola D.6). L'andamento delle due famiglie di fibre

non è parallelo, pertanto, una distensione delle fibre collagene provoca una contrazione della terminazione nervosa, con la conseguente generazione dello stimolo sensoriale.

La fitta distribuzione delle fibre nervose riscontrata induce ad ipotizzare che l'innervazione della fascia non sia rappresentata solamente da ramificazioni di nervi diretti e deputati ad altre regioni dell'organismo, ma sia composta da fibre nervose specifiche del tessuto fasciale. Una ricostruzione tridimensionale dell'andamento di tali fibre potrebbe essere un utile strumento di verifica di questa assunzione.

Conclusione

Lo sviluppo della tecnologia microscopica ha permesso un'analisi sempre più dettagliata dei tessuti viventi, che metta in luce gli aspetti di natura sia morfologica sia funzionale. Dall'indagine diretta dei campioni biologici è possibile ricavare un ampio spettro di informazioni; tuttavia, è necessario seguire delle procedure sperimentali che, nella maggior parte dei casi, rendono i campioni inutilizzabili per successive verifiche. Inoltre, le dimensioni molto ridotte delle sezioni condizionano i livelli di risoluzione e accuratezza delle rappresentazioni.

Pertanto, al termine di uno studio inteso a descrivere compiutamente la realtà anatomico-funzionale della Fascia Profonda, l'attenzione si è appuntata su una descrizione parametrica dei campioni traducibile in un modello tridimensionale.

Il modello, realizzato in ambienti di programmazione orientati alla presentazione di immagini, è stato strutturato con programmi pensati ed implementati in modo tale da conferire al tutto una elevata flessibilità di utilizzo. Infatti, nell'elaborare questa procedura si è tenuto presente il criterio della sua possibile applicazione all'analisi di qualsiasi sezione istologica.

La validità, poi, del modello messo a punto si è dimostrata appieno con le sperimentazioni pratiche, che hanno consentito determinazioni, anche quantitative, molto dettagliate, pur nell'estesa variabilità dell'orientazione spaziale delle immagini che venivano costruite.

Di conseguenza, l'utilizzo della ricostruzione tridimensionale dei campioni di tessuti biologici non deve essere considerata solamente una via alternativa di rappresentazione, ma anche un mezzo di indagine, caratterizzato dall'alto grado di risoluzione e accuratezza offerto dal formato digitale.

APPENDICE A

Listati

A.1 Scale Levels

```
import ij.*;
import ij.plugin.filter.*;
import ij.process.*;
import ij.gui.*;
import ij.measure.*;
import java.awt.*;

/** This plugin maps a grey interval to an output grey range */
public class Scale_levels implements PlugInFilter {
    ImagePlus imp;
    double impMin=0, impMax=255;
    double outMin=0, outMax=255;
    int w,h;
    double factor=1.0;

    public int setup(String arg, ImagePlus imp) {
        if (IJ.versionLessThan("1.32c"))
            return DONE;
        this.imp = imp;
        w = imp.getWidth();
        h = imp.getHeight();
        return DOES_8G+NO_CHANGES;
    }

    public void run(ImageProcessor ip) {
        double value;
        byte[] pixels;           // buffer for the pixels of one slice

        // This part is the implementation of the Dialog box (called gd here)
        GenericDialog gd = new GenericDialog("Rescale levels",
IJ.getInstance());
        gd.addMessage("INPUT:");
```

```

gd.addNumericField("Min.", impMin, 0);
gd.addNumericField("Max.", impMax, 0);

gd.addMessage("OUTPUT:");
gd.addNumericField("Min.", outMin, 0);
gd.addNumericField("Max.", outMax, 0);

gd.showDialog();
    if (gd.wasCanceled())
        return;

impMin = gd.getNextNumber();
impMax = gd.getNextNumber();
outMin = gd.getNextNumber();
outMax = gd.getNextNumber();

makeDataConsistent();

// Get and process image stack
ImageStack stack = imp.getStack();
    int size = stack.getSize();
for (int s=1; s<=size; s++) {
    ImageProcessor sp = stack.getProcessor(s);
    for (int y=0; y<h; y++)
        for (int x=0; x<w; x++) {
            value = sp.getPixelValue(x,y);
            if ((value<=impMax) && (value>=impMin))
                value = outMin + (value-impMin)*factor; //linear TTab
            sp.putPixelValue(x,y,value);
        }
    }
imp.updateAndDraw();
}

void makeDataConsistent() {
    double v,d;
    // Keep parameters in range
    if (impMin<0) impMin=0;
    if (impMin>255) impMin=255;
    if (impMax<0) impMax=0;
    if (impMax>255) impMax=255;
    if (outMin<0) outMin=0;

```

```

if (outMin>255) outMin=255;
if (outMax<0) outMax=0;
if (outMax>255) outMax=255;
// Fix Min-Max relationship
if (impMin>impMax) {
    v = impMax;
    impMax = impMin;
    impMin = v;
}
if (outMin>outMax) {
    v = outMax;
    outMax = outMin;
    outMin = v;
}
// Set factor avoiding singularities
d = impMax-impMin;
if (d==0) factor=1.0;
else factor = (outMax-outMin)/(impMax-impMin);
}
}

```

A.2 CreateVTKfile

```
# -----  
# File: CreateVTKfile.tcl  
# Created by vtkgui v 1.0  
# -----  
  
# -----  
# Call the VTK Tcl packages to make available all VTK commands  
# -----  
  
package require vtk  
package require vtkinteraction  
package require vtktesting  
  
# -----  
# Create a Renderer, a RenderWindow and a RenderWindowInteractor  
# -----  
  
vtkCamera aCamera  
    aCamera SetClippingRange 405.635 820.889  
    aCamera SetDistance 588.845  
    aCamera SetFocalPoint 100.5 65.5 106.5  
    aCamera SetPosition 52.7217 -514.307 15.5079  
    aCamera SetViewAngle 30  
    aCamera SetViewUp 0.129781 0.14328 -0.981136  
    aCamera SetParallelProjection 0  
    aCamera SetUseHorizontalViewAngle 0  
  
vtkRenderer aRenderer  
    aRenderer SetActiveCamera aCamera  
    aRenderer SetBackground 0.1 0.2 0.3  
    aRenderer SetLightFollowCamera 1  
  
vtkRenderWindow renWin  
    renWin AddRenderer aRenderer  
    renWin SetSize 726 494  
  
vtkRenderWindowInteractor iren  
    iren SetRenderWindow renWin  
    iren SetLightFollowCamera 1
```

```

# -----
# Create the VTK pipeline
# -----

vtkBMPReader reader
  reader SetDataExtent 0 316 0 96 1 37
  reader SetDataSpacing 1 1 3
  reader SetFilePrefix "C:\NomeFile"
  reader SetDataByteOrder 1

vtkContourFilter skinExtractor
  skinExtractor SetInput [reader GetOutput]
  skinExtractor SetValue 0 0
  skinExtractor SetComputeNormals 1
  skinExtractor SetComputeScalars 1

vtkPolyDataNormals skinNormals
  skinNormals SetInput [skinExtractor GetOutput]
  skinNormals SetFeatureAngle 60
  skinNormals SetComputeCellNormals 0
  skinNormals SetComputePointNormals 1
  skinNormals SetFlipNormals 0
  skinNormals SetSplitting 1

vtkStripper skinStripper
  skinStripper SetInput [skinNormals GetOutput]
  skinStripper SetMaximumLength 1000

vtkPolyDataMapper skinMapper
  skinMapper SetInput [skinStripper GetOutput]
  skinMapper SetNumberOfPieces 1
  skinMapper SetScalarRange 0 1
  skinMapper SetColorMode 0
  skinMapper SetResolveCoincidentTopology 0
  skinMapper SetScalarMode 0
  skinMapper SetImmediateModeRendering 0
  skinMapper SetScalarVisibility 0
  skinMapper SetUseLookupTableScalarRange 0

vtkActor skin

```

```

skin SetMapper skinMapper
eval [skin GetProperty] SetAmbientColor 1 0.607692 0.423077
eval [skin GetProperty] SetColor 1 0.51716 0.289941
eval [skin GetProperty] SetDiffuseColor 1 0.49 0.25
eval [skin GetProperty] SetOpacity 1.0
eval [skin GetProperty] SetInterpolation 1
eval [skin GetProperty] SetRepresentation 2
eval [skin GetProperty] SetBackfaceCulling 0
eval [skin GetProperty] SetEdgeVisibility 0
eval [skin GetProperty] SetFrontfaceCulling 0
skin SetOrigin 0 0 0
skin SetPosition 0 0 0
skin SetScale 1 1 1
skin SetPickable 1
skin SetVisibility 1

```

```

vtkPolyDataWriter PDW

```

```

PDW SetInput [skinStripper GetOutput]
PDW SetFileName "C:/NomeFile.vtk"
PDW SetFieldDataName FieldData
PDW SetLookupTableName lookup_table
PDW SetFileType 1
PDW Write

```

```

vtkOutlineFilter outlineData

```

```

outlineData SetInput [reader GetOutput]

```

```

vtkPolyDataMapper mapOutline

```

```

mapOutline SetInput [outlineData GetOutput]
mapOutline SetNumberOfPieces 1
mapOutline SetScalarRange 0 1
mapOutline SetColorMode 0
mapOutline SetResolveCoincidentTopology 0
mapOutline SetScalarMode 0
mapOutline SetImmediateModeRendering 0
mapOutline SetScalarVisibility 1
mapOutline SetUseLookupTableScalarRange 0

```

```

vtkActor outline

```

```

outline SetMapper mapOutline
eval [outline GetProperty] SetAmbientColor 0 0 0
eval [outline GetProperty] SetColor 0 0 0

```

```
eval [outline GetProperty] SetDiffuseColor 0 0 0
eval [outline GetProperty] SetOpacity 1
eval [outline GetProperty] SetInterpolation 1
eval [outline GetProperty] SetRepresentation 2
eval [outline GetProperty] SetBackfaceCulling 0
eval [outline GetProperty] SetEdgeVisibility 0
eval [outline GetProperty] SetFrontfaceCulling 0
outline SetOrigin 0 0 0
outline SetPosition 0 0 0
outline SetScale 1 1 1
outline SetPickable 1
outline SetVisibility 1
```

```
# -----
# Insert all actors into the renderer
# -----
```

```
aRenderer AddActor outline
aRenderer AddActor skin
```

```
# -----
# Reset the camera and show the console
# -----
```

```
aRenderer ResetCamera
aRenderer ResetCameraClippingRange
renWin Render
#iren Start
```

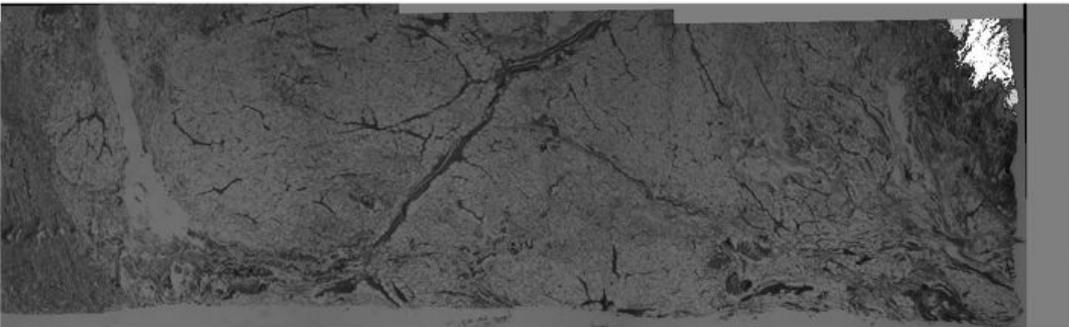
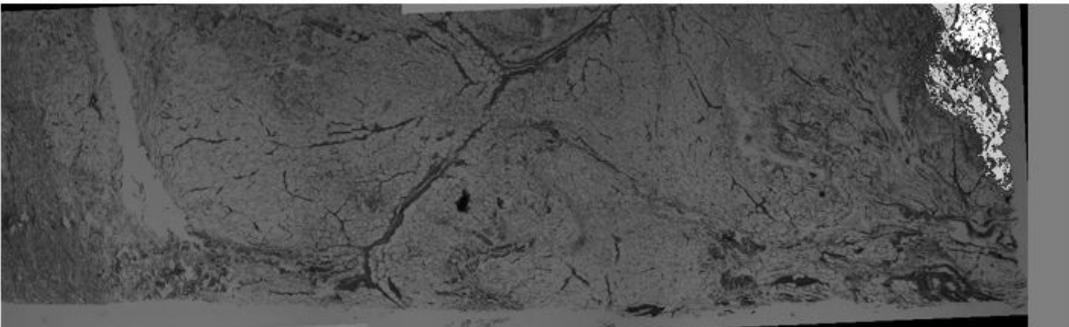
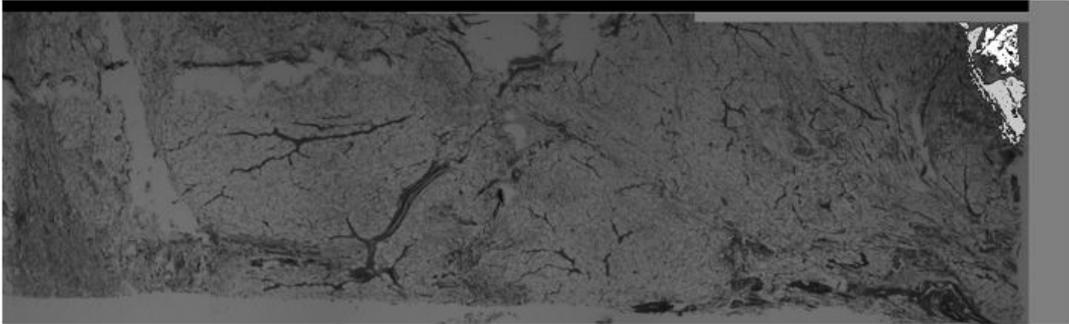
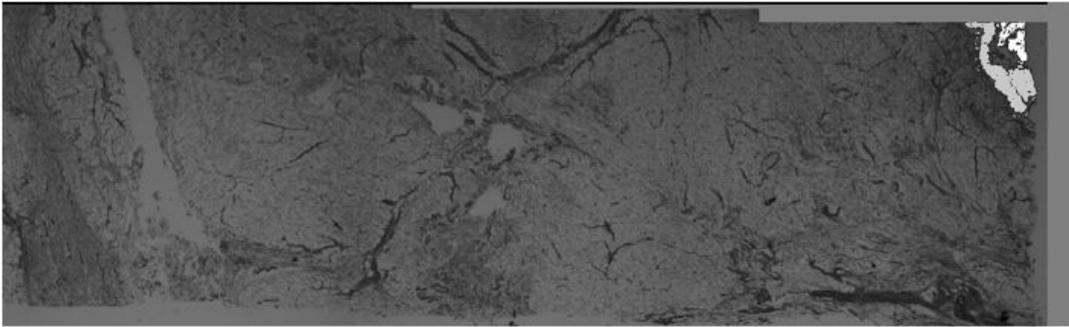
```
i# To enable a console, uncomment next line
#console show
wm withdraw .
```

```
update
```

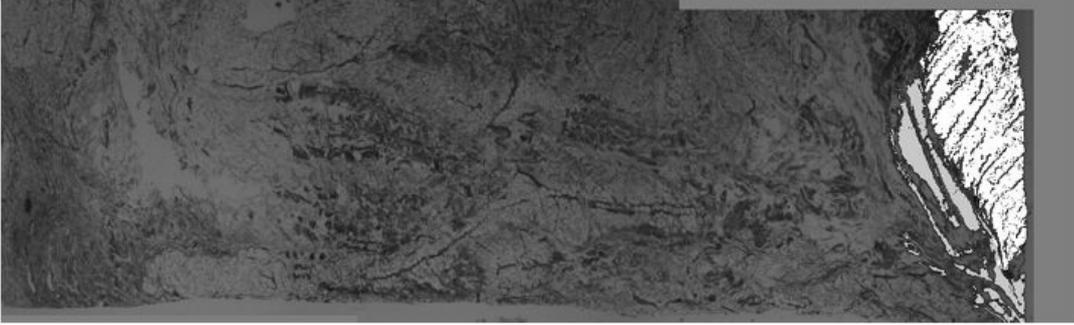
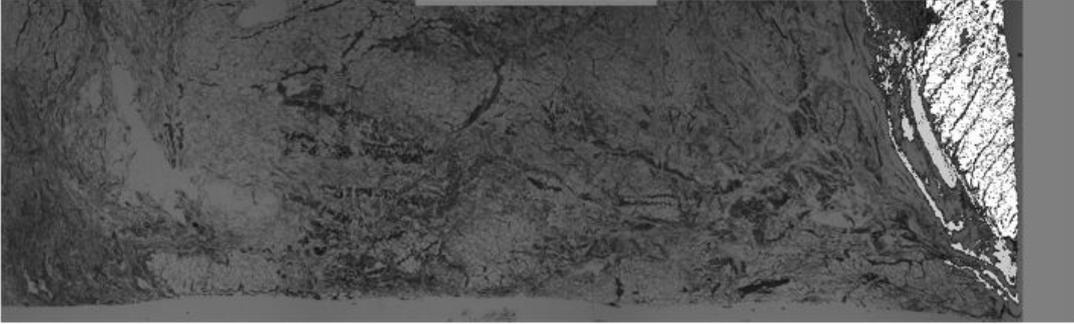
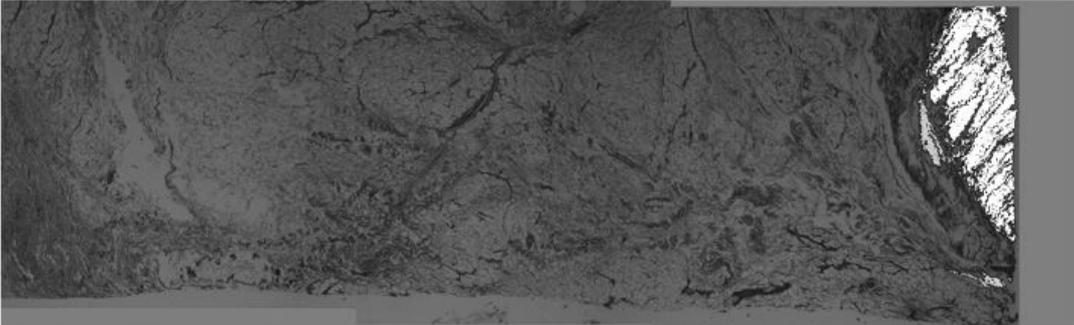
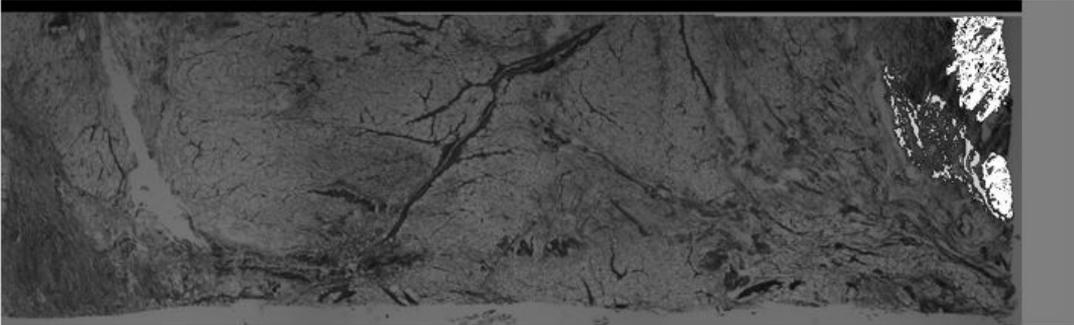
APPENDICE B

Tavole

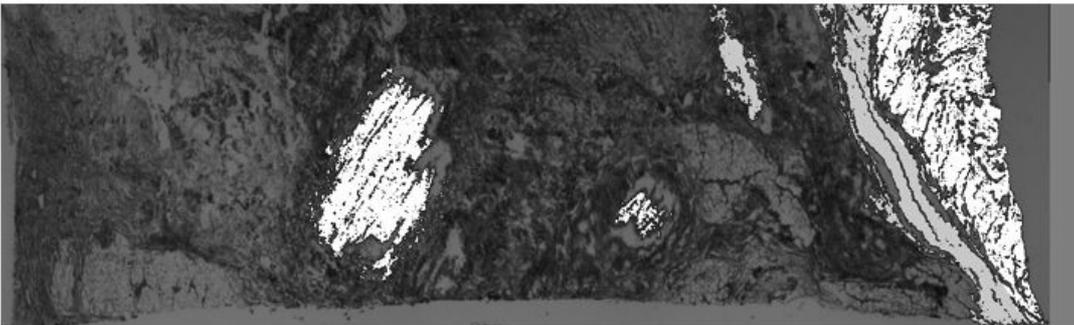
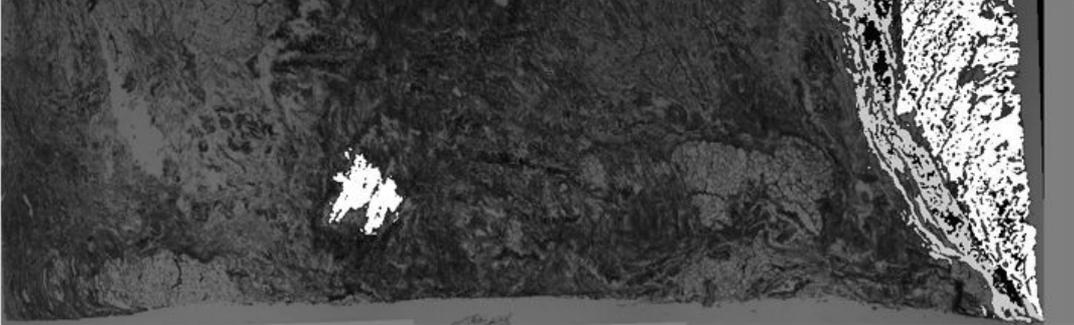
B.1 Immagini 1 – 4



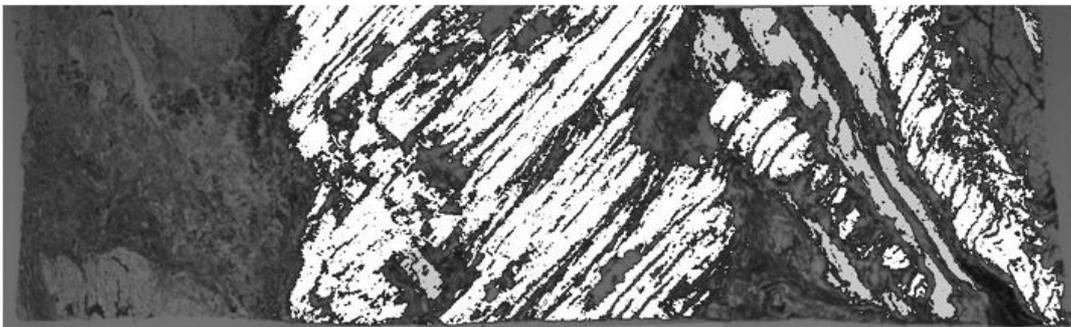
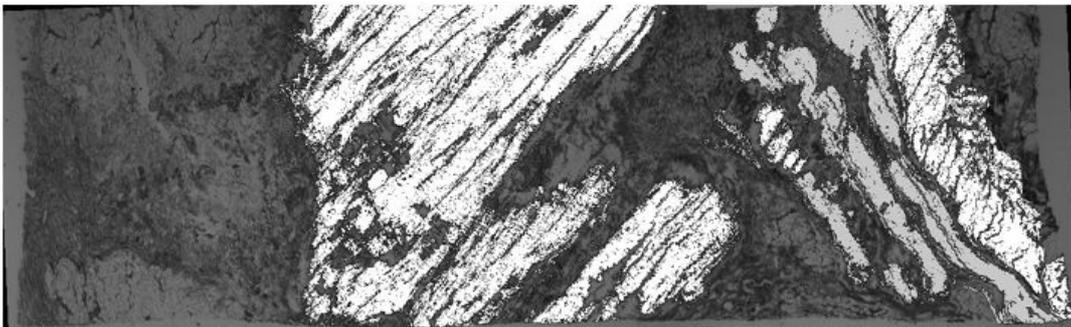
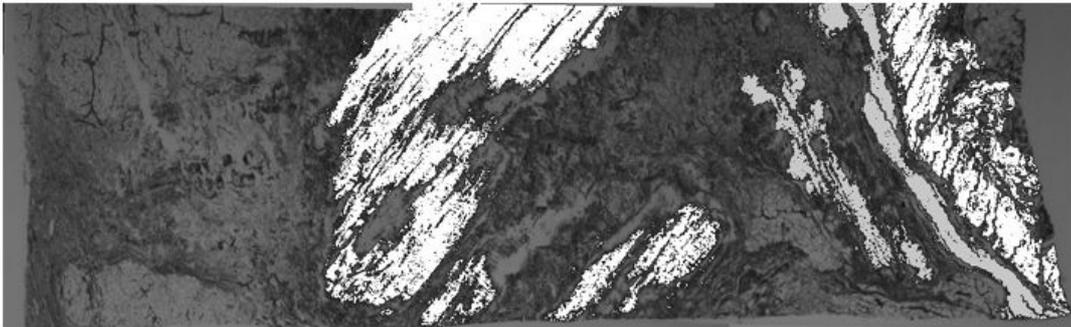
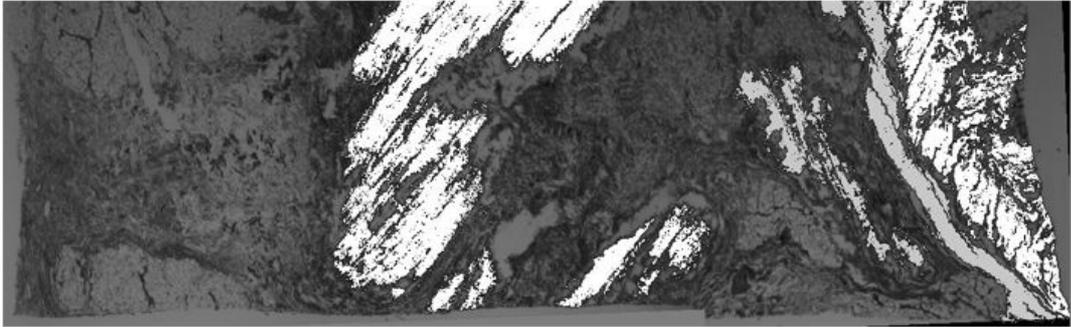
B.2 Immagini 5 – 8



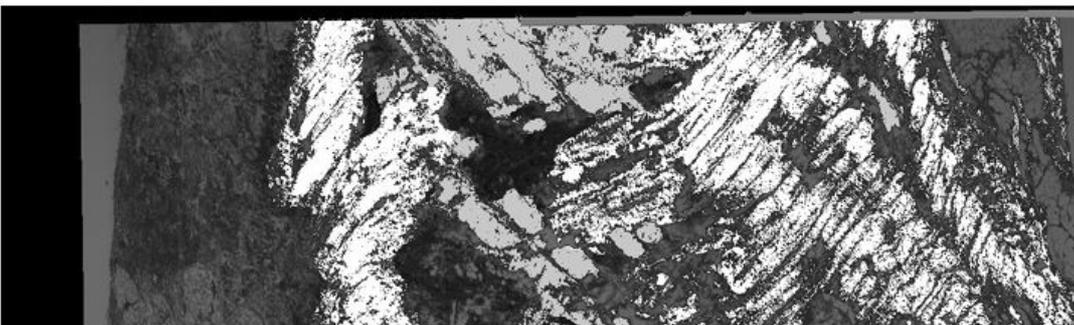
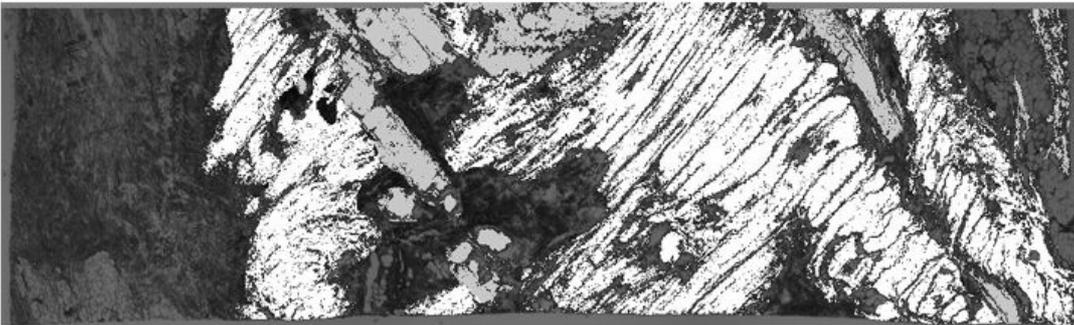
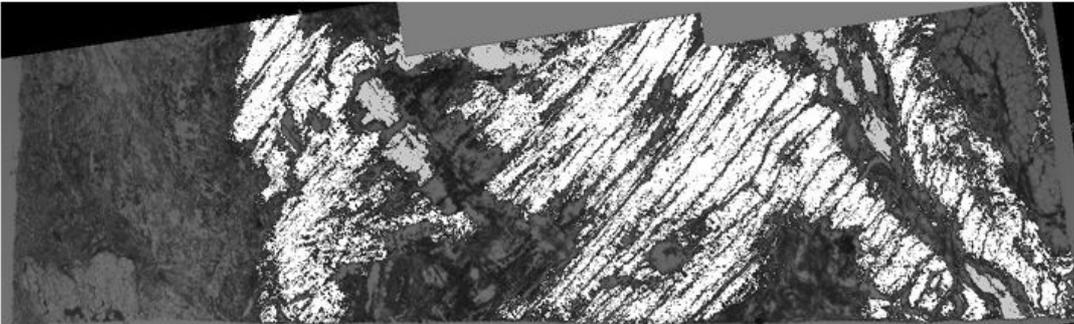
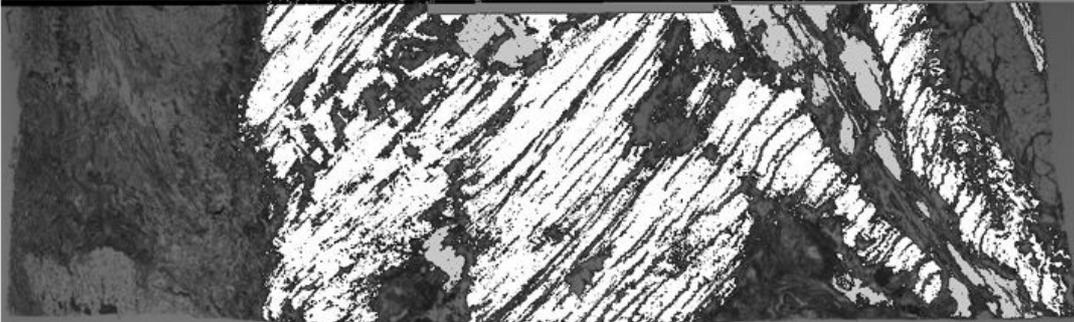
B.3 Immagini 9 – 12



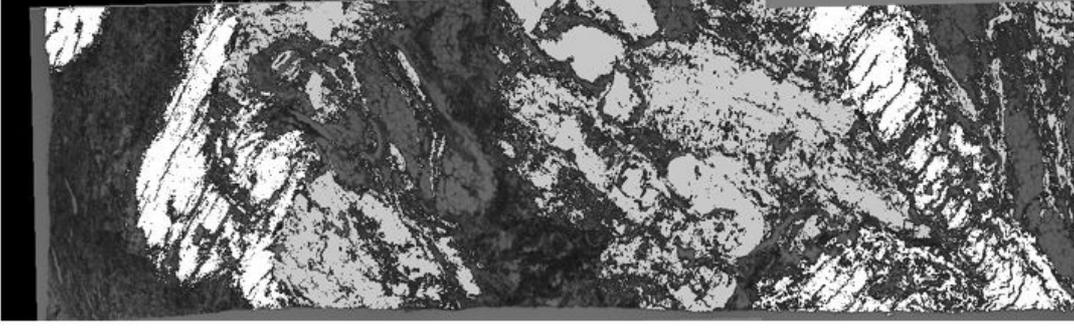
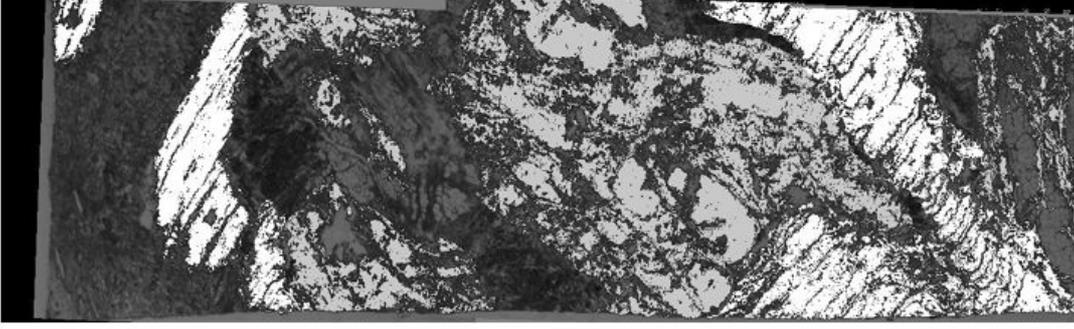
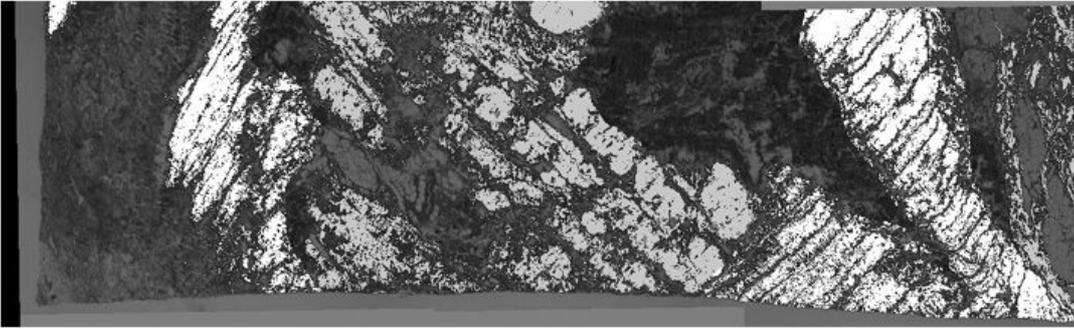
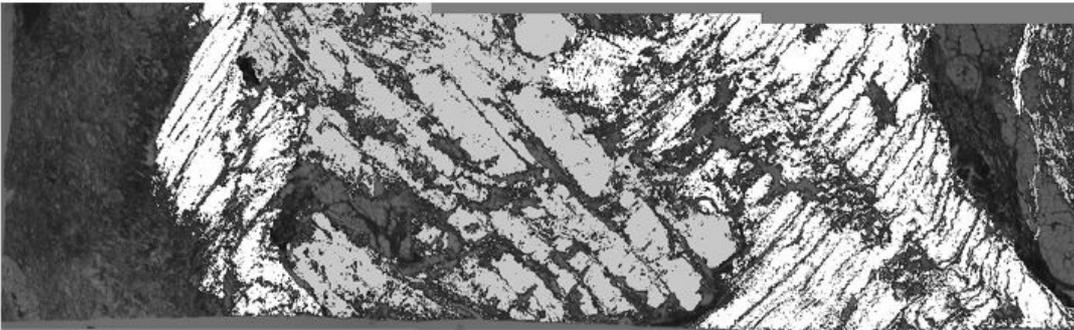
B.4 Immagini 13 – 16



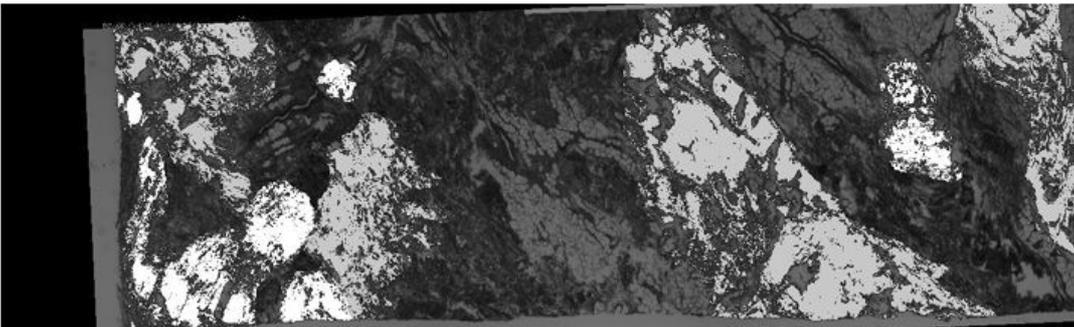
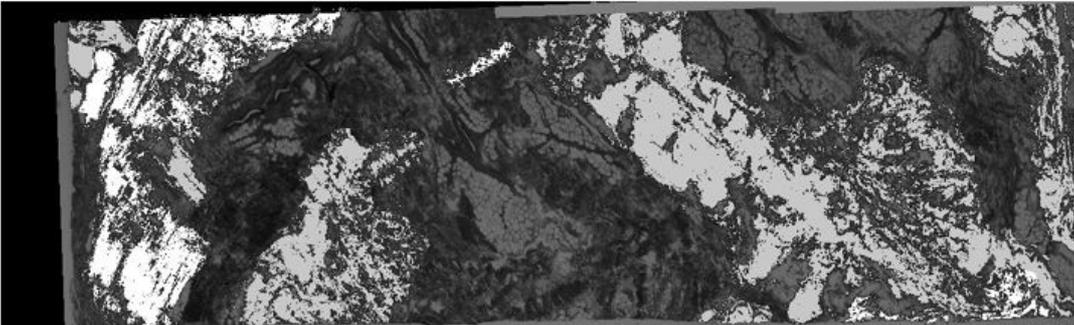
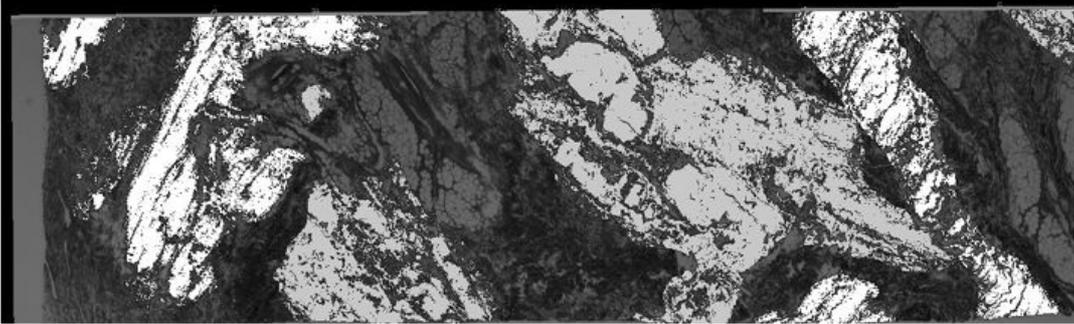
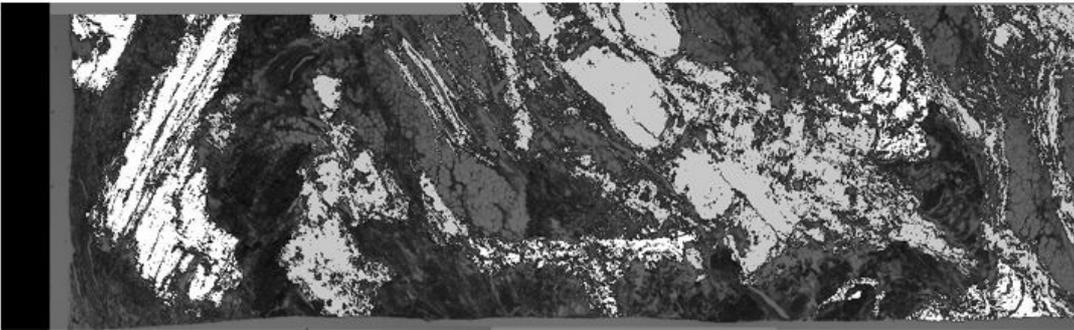
B.5 Immagini 17 – 20



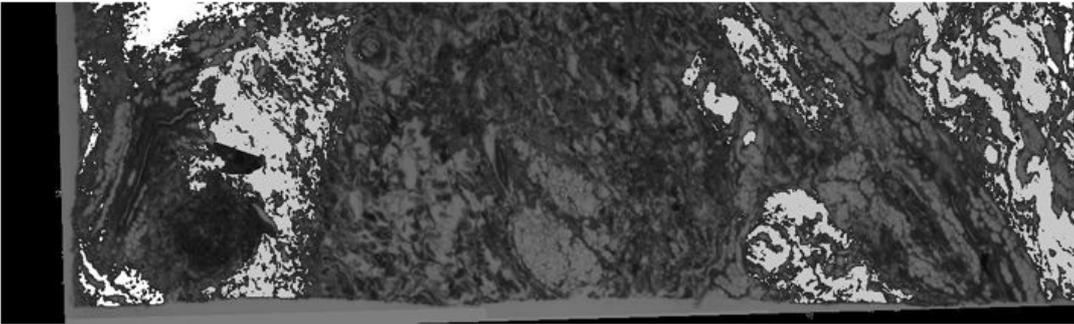
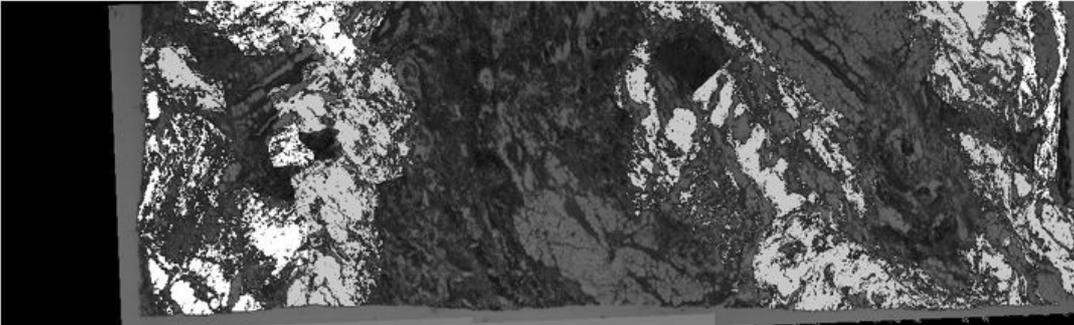
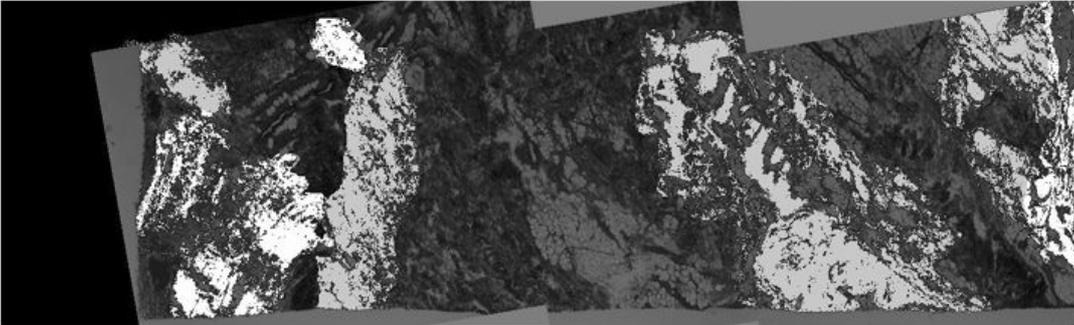
B.6 Immagini 21 – 24



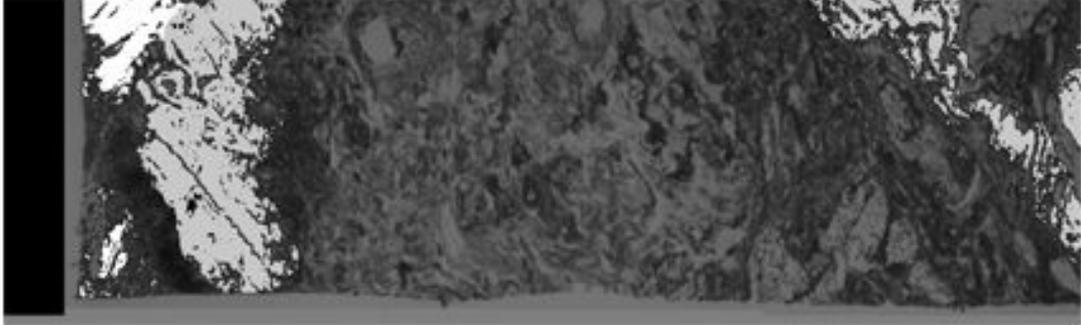
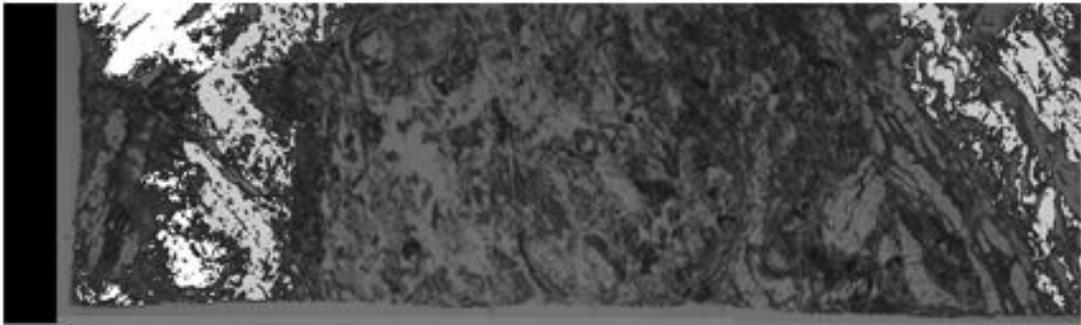
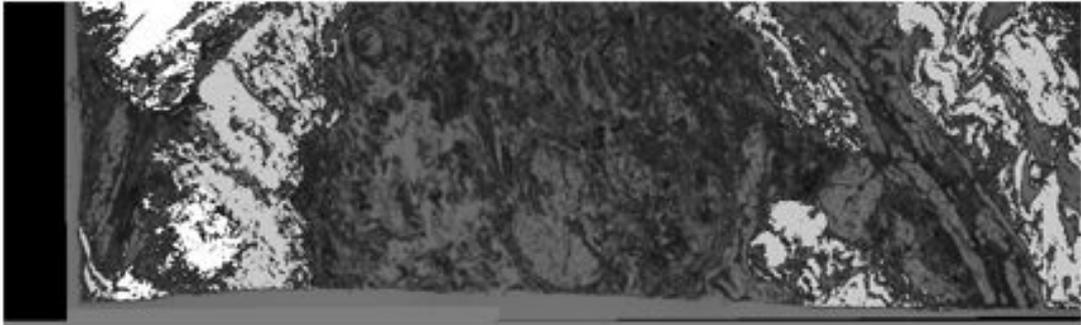
B.7 Immagini 25 – 28



B.8 Immagini 29 – 32



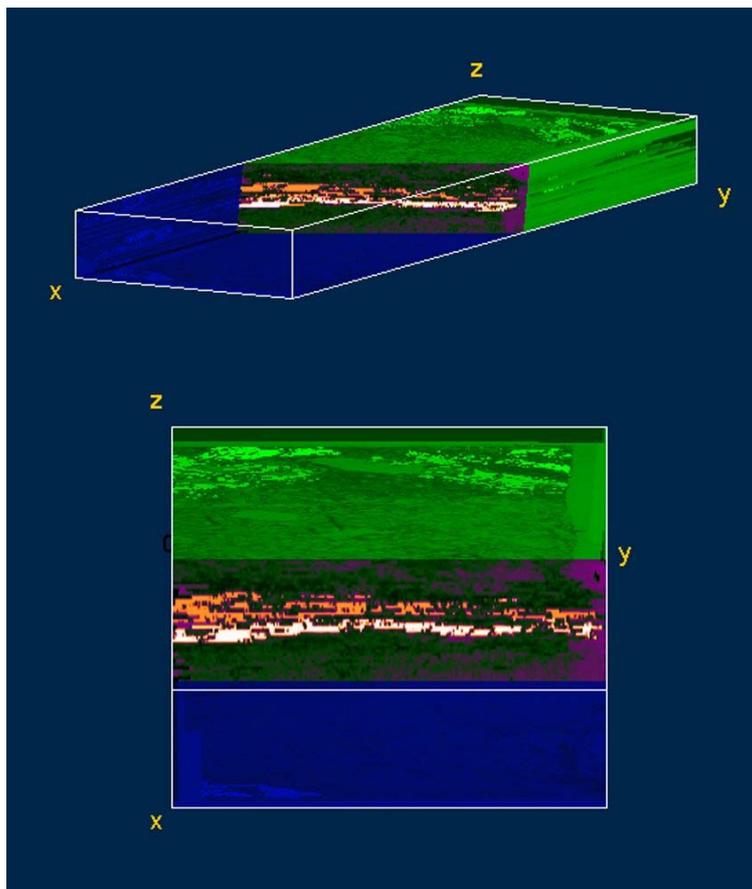
B.9 Immagini 33 – 36



B.10 Immagine 37

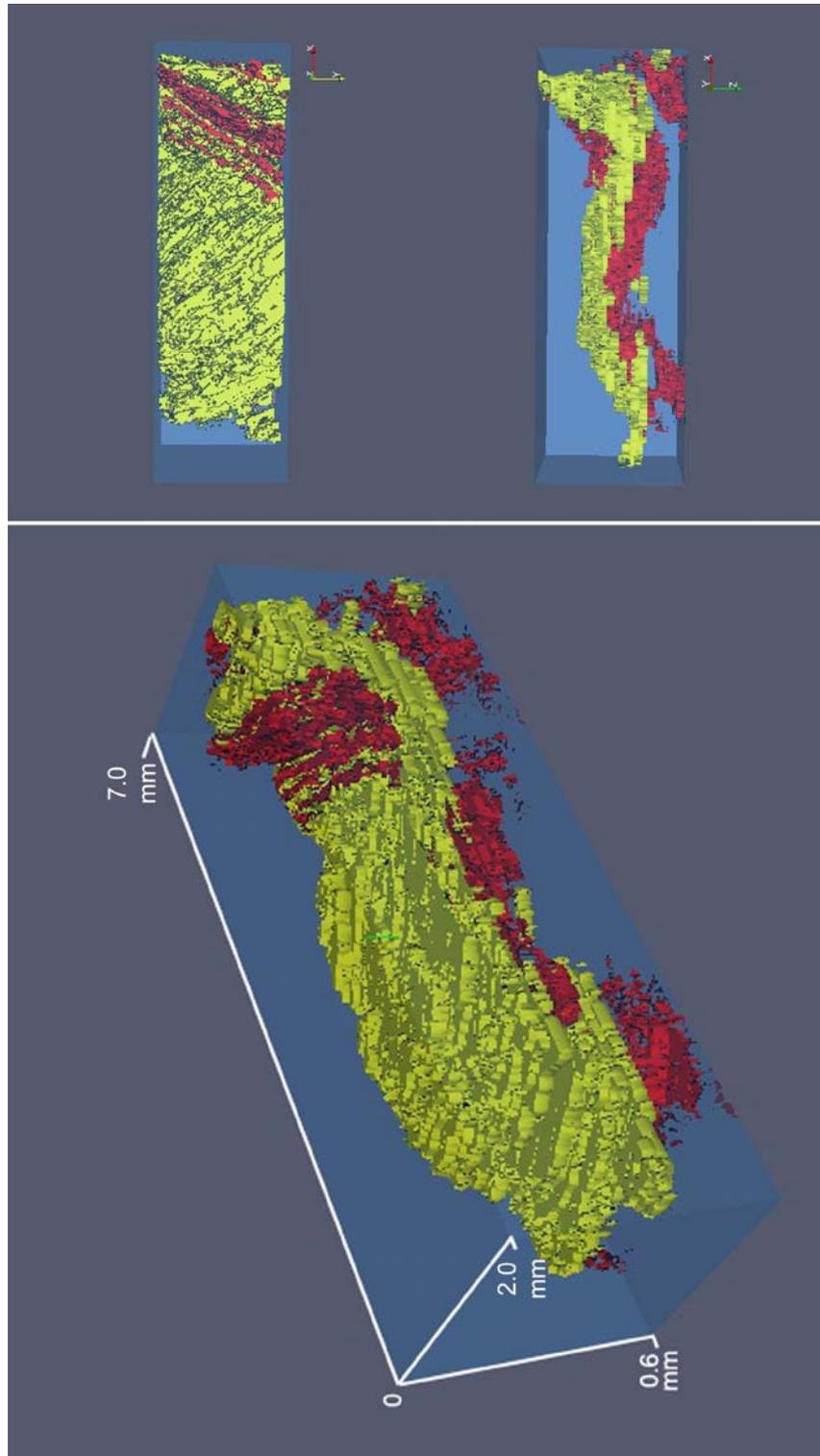


B.11 Modello ottenuto tramite *Volume Viewer*

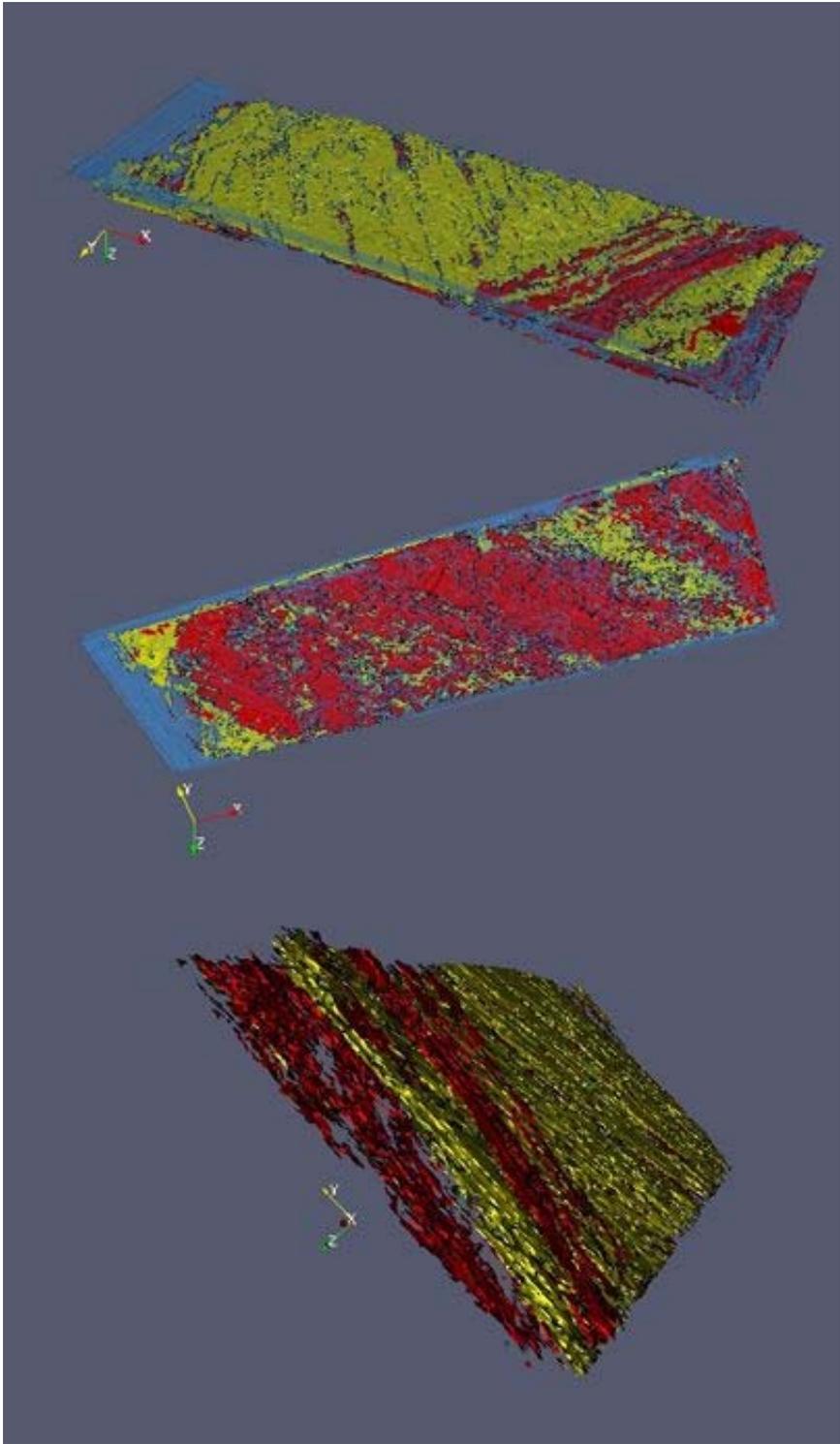


B.12 Modello ottenuto tramite *CreateVTKfile*

B.12.1 Tavola 1



B.12.2 Tavola 2



APPENDICE C

Tabella

C.1 Misure di area e frazione di volume delle tre componenti

<i>Dir.1</i>		<i>Dir.2</i>		<i>Connettivo</i>	
<i>Sez.</i>	<i>Area</i>	<i>Sez.</i>	<i>Area</i>	<i>Sez.</i>	<i>Area</i>
1	769	1	2579	1	486000
2	1338	2	2397	2	470032
3	2074	3	4867	3	480579
4	2971	4	564	4	488705
5	6490	5	1935	5	466203
6	12538	6	1068	6	479123
7	16985	7	5739	7	468448
8	19282	8	6861	8	466634
9	18158	9	9495	9	464032
10	19779	10	12550	10	460047
11	29752	11	13731	11	449043
12	38650	12	15323	12	439040
13	61592	13	16581	13	412853
14	67884	14	17376	14	407480
15	107434	15	25699	15	357319
16	124940	16	27207	16	345398
17	146583	17	22008	17	323674
18	119147	18	14604	18	343973
19	154784	19	37296	19	303805
20	103559	20	42376	20	303244
21	110808	21	98369	21	291924
22	61877	22	59809	22	364175
23	68131	23	89189	23	314977
24	59809	24	109185	24	309539
25	40495	25	81761	25	349893
26	51344	26	89795	26	331932
27	27919	27	90257	27	345811
28	4486	28	74155	28	347900
29	5716	29	66446	29	347160
30	3273	30	67849	30	354334
31	1437	31	75758	31	374912
32	948	32	53302	32	398539
33	0	33	61250	33	389017
34	0	34	33462	34	423774
35	0	35	44806	35	414906
36	0	36	43827	36	410155
37	0	37	31934	37	423384
Voxel count: 1490952		Voxel count: 1451410		Voxel count: 14607964	
Average per slice: 40296.00		Average per slice: 39227.30		Average per slice: 394809.84	
Volume fraction: 8.18%		Volume fraction: 7.96%		Volume fraction: 80.12%	

C.2 Misure dell'angolo tra le orientazioni dei due strati nel piano xy

	<i>Angolo</i>
1	75,62
2	71,48
3	74,43
4	80,03
5	83,74
6	78,87
7	79,95
8	72,95
9	82,12
10	82,49
Media	78,168
std	4,280477
sem	1,353606

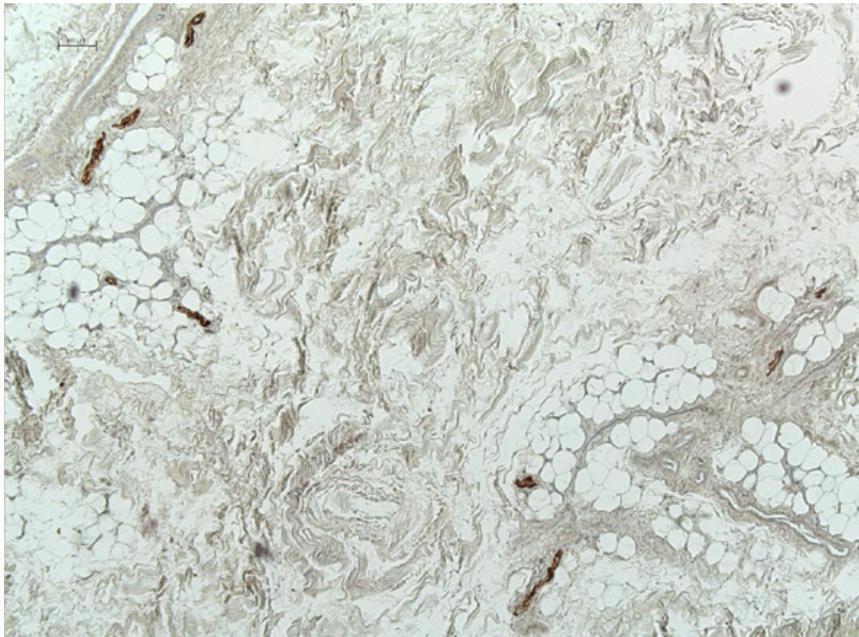
C.3 Misure dello spessore dei due strati nel piano xz

<i>Dir.1</i>		<i>Dir.2</i>		
	<i>Spessore</i>		<i>Spessore</i>	(mm)
1	0,09	1	0,12	
2	0,1	2	0,09	
3	0,09	3	0,11	
4	0,12	4	0,14	
5	0,11	5	0,09	
Media	0,102		0,11	
std	0,013038		0,021213	
sem	0,005831		0,009487	

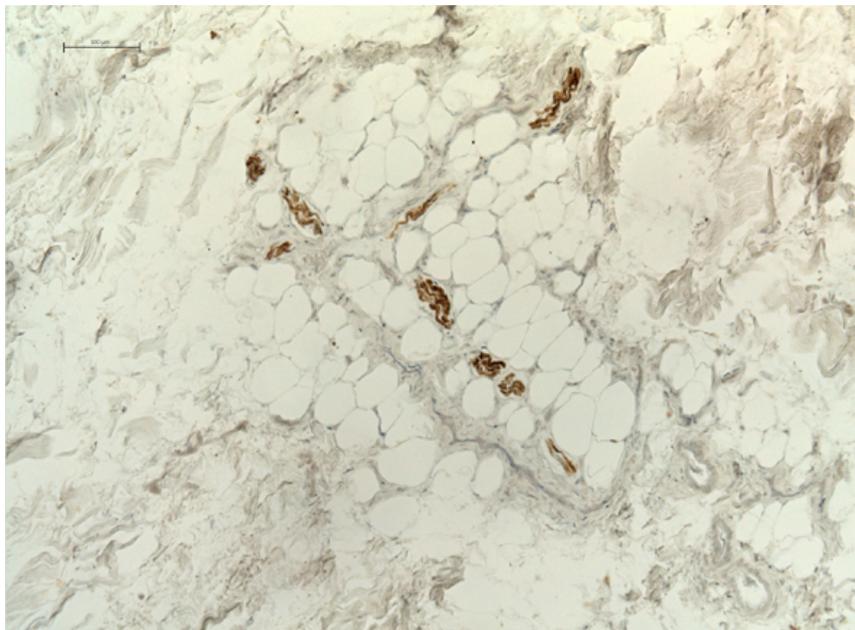
APPENDICE D

Tavole

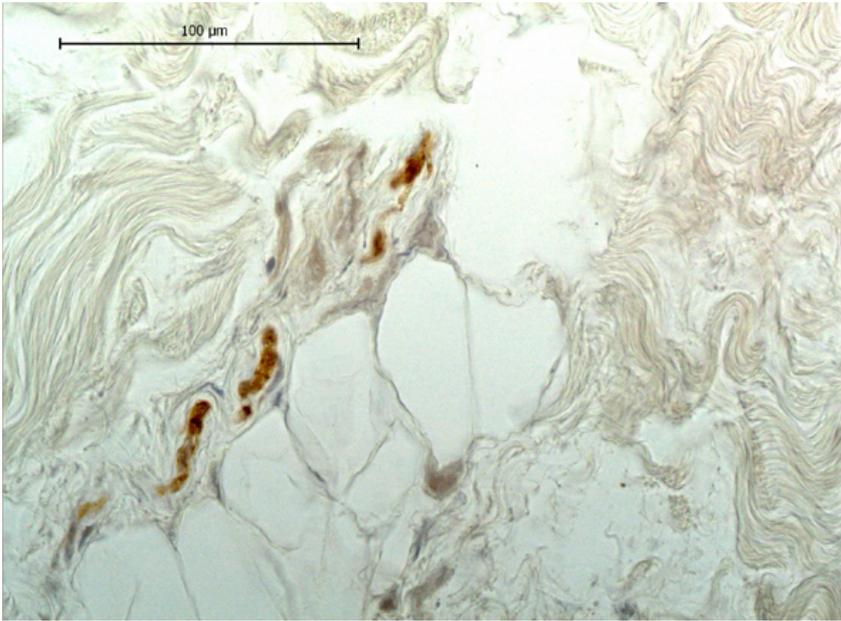
D.1 Sezione 21, ingrandimento 5x



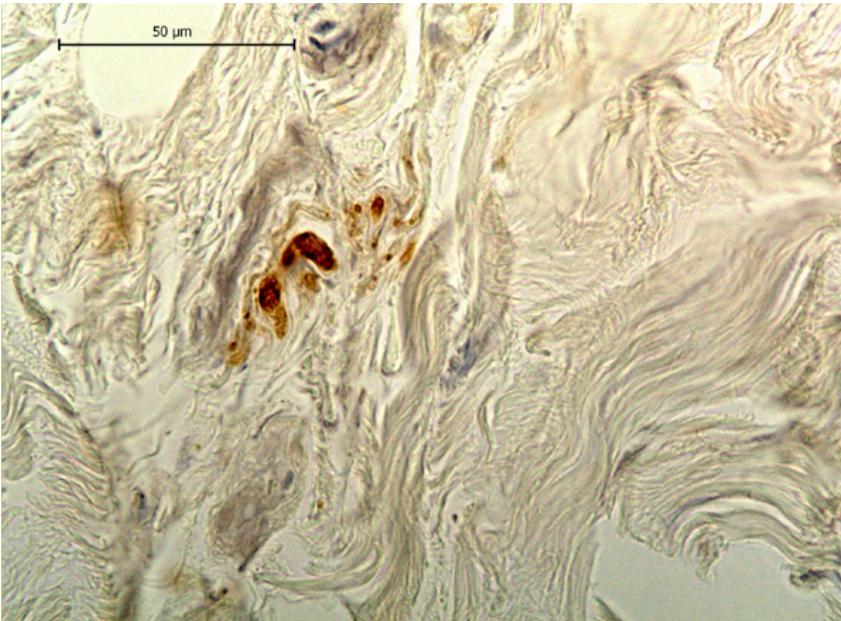
D.2 Sezione 23, ingrandimento 10x



D.3 Sezione 15, ingrandimento 25x

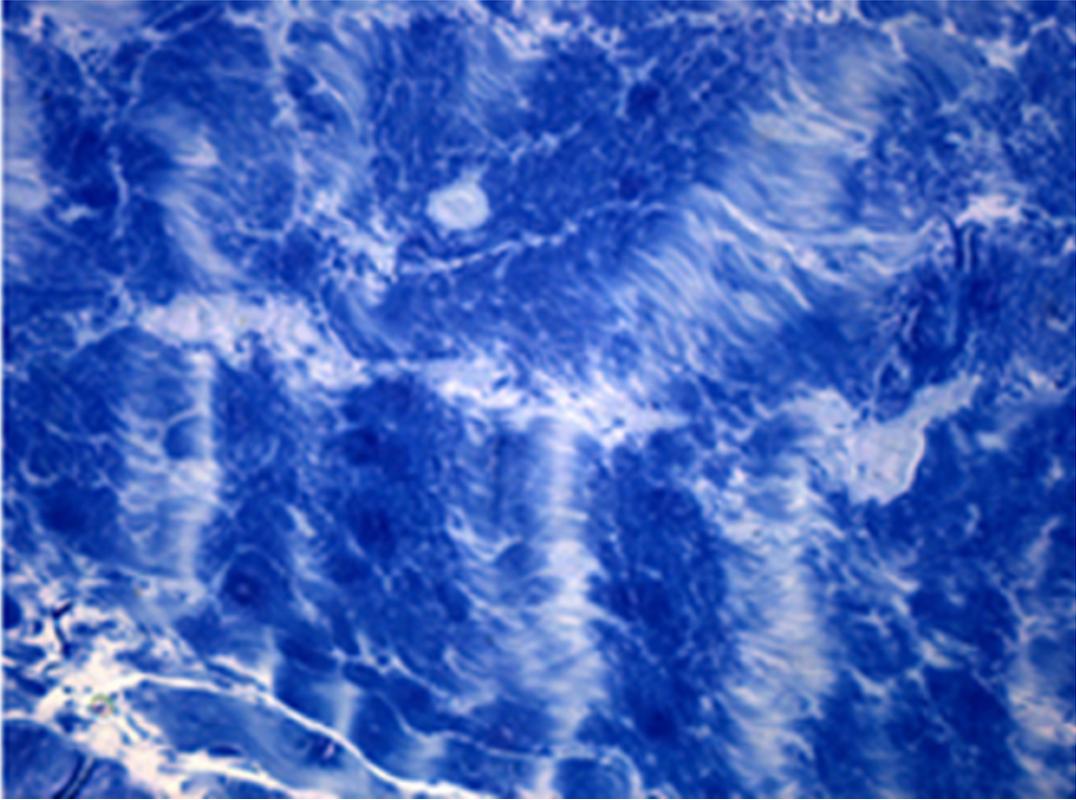


D.4 Sezione 13, ingrandimento 63x

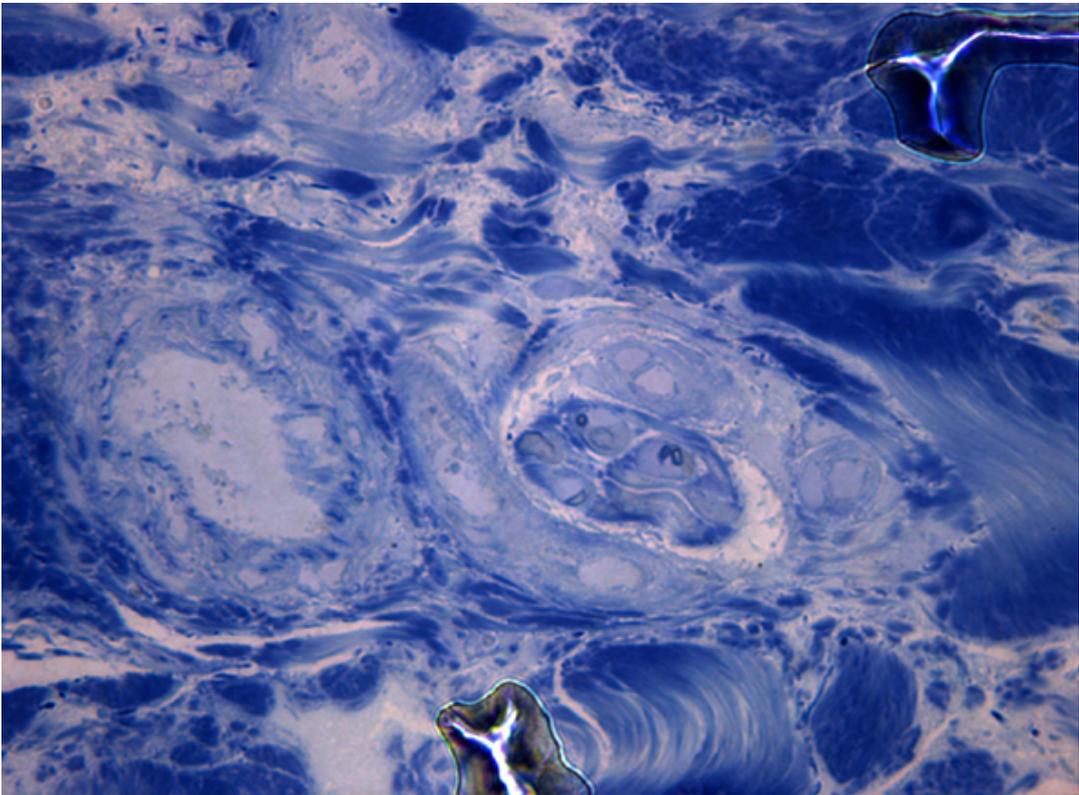


D.5 Semifini, ingrandimento 40x [a] e 63x [b]

[a]

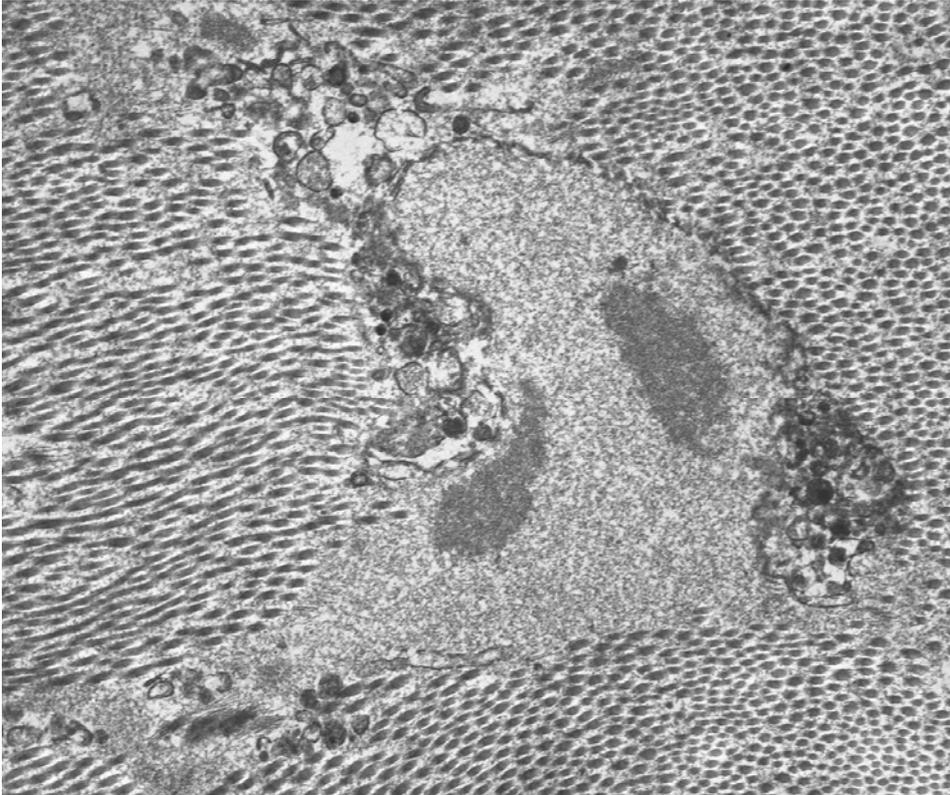


[b]

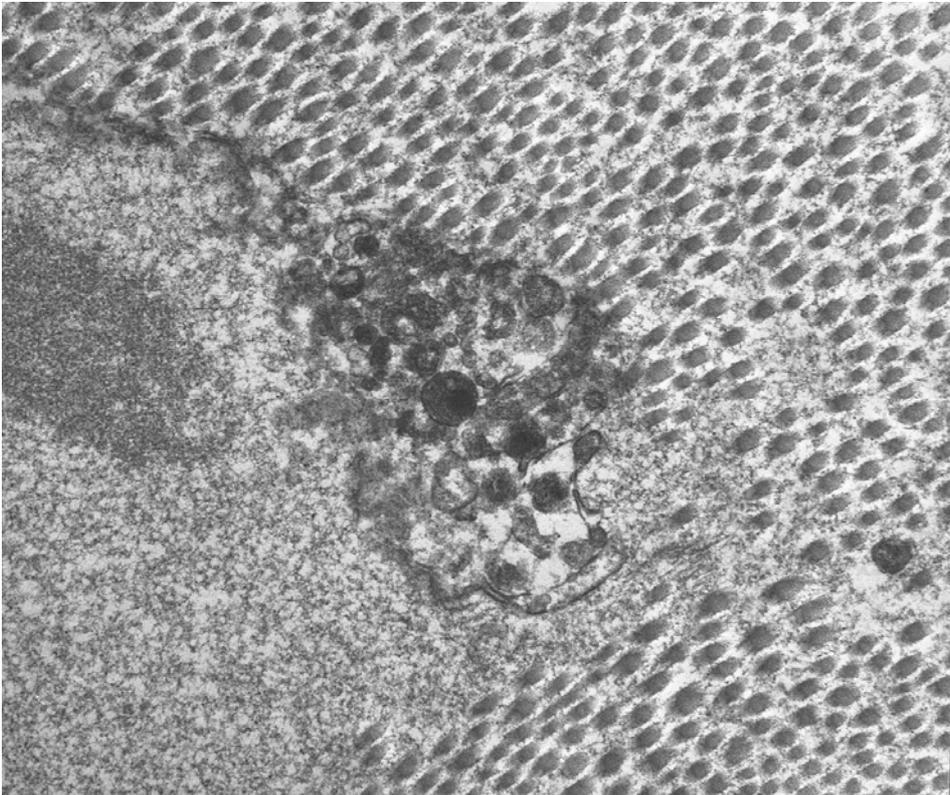


D.6 Microscopio elettronico, ingrandimento 10000x [a] e 20000x [b]

[a]



[b]



Bibliografia

- [1] BLOOM, FAWCETT, *Trattato di istologia*, McGraw Hill 1996 Dodicesima Ed
- [2] YOUNG, LOWE, STEVENS, HEATH, *Wheater. Istologia ed anatomia microscopica*, Elsevier Masson 2007 Quinta Ed (Edizione italiana a cura di Ottavio Cremona)
- [3] DI BELLO, *Biomateriali. Introduzione allo studio dei materiali per uso biomedico*, Patron 2004
- [4] HO, MARSHALL SJ., RYDER, MARSHALL GW., *The tooth attachment mechanism defined by structure, chemical composition and mechanical properties of collagen fibers in the periodontium*, In: *Biomaterials*, 2007, 28(35): 5238-45.
- [5] STECCO L., STECCO C., *Manipolazione fasciale. Parte pratica*, Piccin 2007
- [6] STECCO C., PORZIONATO, STECCO A., MACCHI, DAY, DE CARO, *Histological study of the deep fasciae of the limbs*, In press, 2008
- [7] STECCO C., PORZIONATO, MACCHI, TIENGO, PARENTI, ALDEGHERI, DELMAS, DE CARO, *Histological characteristics of the deep fascia of the upper limb*, In: *Italian journal of anatomy and embryology*, 2006, 111(2): 105-10.
- [8] TESTUT, *Human anatomy*, Gaston Doin and Cie Ed 1899
- [9] STECCO C., GAGEY, MACCHI, PORZIONATO, DE CARO, ALDEGHERI, DELMAS, *Tendinous muscular insertions onto the deep fascia of the upper limb. First part: anatomical study*, In: *Morphologie*, 2007, 91(292): 29-37.
- [10] MEIJER, RIJKELIJKHUIZEN, HUIJING, *Myofascial force transmission between antagonistic rat lower limb muscles: effects of single muscle or muscle group lengthening*, In: *Journal of electromyography and kinesiology*, 2007, 17(6): 698-707.
- [11] YUCESOY, KOOPMAN, HUIJING, BAAN, GROOTENBOER, *Effects of inter- and extramuscular myofascial force transmission on adjacent synergetic muscles: assesment by experiments and finite-element modeling*, In: *Journal of biomechanics*, 2003, 36(12):1797-811.

- [12] HUIJING, VAN DE LANGENBERG, MEESTERS, BAAN, *Extramuscular myofascial force transmission also occurs between synergistic muscles and antagonistic muscles*, In: *Journal of electromyography and kinesiology*, 2007, 17(6): 680-9.
- [13] MAAS, MEIJER, HUIJING, *Intermuscular interaction between synergists in rat originates from both intermuscular and extramuscular myofascial force transmission*, In: *Cells Tissues Organs*, 2005, 181(1): 38-50.
- [14] BEDNAR, ORR, SIMON, *Observations on the pathomorphology of the thoracolumbar fascia in chronic mechanical back pain. A microscopic study*, In: *Spine*, 1995, 20(10): 1161-4.
- [15] STECCO C., GAGEY, BELLONI, POZZUOLI, PORZIONATO, MACCHI, ALDEGHERI, DE CARO, DELMAS, *Anatomy of the deep fascia of the upper limb. Second part: study of innervation*, In: *Morphologie*, 2007, 91(292): 38-43.
- [16] STECCO C., PORZIONATO, MACCHI, STECCO A., VIGATO, PARENTI, ALDEGHERI, DE CARO, DELMAS, *The Expansions of the Pectoral Girdle Muscles onto the Brachial Fascia: Morphological Aspects and Spatial Disposition*, In: *Cells Tissues Organs*, 2008 [Epub ahead of print]