

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Biomediche

Corso di Laurea Triennale in Scienze Motorie

Tesi di Laurea

**DIFFERENZE DELL'ATTIVITÀ E PROPRIETÀ DELLE UNITÀ MOTORIE
TRA GIOVANI ADULTI E ANZIANI INVESTIGATE CON
Elettromiografia di Superficie ad Alta Intensità**

Relatore: Dott. Casolo Andrea

Correlatore: Sampieri Alessandro

Laureando: Masiero Lorenzo

N° di matricola: 2052764

Anno Accademico 2023/2024

INDICE

ABSTRACT	4
1. INTRODUZIONE	5
1.1 SISTEMA NERVOSO E FORZA MUSCOLARE	5
1.2 L'UNITÀ MOTORIA	6
1.2.1 <i>Reclutamento delle UM</i>	6
1.2.2 <i>Frequenza di scarica delle unità motorie</i>	7
1.3 REGISTRAZIONE DELL'ATTIVITÀ DELLE UNITÀ MOTORIE	7
1.4 CAMBIAMENTI FISIOLÓGICI LEGATI ALLE PROPRIETÀ NEUROMUSCOLARI CON L'INVECCHIAMENTO	9
1.4.1 <i>Cambiamenti nella soglia di reclutamento con l'invecchiamento</i>	10
1.4.2 <i>Cambiamenti nella frequenza di scarica con l'invecchiamento</i>	11
1.5 SCOPO DELLO STUDIO	12
2. MATERIALI E METODI	13
2.1 PARTECIPANTI E RECLUTAMENTO	13
2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE	13
2.3 TEST DI VALUTAZIONE NEUROMUSCOLARE	14
2.4 REGISTRAZIONE E ANALISI DEL SEGNALE DI FORZA E HDsEMG	16
3.4 PROCESSING E ANALISI DEL SEGNALE HDsEMG	17
3.5 VARIABILI ANALIZZATE	18
3.6 ANALISI STATISTICA	18
3. RISULTATI	19
3.1 DIFFERENZE NELLO SVILUPPO DELLA FORZA	19
3.2 DECOMPOSIZIONE DEL SEGNALE HDsEMG	19
3.3 DIFFERENZE TRA GIOVANI E ANZIANI NELLA FREQUENZA DI SCARICA DELLE UM	20
3.3.1 <i>Differenze nella frequenza di scarica nelle diverse intensità (% MVC)</i>	21
3.4 DIFFERENZE TRA GIOVANI E ANZIANI NELLA SOGLIA DI RECLUTAMENTO E DERECLUTAMENTO DELLE UM	21
4. DISCUSSIONE	23
4.1 PRINCIPALI RISULTATI	23
4.2 EFFETTI DELL'INVECCHIAMENTO SULLA COMPONENTE NEURALE SOTTOSTANTE ALLA PRODUZIONE DI FORZA	23
4.3 PUNTI DI FORZA DELLO STUDIO	25
4.4 LIMITI DELLO STUDIO	25
5. CONCLUSIONE	26
BIBLIOGRAFIA	27

ABSTRACT

Scopo dello studio: Indagare le differenze nei meccanismi neurali responsabili della produzione di forza tra giovani adulti ed anziani, attraverso lo studio di comportamento e proprietà di popolazioni rappresentative di unità motorie identificate nel muscolo vasto laterale durante contrazioni submassimali.

Materiali e metodi: Un totale di 13 giovani adulti sani (di età compresa tra i 18 e 35 anni) e 7 anziani sani (di età superiore ai 65 anni) sono stati reclutati e sottoposti a un test neuromuscolare allo scopo di valutare differenze nella massima forza volontaria espressa (MVC) e successivamente individuare e confrontare le proprietà delle unità motorie (soglia di reclutamento e frequenza di scarica). Il test neuromuscolare consisteva in contrazioni muscolari massimali (MVC) e submassimali trapezoidali a diverse intensità (15%, 35%, 50%, 70% MVC), durante le quali è stato possibile registrare l'attività mioelettrica del muscolo vasto laterale attraverso l'elettromiografia di superficie ad alta intensità (HDsEMG). Mediante un processo algebrico validato, noto come decomposizione del segnale HDsEMG, è stato possibile identificare un totale di 1202 unità motorie. Durante la stessa visita è stato possibile valutare la composizione corporea dei partecipanti tramite DEXA, ed è stato consegnato il questionario GPAQ allo scopo di quantificare i livelli di attività fisica abituale svolta dai partecipanti allo studio.

Risultati: Sono state riscontrate differenze significative tra il gruppo di giovani e quello degli anziani nella massima forza volontaria (MVC) espressa ($P = 0.006$). I giovani hanno mostrato una forza superiore del 29.3% rispetto agli anziani. La frequenza di scarica negli anziani è risultata inferiore del 14.29% ($P = 0.015$). Differenze significative sono state osservate al 35% ($P < 0.009$) e al 50% di MVC ($P = 0.016$), con gli anziani che hanno mostrato frequenze di scarica inferiori del 16.5% (35% MVC), del 17.4% (50% MVC) e del 14.5% (70% MVC). La soglia di reclutamento assoluta media era significativamente inferiore del 29.9% negli anziani rispetto ai giovani ($P = 0.006$), mentre la soglia di reclutamento relativa media ha mostrato un aumento significativo del 26.0% negli anziani rispetto ai giovani ($P = 0.012$). Similmente, la soglia di dereclutamento assoluta è risultata inferiore del 25.92% negli anziani rispetto ai giovani ($P = 0.018$), mentre non sono emerse differenze tra i gruppi in termini di soglia di dereclutamento relativa.

Conclusione: I risultati osservati denotano la presenza di sostanziali differenze tra giovani adulti e anziani per quanto riguarda i meccanismi di controllo della forza a livello di unità motoria. La ridotta capacità di esprimere forza volontaria degli anziani rispetto ai giovani adulti è in parte associabile ad un'alterazione delle strategie di reclutamento e della frequenza di scarica delle unità motorie associata all'invecchiamento. Al contrario, i giovani adulti mostrano capacità neuromuscolari superiori rispetto agli anziani, indicando che l'invecchiamento influisce significativamente su queste capacità.

1. INTRODUZIONE

1.1 SISTEMA NERVOSO E FORZA MUSCOLARE

Nella vita quotidiana, lo sviluppo della forza rappresenta un elemento cruciale per il mantenimento della salute e del benessere fisico. Questo processo coinvolge una vasta rete di circuiti neurali che coordinano l'interazione sinergica tra il sistema nervoso centrale (SNC) e il sistema nervoso periferico (SNP con i rispettivi nervi periferici), atti alla trasmissione dell'impulso nervoso al sistema muscolo-scheletrico. Quest'ultimo rappresenta l'organo effettore responsabile dell'esecuzione meccanica del movimento.

Il SNC (costituito dagli organi fondamentali encefalo e midollo spinale) recepisce ed elabora le informazioni afferenti sensoriali, inviate dalla periferia del corpo attraverso differenti recettori periferici. In seguito al processo di elaborazione, il SNC pianifica e trasmette, tramite segnali efferenti, la risposta motoria al sistema muscolo-scheletrico (Enoka, 2015).

La trasmissione del segnale nervoso alla periferia del corpo è permessa da due famiglie principali di neuroni motori chiamati motoneuroni. I motoneuroni della prima famiglia generano l'impulso nervoso, che viene poi trasmesso ai motoneuroni della seconda famiglia attraverso le vie discendenti. Questi ultimi neuroni (motoneuroni- α) trasmettono l'informazione nervosa alle fibre muscolari. L'impulso nervoso si propaga alle fibre muscolari all'interno dell'assone (prolungamento cilindrico mielinizzato specializzato nella conduzione di segnali elettrici e chimici in uscita dal corpo cellulare del neurone motorio) come un segnale composto da brevi impulsi elettrici (1-2 ms) che comportano variazioni temporanee nel potenziale di membrana dell'assone eccitabile. Questi impulsi elettrici prendono il nome di potenziali d'azione e sono in grado di percorrere l'assone a una velocità fino a circa 80 m/s negli esseri umani. Durante alcuni specifici movimenti, i motoneuroni possono generare fino a 100 impulsi al secondo (Enoka, 2006).

Il complesso costituito dal motoneurone- α , dal proprio assone, e dalle fibre muscolari innervate prende il nome di unità motoria (Liddell & Sherrington, 1925). Il motoneurone trasmette il segnale nervoso (comando motorio) alle fibre muscolari in corrispondenza della giunzione neuromuscolare (luogo di comunicazione tra SN e tessuto muscolare). La trasmissione dell'informazione avviene tramite il rilascio di un neurotrasmettitore: l'acetilcolina. Essa, in seguito alla liberazione nello spazio post-sinaptico, causa l'innescamento del potenziale d'azione elettrochimico. La successiva depolarizzazione della membrana induce il rilascio di ioni Calcio (Ca^{2+}) all'interno della fibra muscolare. L'aumento della concentrazione di Ca^{2+} innesca il meccanismo della contrazione muscolare, permettendo alle due proteine contrattili, actina e miosina, di interagire tra di loro formando i ponti actino-miosinici (Enoka, 2008).

1.2 L'UNITÀ MOTORIA

L'unità motoria (UM) rappresenta l'unità funzionale di base del SNC e del muscolo in grado di generare un movimento. Essa è costituita dal motoneurone- α , dal proprio assone responsabile della trasmissione del segnale di attivazione, e dalle fibre muscolari innervate dal motoneurone stesso. Questo concetto è stato introdotto per la prima volta da Liddell e Sherrington nel 1925 e ad oggi riveste un ruolo cruciale nel comprendere il processo con cui il sistema nervoso produce e regola ogni movimento volontario.

Ogni fibra muscolare riceve l'innervazione da un singolo motoneurone. Tuttavia, il numero di fibre muscolari innervate da un singolo motoneurone varia considerevolmente a seconda del tipo di muscolo e delle esigenze funzionali. Infatti, i motoneuroni responsabili dell'innervazione di un singolo muscolo sono organizzati in *pool* o popolazioni di motoneuroni, noti anche come nuclei motori. Il numero di motoneuroni costituenti il *pool* varia da poche centinaia di cellule per i muscoli più piccoli, fino a mille motoneuroni per i muscoli di maggiori dimensioni (Enoka, 2006).

A monte del complesso sistema alla base della contrazione muscolare, il SNC è in grado di regolare l'attività delle unità motorie coinvolte nell'esecuzione di un movimento influenzandone a sua volta l'output motorio (Enoka, 2006). In particolare, il sistema nervoso è in grado di controllare con precisione la quantità di forza necessaria per svolgere un compito motorio principalmente attraverso due meccanismi: 1) variando il numero delle UM attivate o reclutate e/o 2) controllando la frequenza di scarica dei motoneuroni.

Nei paragrafi successivi questi due meccanismi di cui si serve il SNC per controllare la produzione di forza in movimenti volontari verranno discussi più dettagliatamente.

1.2.1 Reclutamento delle UM

Il reclutamento delle UM costituisce il processo di attivazione delle unità motorie da parte del sistema nervoso in risposta alla richiesta di forza da esprimere. Di conseguenza, un maggior numero di unità motorie attivate permetterà un maggior sviluppo di forza. Inoltre, indipendentemente dalle proprietà dei singoli motoneuroni e delle fibre muscolari che essi innervano, il reclutamento delle UM avviene in modo ordinato secondo il "*Size Principle*" o "Principio della dimensione" (Henneman, 1977). In particolare, nel suo studio pionieristico svolto su modello animale, Henneman ha dimostrato per la prima volta che la suscettibilità alla scarica è determinata dalla dimensione del motoneurone. In altri termini, esiste una relazione tra la grandezza del motoneurone e l'ordine nel quale il motoneurone stesso viene reclutato. Di conseguenza, durante contrazioni volontarie questo si traduce in un reclutamento ordinato delle UM, che procede dapprima reclutando motoneuroni di dimensioni più

ridotte (UM a bassa soglia di reclutamento) e via via di dimensioni sempre maggiori (ad alta soglia di reclutamento).

È bene anche evidenziare che raramente il sistema nervoso è in grado di reclutare l'intero *pool* di motoneuroni durante attività o movimenti quotidiani. A questo proposito, i motoneuroni di ridotte dimensioni saranno responsabili dell'innervazione di fibre muscolari aventi lenti tempi di contrazione e una maggior resistenza alla fatica (fibre muscolari di tipo I). Al contrario, motoneuroni di dimensioni maggiori saranno deputati alla trasmissione del segnale nervoso a fibre muscolari con una ridotta resistenza alla fatica ma con tempi di contrazione più rapidi (fibre muscolari di tipo IIa, o x).

1.2.2 Frequenza di scarica delle unità motorie

Il SNC è il regolatore principale della produzione di forza muscolare nel nostro corpo. Quando il SNC desidera produrre più forza, invia segnali sinaptici ai motoneuroni. Quest'ultimi ricevono i segnali e li integrano per determinare l'*input* neurale che verrà trasmesso alla muscolatura.

Dunque, gli assoni dei motoneuroni compongono i nervi spinali, trasmettendo quindi l'*input* sinaptico alle fibre muscolari. L'*input* ricevuto è tradotto in impulsi nervosi al secondo, che rappresentano la frequenza di scarica neurale. Le fibre muscolari, a loro volta, ricevono questi impulsi e si attivano, generando la contrazione muscolare necessaria per produrre forza (Enoka, 2006). Maggiore sarà l'*input* sinaptico, maggiore sarà la frequenza di scarica neurale. Questo, a sua volta, si traduce in un aumento della forza muscolare prodotta oltretutto a una maggior capacità di generare forza rapidamente. Infatti, nei movimenti volontari, la frequenza di scarica delle unità motorie è generalmente compresa tra i 5 e i 25 impulsi al secondo. Invece, quando il muscolo è chiamato ad esprimere la massima forza nel minor tempo possibile (ad es. in contrazioni rapide) la frequenza di scarica può raggiungere valori fino a 120 – 130 impulsi al secondo (Del Vecchio; Negro et al., 2019).

1.3 REGISTRAZIONE DELL'ATTIVITÀ DELLE UNITÀ MOTORIE

L'analisi dell'attività e delle proprietà delle unità motorie *in vivo* può essere condotta mediante l'impiego della tecnica nota come elettromiografia (EMG). Questo metodo consente di registrare l'attività mioelettrica associata alla contrazione muscolare. Sin dalle sue origini questa tecnica si è evoluta progressivamente, fino ad arrivare al metodo ad oggi utilizzato, ovvero l'elettromiografia di superficie ad alta intensità (HDsEMG).

Nel corso degli anni, lo studio dell'attività mioelettrica ha conosciuto un'evoluzione significativa grazie a due tipologie di tecniche: invasive (EMG intramuscolare, iEMG) e non-invasive (EMG di superficie, sEMG).

L'EMG intramuscolare (iEMG) è definita invasiva poiché prevede l'inserimento di elettrodi ad ago di diverse dimensioni all'interno del ventre muscolare, per registrare l'attività elettrica direttamente dalle fibre muscolari. Questa metodologia, in aggiunta ad essere invasiva, si caratterizza per essere altamente selettiva: attraverso l'inserimento dell'elettrodo ad ago all'interno del tessuto muscolare è in grado di registrare i singoli potenziali d'azione delle UM. Tuttavia, UM che possono essere registrate sono limitate al distretto muscolare in cui l'elettrodo è stato inserito.

L'invasività della tecnica iEMG può essere superata utilizzando l'elettromiografia di superficie (sEMG). Questa metodologia permette di registrare l'attività elettrica muscolare attraverso l'applicazione di elettrodi sulla superficie della pelle, al di sopra del muscolo di interesse. La configurazione bipolare, tuttavia, non è in grado di accedere direttamente al codice neurale proveniente dalle singole UM del muscolo, limitandosi alla registrazione globale dell'EMG.

I limiti di entrambe le tecniche sono stati in gran parte superati dall'introduzione dell'elettromiografia di superficie ad alta intensità (HDsEMG). Questa metodologia si basa sull'applicazione di matrici di elettrodi sulla superficie della cute in corrispondenza del muscolo, che permettono di aumentare il campionamento spaziale (numero di fonti) del segnale ricoprendo una più vasta regione muscolare. L'aumentato campionamento spaziale del segnale in aggiunta all'utilizzo di un processo matematico noto come *decomposizione*, permettono di superare il problema della selettività dell'iEMG e di studiare il contributo individuale di singole UM e di conseguenza di popolazioni rappresentative di UM alla produzione di forza durante un compito motorio (Figura 1).

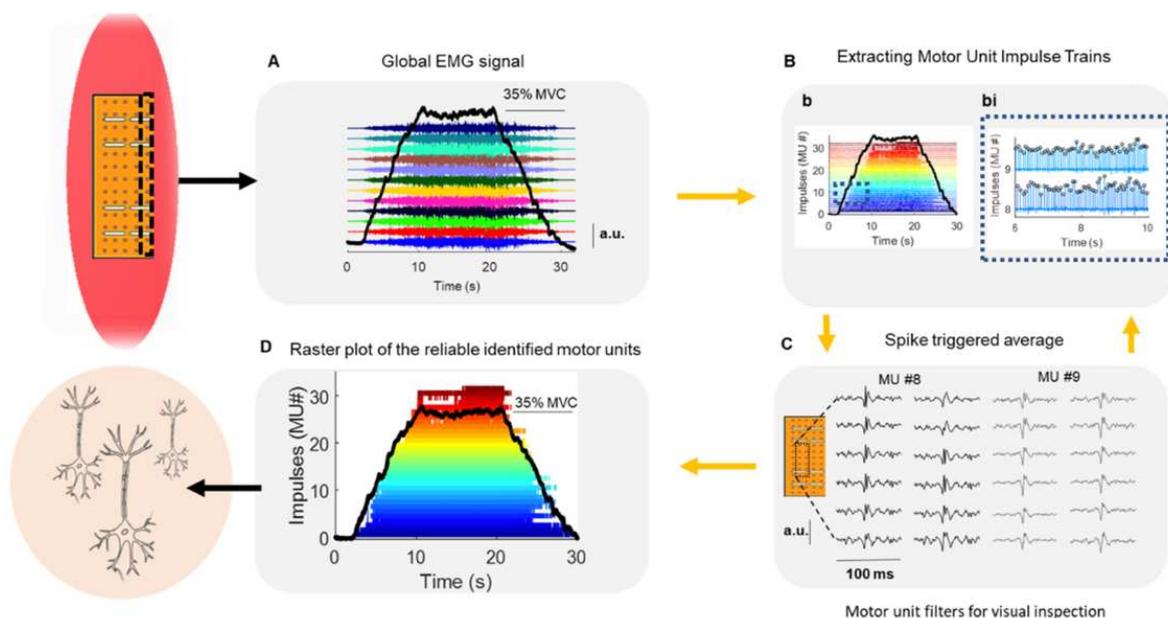


Figura 1. L'immagine rappresentativa mostra un esempio di utilizzo della tecnica HDsEMG. (A) Una matrice di 64 elettrodi è stata posizionata sul ventre muscolare del muscolo di interesse (vasto laterale) e ci ha permesso di registrare l'attività mioelettrica dal vasto laterale durante una contrazione isometrica trapezoidale submassimale (35% MVC). In Figura A, ogni riga di colore diverso

rappresenta il segnale HDsEMG registrato da un singolo canale (elettrodo). È possibile notare come l'ampiezza del segnale HDsEMG aumenti all'aumentare della forza prodotta. (B-C) in seguito, il segnale mioelettrico è stato decomposto mediante una procedura algebrica che ci ha permesso di identificare il contributo individuale relativo di ciascuna UM alla produzione di forza (D). In seguito alla decomposizione, ciascuna UM è stata ispezionata visualmente e corretta di eventuali errori. Dopodiché, sono state estratte le proprietà di ciascuna unità motoria, quali soglia di reclutamento e frequenza di scarica (nelle diverse fasi della contrazione) e paragonate tra giovani e anziani. Tratto da Del Vecchio et al. (2020).

1.4 CAMBIAMENTI FISIOLÓGICI LEGATI ALLE PROPRIETÀ NEUROMUSCOLARI CON L'INVECCHIAMENTO

A partire dal sesto decennio di vita si manifestano diversi cambiamenti fisiologici negli anziani che sembrano derivare da un rimodernamento nervoso che comporta il declino di alcuni motoneuroni. La perdita di forza, quindi, può quindi essere anche associata a disfunzioni del SNC, che regola la forza muscolare (Manini et al., 2013).

La perdita di motoneuroni impedisce la trasmissione del segnale nervoso alle cellule muscolari, rendendole maggiormente vulnerabili all'atrofia e alla perdita (Faulkner et al., 2007; Hepple & Rice, 2016; Piasecki et al., 2016). Tuttavia, molte fibre muscolari, prive di innervazione nervosa, ricevono una nuova innervazione proveniente da una ramificazione dell'assone di un motoneurone vicino. Questa nuova estensione nervosa emerge da una porzione dell'assone non ricoperto da guaina mielinica (sostanza che isola e protegge le fibre nervose). Questo processo, noto come *Sprouting* (Luff, 1998; Piasecki et al., 2016), ha lo scopo di ristabilire la connessione nervosa con la fibra muscolare e impedire che quest'ultima venga perduta (Figura 2). Quando la reinnervazione non riesce a compensare la denervazione, si verifica una eccessiva diminuzione di cellule del tessuto muscolare. Di conseguenza, nei muscoli anziani le UM sono meno numerose e più grandi in termini di dimensioni (un motoneurone attraverso la ramificazione del proprio assone raggiunge una maggiore quantità di fibre muscolari), fino ad un certo punto, quando le unità motorie diventeranno più piccole sia in numero che in dimensioni (la nuova innervazione nervosa non riesce a compensare la denervazione con conseguente perdita di fibre muscolari) (Piasecki et al., 2016).

Questo processo sembrerebbe essere una delle molteplici cause della sarcopenia (perdita di massa e rispettiva funzionalità muscolare), fenomeno inesorabile con il proseguirsi dell'età. Alla base di tale condizione vi è atrofia muscolare (riduzione del tessuto che avviene per eliminazione del materiale citoplasmatico delle singole cellule), dinapenia (perdita di forza muscolare) e scarsa condizione fisica (Jones et al., Piasecki, 2022).

A contrastare questa condizione fisiologica, l'esercizio fisico ha assunto sempre più importanza in quanto, tra i vari benefici che apporta alla salute, può migliorare la massa muscolare, la funzione e la salute metabolica stimolando la secrezione di miochine da parte del tessuto muscolare (Pedersen e Febbraio, 2008). Infatti, tra i vari benefici derivanti dalla secrezione di queste proteine muscolari vi

sono regolazione del metabolismo (miglioramento della sensibilità all'insulina e regolazione del glucosio) e aumento del tessuto muscolare (favoriscono la riparazione dei danni muscolari indotti dall'esercizio fisico, stimolando la crescita del tessuto e prevenendo la sarcopenia).

Alla luce delle alterazioni neurali descritte in precedenza, si intende esaminare come le proprietà delle UM descritte nei paragrafi precedenti si modifichino con l'avanzare dell'età.

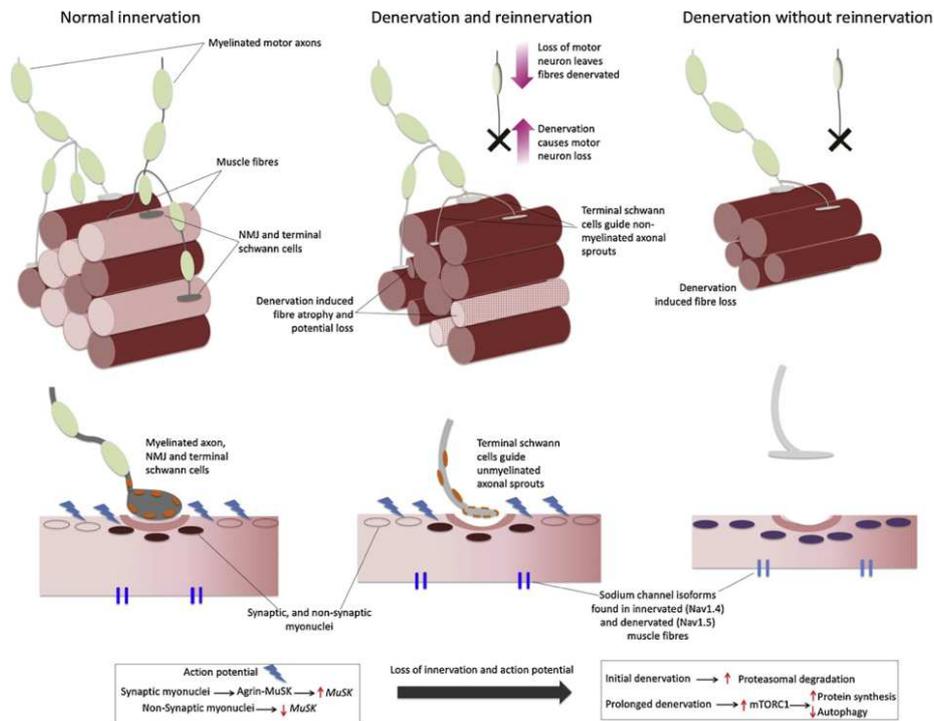


Figura 2. Con la normale trasmissione nervosa (immagine a sinistra), gli assoni mielinati comunicano normalmente con la fibra muscolare in corrispondenza della giunzione neuromuscolare. L'assone e tutte le fibre muscolari collegate ad esso fanno parte della stessa UM. Nell'immagine centrale è possibile notare il fenomeno della denervazione compensato dalla ramificazione assonale priva di mielina. Ramificazione permessa dalla porzione terminale delle cellule di Schwann. È possibile vedere come il rimodellamento si oppone alla perdita di fibre muscolari. Nell'ultima immagine, a destra, la nuova innervazione non è riuscita a compensare la denervazione e si ha come risultato la perdita di tessuto muscolare.

1.4.1 Cambiamenti nella soglia di reclutamento con l'invecchiamento

Una review realizzata da Tudorascu e collaboratori (2014), ha preso in esame numerosi articoli scientifici che trattavano le modificazioni della soglia di reclutamento con l'avanzare dell'età. La conclusione è stata che, contrariamente a quanto si possa pensare, il *Size Principle* è quasi completamente preservato negli anziani, senza significative differenze con i giovani adulti.

La correlazione tra la soglia di reclutamento e le dimensioni dell'UM sembrano essere mantenute attraverso due possibili meccanismi: la reinnervazione delle fibre a contrazione rapida da parte di motoneuroni di dimensioni medie o ridotte, oppure una diminuzione globale di tutti i motoneuroni, accompagnata da possibili modifiche morfologiche dell'unità motoria (Tudorascu et al., 2014).

Inoltre, attraverso un'indagine condotta sui cambiamenti nell'eccitabilità del riflesso di Hoffmann in relazione all'età e al tipo di contrazione, alcuni studi presi in esame nella review hanno suggerito che il modello di attivazione differisca tra giovani e anziani. Dai risultati ottenuti attraverso l'esecuzione di flessioni plantari isometriche, concentriche ed eccentriche, è emerso che gli anziani sembrerebbero adottare una strategia di attivazione muscolare sinergica, coinvolgendo più muscoli per eseguire un singolo movimento. I giovani, al contrario, mantengono strategie di attivazione simili indipendentemente dal tipo di contrazione (Tudorascu et al., 2014).

1.4.2 Cambiamenti nella frequenza di scarica con l'invecchiamento

Come sappiamo dalla letteratura, la frequenza di scarica può essere influenzata da numerosi fattori, tra cui il processo fisiologico di invecchiamento e l'allenamento contro-resistenza. Tuttavia, le ricerche scientifiche condotte sulla variazione della frequenza di scarica delle UM hanno generato risultati contrastanti, con alcuni studi che sono stati in grado di evidenziare differenze significative tra giovani ed anziani, mentre altri non hanno raggiunto livelli di significatività statistica.

Uno studio simile a quello su cui si basa questa tesi, condotto da Kamen e Knight (2004), ha esaminato la differenza nella frequenza di scarica delle UM del quadricipite tra giovani adulti e anziani, sia prima che dopo un programma di allenamento standardizzato di 6 settimane. I risultati hanno mostrato che, prima del percorso di allenamento, la frequenza di scarica fra i due gruppi mostrava differenze significative sia al 50% che al 100% di MVC. Al 50% di MVC i giovani mostravano una frequenza di scarica maggiore e pari a 17.8 impulsi al secondo, contro i 14.0 impulsi al secondo del gruppo di anziani. In seguito al programma di allenamento, i tassi di scarico delle UM mostravano differenze significative solo al 100% dello sforzo massimo, mentre le contrazioni eseguite al 50% MVC non presentavano differenze significative (Kamen e Knight, 2004). In accordo, altri studi hanno evidenziato che differenze significative nella frequenza di scarica delle UM si osservano solo quando il sistema nervoso è sottoposto a un'attivazione completa e massima (100%) (Kamen et al., 1995).

I ridotti valori di frequenza di scarica massima osservati negli anziani potrebbero essere dovuti a una riduzione dell'input sinaptico (sia discendente che di feedback afferente) ricevuto dai motoneuroni e alla loro capacità di integrare questo input sinaptico e di trasmetterlo al muscolo attraverso la modulazione della frequenza di scarica. Inoltre, il minor numero e la minore proporzione di motoneuroni a soglia alta caratteristici dell'invecchiamento possono limitare collettivamente la frequenza di scarica delle UM durante contrazioni ad alta intensità, più che a bassa intensità (Orssatto et al., 2022).

Uno studio scientifico condotto da Roos et. al (1999) non ha rilevato differenze significative tra giovani adulti e anziani nella frequenza di scarica delle UM. Dall'articolo è emerso che, in seguito a

contrazioni isometriche eseguite a diverse percentuali di MVC e misurate attraverso iEMG, la frequenza di scarica dei giovani era pari a 26.4 ± 7.6 Hz, mentre quella degli anziani era pari a 25.5 ± 7.2 Hz (Roos et al., 1999).

Da quanti studi emerge che gli effetti dell'allenamento contro-resistenza e dell'invecchiamento non sono ad oggi del tutto chiari e le differenti metodologie impiegate per analizzare le UM e i diversi campioni presi in esame rendono difficile una diretta comparazione degli studi.

La maggior parte degli studi sopra citati sono stati condotti attraverso iEMG, includendo i limiti della tecnica descritta nel precedente paragrafo. Pertanto, questo studio si propone di studiare le proprietà delle UM utilizzando l'HDsEMG al fine di valutare eventuali differenze tra le popolazioni prese in esame e determinare se vi sia una effettiva riduzione della frequenza di scarica delle UM.

1.5 SCOPO DELLO STUDIO

Date queste importanti premesse, lo scopo del mio progetto di tesi è quello di studiare le differenze nei meccanismi neurali che regolano la produzione e il controllo della forza tra giovani adulti e anziani. Nello specifico, grazie all'utilizzo dell'HDsEMG, è stato possibile studiare il comportamento e le proprietà di popolazioni rappresentative di UM identificate dal muscolo vasto laterale durante contrazioni submassimali, e di paragonarle tra le due popolazioni.

2. MATERIALI E METODI

2.1 PARTECIPANTI E RECLUTAMENTO

I partecipanti che hanno preso parte allo studio (20 in tutto, di cui 13 giovani (Y) e 7 anziani (O)) sono stati reclutati attraverso attività di volantinaggio, annunci sui social media oppure tramite conoscenze personali. Essi sono stati dapprima inviati a completare un questionario conoscitivo (durante la seduta di *screening*) con lo scopo di valutare la loro idoneità all'esperimento. I dati rilevanti per lo studio scientifico e richiesti nel questionario erano (Tabella 1): età, statura, massa corporea, attività fisiche praticate in quel momento o praticate in passato (incluso l'allenamento contro resistenza), condizioni mediche (es., patologie esistenti, interventi farmacologici) o interventi chirurgici pregressi. Condizioni necessarie per l'inclusione nello studio erano le seguenti: 1) essere inattivi fisicamente (no pratica di sport regolare o storia di allenamento con i pesi), 2) non avere alcuna condizione medica o fisica che potesse impedire la pratica di attività fisica contro resistenza e 3) avere un BMI compreso tra 18 e 30. Inoltre, il gruppo dei giovani doveva rientrare nel range di età 18-35, mentre gli anziani dovevano essere over 65.

	Y	O
STATURA (m)	1,77 ± 0,04	1,77 ± 0,06
MASSA (kg)	69,26 ± 7,66	83,37 ± 16,25
BMI (kg/m²)	22,23 ± 2,89	26,17 ± 3,93
% GRASSO	21,80 ± 3,65	30,30 ± 6,18
MASSA MAGRA (kg)	51,42 ± 4,05	53,56 ± 6,52
% GRASSO GD	22,92 ± 4,04	27,09 ± 5,82
MASSA MAGRA (kg) GD	9,19 ± 0,83	9,24 ± 1,14

Tabella 1. Nella tabella vengono riportate le caratteristiche antropometriche dei partecipanti alla prima visita (BMI: body mass index, GD: gamba destra, Y: young, O: old). I dati sono presentati come media ± deviazione standard.

2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Il protocollo sperimentale prevedeva una prima seduta di familiarizzazione (visita 1) ed un successivo test di valutazione neuromuscolare pre-intervento (visita 2 – T0) eseguito circa due-tre giorni dopo la visita 1. Gli stessi partecipanti hanno poi preso parte ad un altro studio che prevedeva lo svolgimento

di un protocollo di allenamento contro resistenza per 8 settimane, con il fine di comparare gli adattamenti neurali in queste due popolazioni. Tuttavia, ai fini di questa tesi verranno presentati e analizzati soltanto i dati del baseline (T0), e nello specifico verranno confrontate con un disegno cross-sectional (trasversale) le proprietà delle UM tra Y e O. Qui di seguito, verranno descritte brevemente le principali procedure e protocolli sperimentali che ci hanno permesso di rispondere alla nostra domanda di ricerca.

La visita 1 aveva come scopo introdurre i partecipanti all'ambiente sperimentale del test neuromuscolare. Durante questa sessione sono state eseguite dai partecipanti delle contrazioni isometriche massimali (massima contrazione volontaria, MVC) e sub-massimali. Nel corso della stessa seduta è stato possibile definire la precisa configurazione del dinamometro isometrico sul quale sono stati effettuati i successivi test neuromuscolari. La Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DEXA) ha inoltre permesso una valutazione della composizione corporea dei partecipanti.

Al termine della prima seduta è stato somministrato ad ogni partecipante il questionario GPAQ (*Global Physical Activity Questionnaire*) al fine di quantificare i livelli abituali di attività fisica.

Durante la visita 2 (T0) è stata valutata l'attività neuromuscolare del muscolo vasto laterale del quadricipite femorale dell'arto dominante di ciascun partecipante durante delle contrazioni isometriche submassimali "trapezoidali" grazie alla HDsEMG.

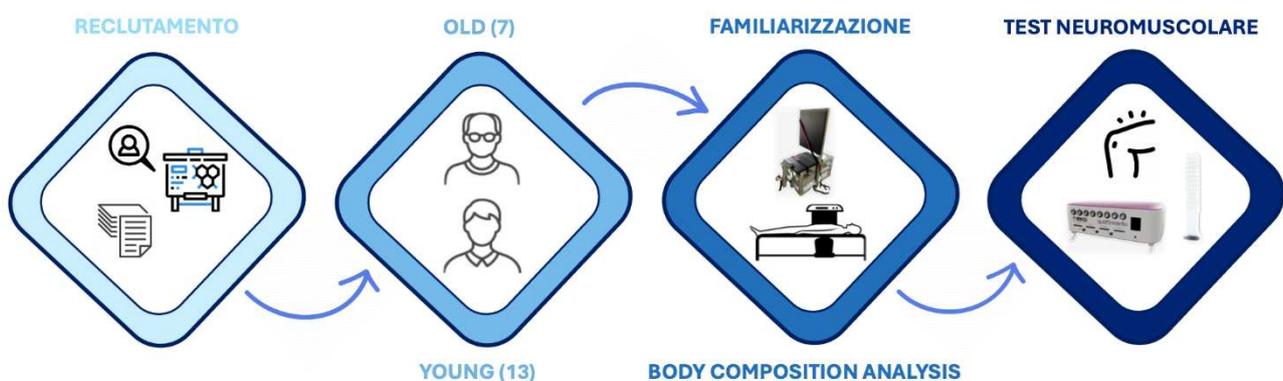


Figura 3. Overview del disegno sperimentale.

2.3 TEST DI VALUTAZIONE NEUROMUSCOLARE

Il *set-up* sperimentale definito durante la visita di familiarizzazione è stato replicato in tutte le sedute di valutazione neuromuscolare successive. Il dinamometro isometrico, su cui i partecipanti erano seduti, si compone di uno schienale rigido su cui i partecipanti dovevano appoggiare il tronco, con un'angolazione dell'anca compresa fra i 90 e i 100° (Figura 4). L'arto dominante, coinvolto nelle successive contrazioni isometriche volontarie, era posizionato a un grado di estensione di circa 110° e appoggiato su un tutore regolabile collegato in serie con una cella di carico. I partecipanti sono stati

fissati al dinamometro tramite strap a velcro posizionati intorno a caviglia, coscia, anche e spalle. Sono stati infine applicati al vasto laterale gli elettrodi HDsEMG, responsabili della registrazione dell'attività mioelettrica.

Il protocollo è successivamente proseguito nella valutazione della MVC in seguito a un riscaldamento standardizzato. Quest'ultimo è caratterizzato da 7 contrazioni muscolari isometriche sub-massimali eseguite al 50%, 75% e 90% della massima forza percepita dal partecipante. Terminato il riscaldamento, al partecipante è stato chiesto di eseguire 3-5 MVC isometriche, seguendo istruzioni specifiche che consistevano nell'esprimere la massima forza entro un secondo e di mantenerla per almeno tre-cinque secondi. Il massimo valore di forza registrato (MVC), è stato selezionato per determinare l'intensità delle successive rampe trapezoidali sub-massimali. In particolare, i partecipanti hanno eseguito rampe al 15%, 35%, 50%, 70% dell'MVC.

Ciascuna rampa è stata caratterizzata da una fase ascendente (incremento della forza fino al raggiungimento del *target* specifico), da una fase di *steady state* della durata di 10 secondi (mantenimento costante della forza raggiunta), e da una fase discendente con lo scopo di tornare ai livelli di forza di baseline. I partecipanti hanno eseguito 2 prove per ciascuna rampa, intervallate da un tempo di recupero di circa 2/3 minuti. La velocità di incremento della forza di contrazione è stata mantenuta costante al $5\% \text{ MVC} \cdot \text{s}^{-1}$). Le rampe sono state eseguite in forma randomizzata allo scopo di limitare quanto più possibile l'insorgenza della fatica neuromuscolare sulla performance.



Figura 4. Dinamometro isometrico utilizzato durante la valutazione neuromuscolare, atto a misurare la forza volontaria massima e submassimale isometrica attraverso l'estensione del ginocchio.

2.4 REGISTRAZIONE E ANALISI DEL SEGNALE DI FORZA E HDsEMG

Il segnale di forza acquisito tramite la cella di carico è stato amplificato, campionato a 2048 Hz e convertito in digitale mediante un amplificatore multicanale (EMG-Quattrocento, OT Bioelettronica). Lo stesso dispositivo è stato utilizzato per sincronizzare il segnale di forza con quello HDsEMG. Il software OTBiolab+ è stato impiegato per registrare i segnali (forza e HDsEMG) e offrire un *feedback* visivo ai partecipanti.

Il segnale di forza è stato successivamente elaborato offline tramite MatLab, convertendo il segnale da mV a N e rimuovendo l'offset. In seguito il segnale è stato filtrato tramite un filtro passa-basso di quarto ordine a 15 Hz. Entrambe le contrazioni a rampa per ciascun livello di intensità (15, 35, 50, 70% MVC) sono state analizzate per confrontare il comportamento e le proprietà delle unità motorie tra Y e O.

L'attività HDsEMG durante le contrazioni muscolari è stata registrata utilizzando una matrice di 64 elettrodi (5 colonne x 13 righe), posizionata sulla superficie della pelle in corrispondenza del ventre muscolare del vasto laterale. La precisa applicazione della matrice è stata facilitata dall'utilizzo di ecografia muscolare, la quale ha consentito di identificare il profilo del ventre muscolare e di stimare orientamento anatomico dei fascicoli muscolari.

Il posizionamento della matrice è stato preceduto da depilazione, *scrub* esfoliante e pulizia con alcool della cute. La matrice è stata quindi applicata sulla cute con foam biadesivi monouso riempiti di pasta conduttiva. Il riferimento della matrice è stato posizionato a livello della rotula dell'arto testato, mentre il riferimento del partecipante è stato posizionato sulla tuberosità tibiale.

Durante le prove sub-massimali, il segnale elettromiografico è stato amplificato (x150) e campionato a 2048 Hz tramite lo stesso amplificatore multicanale utilizzato per la registrazione del segnale di forza. Il segnale HDsEMG è stato registrato in configurazione monopolare, è stato filtrato tramite un filtro Butterworth di secondo ordine (20-500 Hz) e decomposto tramite un algoritmo validato (DEMUSE). Questo processo ha permesso di decomporre il segnale elettromiografico in singoli treni di spari delle unità motorie attivate volontariamente, consentendo un'identificazione accurata e ripetibile del contributo individuale delle diverse fonti (Holobar A. & Zazula D., 2007; Holobar A., Minetto & Farina, 2014). Una volta decomposto il segnale HDsEMG è stata svolta una sistematica ispezione visuale dei risultati (vedere paragrafo 1.4).

Sono quindi state estratte le proprietà delle unità motorie per ciascuna rampa e per ciascun partecipante. In particolare, sono state calcolate le seguenti variabili: la soglia di reclutamento (MU RT), corrispondente al valore di forza in termini assoluti o normalizzati (% MVC) a cui l'unità motoria è stata attivata; la soglia di dereclutamento (MU DRT), corrispondente a al valore di forza in

termini assoluti o normalizzati (% MVC) a cui l'unità motoria è stata disattivata; la frequenza di scarica durante la fase di reclutamento, steady state (SS, o plateau), dereclutamento (Recr MU DR, SS MU DR, Decr MU DR) e la frequenza media di tutta la rampa (MU DR medio).

3.4 PROCESSING E ANALISI DEL SEGNALE HDsEMG

Il processo di decomposizione del segnale HDsEMG ha permesso di identificare le singole UM reclutate dai partecipanti durante ciascuna contrazione volontaria. Il processo di analisi delle proprietà delle unità motorie è stato a sua volta preceduto dalla singola ispezione visuale di ognuna di esse. Questo processo è stato fondamentale per determinare l'accuratezza nell'identificazione semi-automatica delle unità motorie e ha consentito di analizzare i risultati della decomposizione ed eventualmente eliminare le unità motorie che si presentavano in duplice copia o con comportamento non fisiologico. La procedura intrapresa è stata eseguita scrupolosamente seguendo le linee guida precedentemente pubblicate (Del Vecchio et al., 2020).

L'applicazione che ci ha permesso di eseguire questa procedura è il software DEMUSE, implementato in Matlab. Il metodo utilizzato prevedeva di individuare visualmente gli spari considerati "non corretti" per ciascuna unità motoria identificata e di correggerli o eliminarli. Come metrica di accuratezza è stato utilizzato il PNR (*pulse to noise ratio*). Consiste in un indice che comunica il grado di accuratezza dell'unità motoria ispezionata, in relazione agli spari selezionati. Di conseguenza, maggiore sarà il PNR di una unità motoria, maggiore sarà il suo grado di accuratezza. Sono state incluse nell'analisi dello studio solamente le unità motorie con $PNR > 25$. Le immagini sottostanti facilitano la comprensione del lavoro svolto (Figura 5).

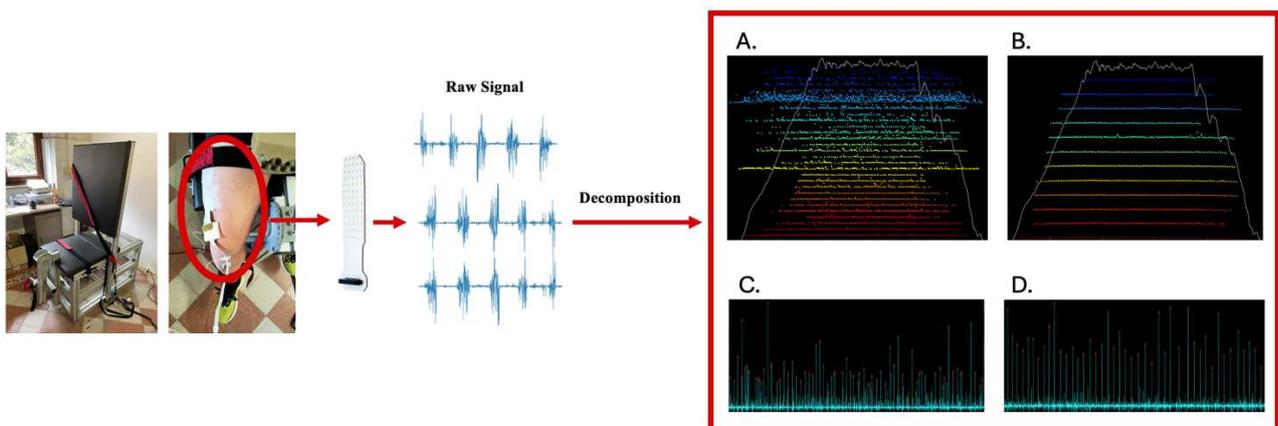


Figura 5. Nell'immagine viene rappresentato il processo attraverso cui è stato possibile identificare le singole UM reclutate dai partecipanti, mediante la metodologia proposta da Del Vecchio et. Al (2020). In seguito all'applicazione della matrice è stato possibile ricavare il segnale nervoso grezzo, il cui processo di decomposizione si articola in quattro fasi: nel riquadro A viene proposto un file HDsEMG decomposto ma non analizzato. Ogni colore rappresenta una unità motoria codificata dall'algorithm. Attraverso i metodi elencati precedentemente, il file è stato ispezionato visivamente ed è stato analizzato, eliminando gli spari non appartenenti all'unità motoria (immagine B). L'immagine C fa riferimento alla figura A precedente, dove si possono apprezzare spari dell'unità motoria non ispezionati. Si può notare l'irregolarità

degli spari, a cui è associata un basso valore del PNR. Nell'ultima immagine (D) viene proposta la stessa unità motoria dell'immagine precedente, ma questa volta gli spari sono stati selezionati correttamente seguendo le linee guida proposte da Del Vecchio et al., (2020).

3.5 VARIABILI ANALIZZATE

Nel presente studio sono state utilizzate diverse variabili al fine di valutare le differenze nelle proprietà delle UM tra il gruppo di giovani e quello di anziani.

Allo scopo di valutare le differenze nella frequenza di scarica è stata mediata la frequenza di scarica di ogni partecipante durante l'intera rampa submassimale (DR MED ALL), nella fase ascendente della rampa, corrispondente alla fase di reclutamento della forza (DR MED REC), nella fase di mantenimento della forza (DR MED SS) e nella fase discendente della rampa, corrispondente alla fase di dereclutamento della forza (DR MED DEREC). Questa media è stata calcolata considerando le contrazioni eseguite a tutte le intensità di MVC (15%, 35%, 50%, 70%). Invece, in riferimento a ogni singola percentuale di MVC, è stata analizzata la frequenza di scarica espressa durante l'intero andamento della rampa (DR ALL).

Al fine di evidenziare le differenze nella soglia di reclutamento e dereclutamento delle UM, sono state mediate la soglia di reclutamento assoluta (SR MED ASS, corrispondente al valore di forza in termini assoluti in cui è stata reclutata l'unità motoria) e relativa (SR MED REL, corrispondente al valore forza (% MVC) in cui viene reclutata l'unità motoria), così come la soglia di dereclutamento assoluta (SR MED DEREC ASS, corrispondente al valore di forza in termini assoluti in cui è stata dereclutata l'unità motoria) e relativa (SR MED DEREC REL, corrispondente al valore forza (% MVC) in cui viene dereclutata l'unità motoria) di ogni partecipante, considerando tutte le intensità (15%, 35%, 50%, 70%).

3.6 ANALISI STATISTICA

Il test Shapiro-Wilk è stato utilizzato per verificare la normalità della distribuzione dei dati per tutte le variabili analizzate. I valori delle proprietà delle UM estratte per le due prove sono stati mediati in modo tale da aver un unico valore medio per ciascun partecipante e per ciascun livello di forza. Al fine di studiare le differenze tra MVC, frequenza di scarica e soglie di reclutamento e dereclutamento tra i gruppi Y e O, è stato utilizzato un t-test di Student indipendente per coppie non appaiate. L'analisi statistica è stata svolta usando il software GraphPad Prism Ver 10.2.3 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Il livello di significatività è stato impostato a $P < 0,05$.

3. RISULTATI

3.1 DIFFERENZE NELLO SVILUPPO DELLA FORZA

La massima forza isometrica, espressa in Newton (N), ha evidenziato differenze significative tra il gruppo di giovani e quello degli anziani ($P = 0.006$). In particolare, il gruppo dei giovani mostra livelli di forza superiore del 29.34% rispetto al gruppo degli anziani (Figura 6).

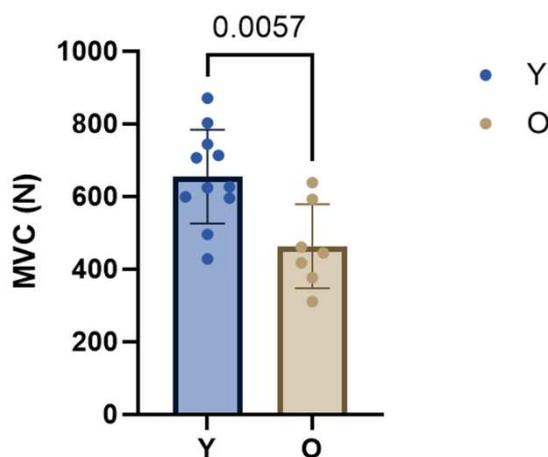


Figura 6. Differenze nell'espressione della massima forza volontaria (MVC) tra il gruppo di giovani e quello di anziani durante il test di valutazione neuromuscolare (T0).

3.2 DECOMPOSIZIONE DEL SEGNALE HDsEMG

Nello studio condotto, il numero totale di UM identificate dal muscolo vasto laterale, prendendo in considerazione tutte le prove ai diversi livelli di forza per ciascun gruppo, è stato di 1202 (O, $n = 496$; Y, $n = 706$). Per ciascun partecipante è stata riscontrata una media di 16.69 ± 6.74 UM identificate. La distribuzione del numero di UM nelle diverse intensità è apprezzabile in Figura 7.

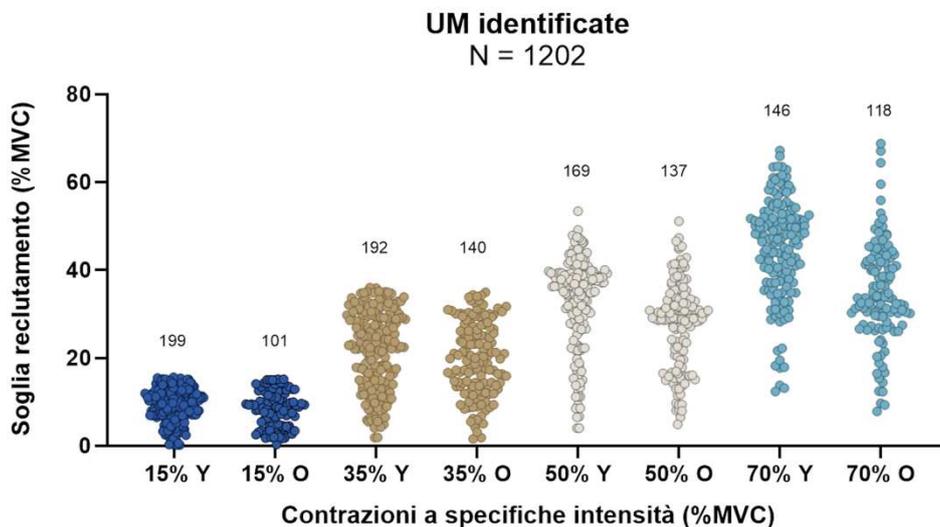


Figura 7. Numero totale di UM identificate per entrambi i gruppi (Young e Old), distribuite in relazione all'intensità di contrazione muscolare (in blu 15%, in marrone 35%, in bianco 50% e in azzurro 70%) e in funzione della rispettiva soglia di reclutamento (asse delle ordinate).

3.3 DIFFERENZE TRA GIOVANI E ANZIANI NELLA FREQUENZA DI SCARICA DELLE UM

Mediando le rampe eseguite a diverse percentuali di MVC (15%, 35%, 50%, 70%) e le differenti fasi della rampa stessa (DR MED ALL) è emerso che la frequenza di scarica media dei soggetti anziani è inferiore del 14.29% ($P = 0.015$) rispetto a quella dei soggetti giovani.

Osservando il contributo di ciascuna fase della rampa, il t-test di Student ha rilevato una DR MED REC, DR MED SS e DR MED DEREK più bassa nel gruppo O rispetto al gruppo Y del 16.12% ($P = 0.0148$), del 14.47% ($P = 0.0199$), del 15.95% ($P = 0.0119$), rispettivamente.

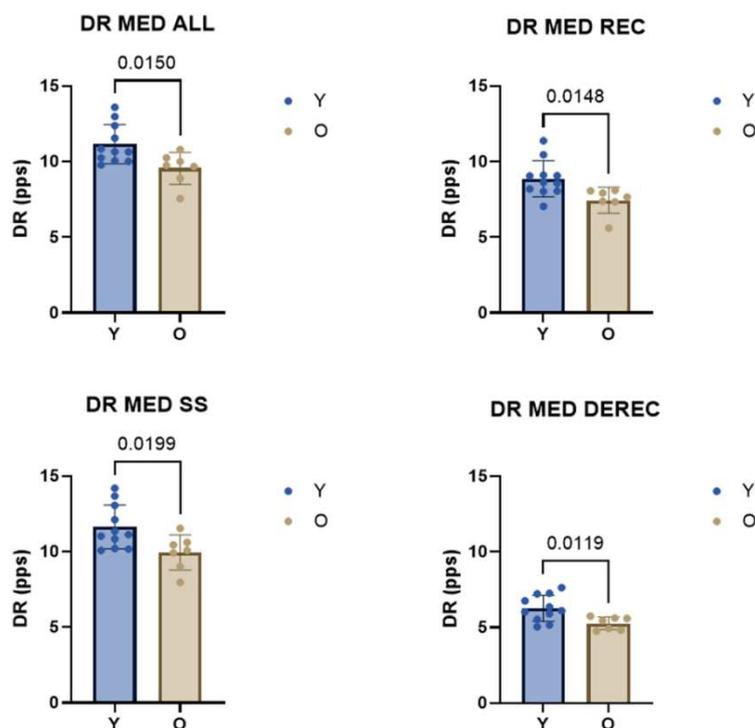


Figura 8. Nell'immagine viene mostrata la differenza nella frequenza di scarica media tra il gruppo giovani (Y) e il gruppo anziani (O), prendendo in considerazione tutte contrazioni muscolari eseguite alle diverse intensità.

In particolare, tutte le frequenze di scarica medie prese in analisi riportano differenze significative tra i due gruppi: DR MED ALL ($P = 0.0150$), DR MED REC ($P = 0.0148$), DR MED SS ($P = 0.0199$) e DR MED DEREK ($P = 0.0119$). Gli anziani hanno manifestato riduzioni nella frequenza di scarica pari al 14.29% (DR MED ALL), 16.12% (DR MED REC), 14.14% (DR MED SS) e 15.95% (DR MED DEREK).

3.3.1 Differenze nella frequenza di scarica nelle diverse intensità (% MVC)

Analizzando la frequenza di scarica di tutta la rampa rilevata nei due gruppi per ciascuna intensità (15%, 35%, 50%, 70% MVC), il t - test di Student ha mostrato differenze significative tra Y e O nel DR ALL nelle rampe al 35% ($P < 0.009$) e al 50% di MVC ($P = 0.016$) (Figura 9), mentre al 70% MVC vi è una forte tendenza alla significatività ($P = 0,050$). In riferimento alle rispettive intensità, gli anziani hanno manifestato una frequenza di scarica più bassa del 16.52% (35% MVC), del 17.36% (50% MVC) e del 14.47% (70% MVC).

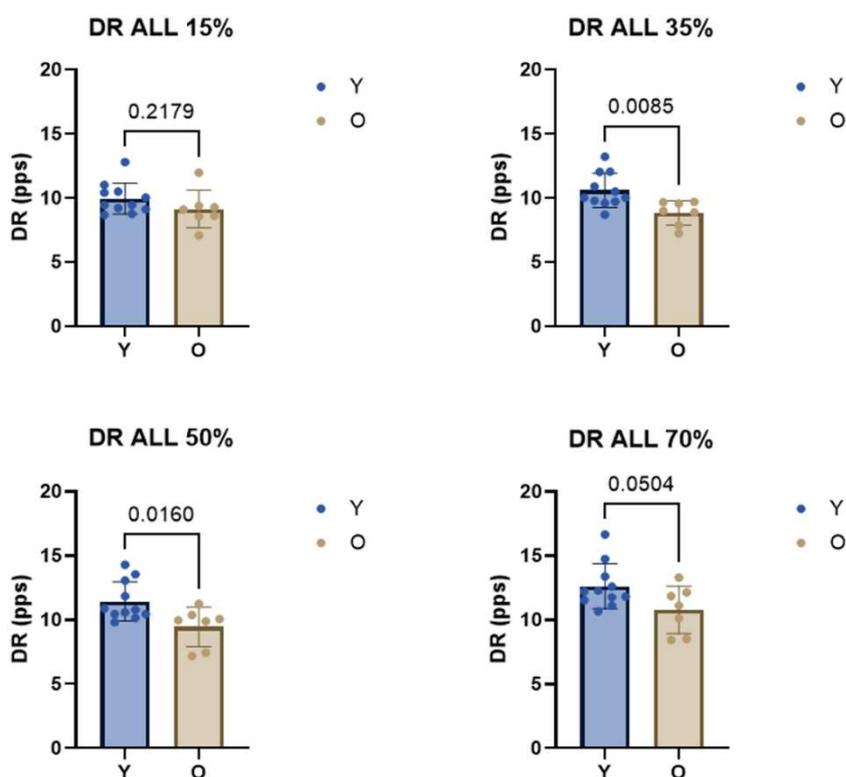


Figura 9. Nell'immagine proposta la differenza nella frequenza di scarica rilevata per ciascuna intensità, tra il gruppo di giovani e quello di anziani. Si nota che nella contrazione muscolare eseguita al 70% di MVC la differenza tra i due gruppi tende alla significatività statistica ($P < 0.0504$), malgrado questa non venga raggiunta.

3.4 DIFFERENZE TRA GIOVANI E ANZIANI NELLA SOGLIA DI RECLUTAMENTO E DERECLUTAMENTO DELLE UM

Considerando la SR assoluta (MED), sono state riscontrate differenze significative tra i due gruppi ($P = 0.006$). In particolare, gli anziani hanno mostrato SR assoluta (MED) inferiore del 29.95% rispetto ai giovani.

Il t-test di Student ha rilevato una differenza significativa per la SR relativa (MED) ($P = 0.012$). In particolare, gli anziani hanno mostrato un'augmentata la soglia di reclutamento media relativa del

26.00% rispetto ai giovani. Allo stesso modo, la SR assoluta DEREK (MED) è più bassa del 25.92% rispetto ai giovani ($P = 0.018$).

La SR relativa DEREK (MED), invece, non ha riportato mostra significative differenze tra i due gruppi.

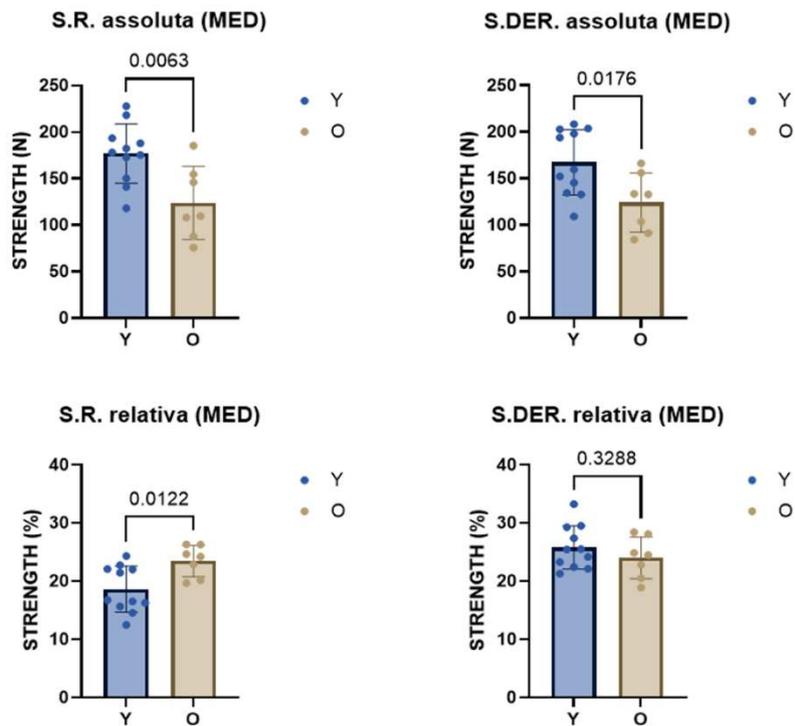


Figura 12. L'immagine riporta graficamente le differenze nella soglia di reclutamento media assoluta e relativa (a sinistra) e nella soglia di dereclutamento media assoluta e relativa (a destra).

4. DISCUSSIONE

I risultati del presente studio forniscono spunti di riflessione riguardo le differenze nelle proprietà motorie tra individui giovani e anziani. La discussione che segue ha l'obiettivo di interpretare i risultati ottenuti alla luce della letteratura scientifica esistente, fornendo spiegazioni relative ai risultati ottenuti e confrontandoli con studi precedenti. Verranno approfondite le possibili cause fisiologiche e neurofisiologiche sulla base delle osservazioni proposte nei precedenti paragrafi. Infine, verranno analizzati punti di forza dello studio e le potenziali limitazioni di esso.

4.1 PRINCIPALI RISULTATI

Dai risultati ottenuti, è possibile affermare che gli anziani producono una forza volontaria degli estensori di ginocchio minore rispetto ai giovani del 29.34%. Similmente, la frequenza di scarica risulta inferiore nei partecipanti anziani considerando la media di tutte le rampe e le singole intensità di MVC.

Per quanto riguarda la soglia di reclutamento e dereclutamento assoluta, è emerso che il gruppo degli anziani mostra valori inferiori rispetto ai giovani, con differenze significative osservate tra i due gruppi. In riferimento alla soglia di reclutamento relativa, è emerso che questa è maggiore negli anziani rispetto ai giovani.

Questo risultato è atteso, considerando che l'MVC è generalmente superiore nei soggetti giovani. Anche il valore di soglia di reclutamento assoluta risulta maggiore nei giovani rispetto agli anziani. La soglia di reclutamento relativa si ottiene dal rapporto tra SR ASS e MVC. Dato il maggiore valore dell'MVC nei giovani rispetto agli anziani, è facile ipotizzare che quest'ultimi presentino un valore della SR REL maggiore.

4.2 EFFETTI DELL'INVECCHIAMENTO SULLA COMPONENTE NEURALE SOTTOSTANTE ALLA PRODUZIONE DI FORZA

La diminuzione della frequenza di scarica espressa dai soggetti anziani durante le contrazioni submassimali a diverse intensità può essere riconducibile a diversi fattori fisiologici legati all'invecchiamento. A partire dal sesto decennio di vita, inizia a insorgere una serie di meccanismi degenerativi, tra cui il processo di *sprouting* (Luff, 1998; Piasecki et al., 2016) descritto nel capitolo introduttivo. A tal proposito, questo processo comporta una riorganizzazione delle unità motorie, dove i motoneuroni a bassa soglia superstiti innervano nuovamente le fibre muscolari di tipo II private

del segnale nervoso (Hepple & Rice, 2015). Tuttavia, la nuova innervazione nervosa è responsabile della riduzione del tasso di scarica delle UM, poiché il motoneurone a bassa soglia manifesterà potenziali d'azione più lenti (Orssatto et al., 2022). Inoltre, è possibile che i motoneuroni ricevano un input sinaptico ridotto e rispondano più lentamente nell'integrare questo input e nel trasmetterlo ai muscoli, modulando la frequenza di scarica (Opie et al., 2020).

Contrariamente ad alcuni studi presenti in letteratura (Kamen e Knight, 2004; Kamen et al., 1995), i quali avevano riportato differenze significative nella frequenza di scarica solamente durante contrazioni muscolari superiori al 50% di MVC, in questo studio si sono osservate differenze anche a contrazioni inferiori (35% di MVC). Inoltre, al 70% dell'MVC, abbiamo riscontrato un'alta tendenza alla significatività che mostra come anche le unità motorie ad alta soglia di reclutamento degli anziani abbiano una DR inferiore durante l'esecuzione isometrica di rampe trapezoidali. Ipotizzando che allargando anche il gruppo degli anziani, le differenze possano essere confermate. Sebbene in questo studio non siamo andati a studiare la DR al 100% dell'MVC, Kamen & Knight nel 2004 hanno evidenziato comunque una DR inferiore negli individui anziani. Tuttavia, i ricercatori hanno impiegato l'utilizzo dell' iEMG e, per tale ragione, futuri studi condotti con l'HDsEMG dovranno confermare i risultati prendendo in considerazione una popolazione di UM più numerosa.

Tra le altre ipotesi alla ridotta forza espressa degli anziani, vi è il processo di denervazione muscolare riconducibile alla perdita del numero di neuroni con l'invecchiamento. Alcune fibre muscolari, perdendo la propria innervazione, non saranno in grado di contribuire alla espressione di forza (Aare et al., 2016). Oltre a questo, come è già stato detto nei paragrafi precedenti, la denervazione muscolare non colmata dalla riorganizzazione degli assoni può causare la perdita di fibre muscolari, contribuendo al processo fisiologico di sarcopenia. Tuttavia, con questo studio non siamo in grado di determinare se i fattori legati a una ridotta forza sia riconducibile a un ridotto numero di UM presenti o ad un ridotto numero di fibre muscolari, ma ipotizziamo che tra i fattori che portino a una ridotta forza espressa, la ridotta frequenza di scarica possa contribuire.

La soglia di reclutamento assoluta, come descritto nel paragrafo 3.5, indica il valore di forza necessario per attivare una specifica unità motoria. Nello studio, sono state mediate le unità motorie di ogni partecipante di ciascuno dei due gruppi per stabilire a quale livello di forza (misurato in Newton) venivano reclutate. Maggiore è la forza necessaria per attivare queste unità motorie, più alto sarà il valore medio di reclutamento.

Ci si aspetta che i giovani abbiano una soglia di reclutamento assoluta più elevata rispetto agli anziani, poiché hanno una forza assoluta maggiore. Questo significa che, esprimendo una forza maggiore in Newton, i giovani attivano le unità motorie anche a livelli di forza più alti.

Per questo motivo la SR REL (MED) negli anziani ha un valore maggiore nei giovani, poiché rappresenta il rapporto tra SR ASS (MED) e MVC. Quindi, a parità di intensità, le UM reclutate dagli anziani saranno maggiori rispetto a quelle reclutate dai giovani.

4.3 PUNTI DI FORZA DELLO STUDIO

Il principale punto di forza dello studio è stato l'utilizzo dell'elettromiografia di superficie ad alta intensità (HDsEMG), una tecnica avanzata che ha consentito di registrare con precisione e dettaglio l'attività delle singole unità motorie in modo non invasivo. Questo approccio ha rappresentato un significativo miglioramento rispetto ai metodi convenzionali come l'elettromiografia intramuscolare (iEMG) e l'elettromiografia di superficie standard (sEMG), permettendo di esplorare le dinamiche muscolari con una sensibilità e una risoluzione maggiori. Grazie all'HDsEMG, è stato possibile ottenere dati più affidabili e completi sull'attività neuromuscolare durante le contrazioni muscolari, garantendo al contempo un elevato comfort ai partecipanti dello studio. Al meglio delle nostre conoscenze, nessuno studio ha finora comparato direttamente le proprietà neurali di giovani adulti e anziani con l'HDsEMG durante rampe submassimali sul vasto laterale. Pertanto, il nostro studio apporta un contributo innovativo alla letteratura scientifica, sebbene ulteriori studi siano necessari per confermare i risultati oltre a indagare i meccanismi neurali sottostanti alla produzione di forza volontaria negli anziani.

4.4 LIMITI DELLO STUDIO

Nonostante gli aspetti positivi che hanno permesso di conoscere più dettagliatamente il comportamento delle UM con l'avanzare dell'età, va riconosciuto che questo studio presenta anche alcune limitazioni. In particolare, il campione di partecipanti studiato fino ad ora: nel mio progetto di tesi sono stati inclusi 13 giovani e 7 anziani. Questo fattore ha limitato l'analisi dello studio a un gruppo ridotto di anziani, potenzialmente influenzando la rappresentatività della media campionaria rispetto alla popolazione generale degli anziani. Va sottolineato che questa tesi si fonda su un *subset* di dati e non costituisce lo studio completo: il reclutamento dei soggetti anziani è in aumento e dai risultati finali si potranno riscontrare risultati più attendibili.

Un'ulteriore limitazione rilevante è l'assenza di partecipanti di genere femminile nello studio. Pertanto, i risultati sono da intendersi generalizzabili per la popolazione maschile. Al fine di ottenere una comprensione più completa e accurata delle dinamiche neuromuscolari, è essenziale che studi futuri includano anche partecipanti di genere femminile, al fine di esaminare eventuali differenze riscontrate rispetto ai risultati ottenuti fino ad ora.

5. CONCLUSIONE

Lo studio ha dimostrato che, utilizzando la HDsEMG, giovani e anziani presentano differenze significative in diversi parametri neuromuscolari. In particolare, sono state osservate differenze significative nella MVC, nella frequenza di scarica delle UM, così come nelle soglie di reclutamento e dereclutamento. Questi risultati suggeriscono che l'invecchiamento (e le modificazioni neurali ad esso conseguenti) influisce in modo significativo sulla capacità neuromuscolare, con i giovani che mostrano capacità superiori in termini di forza massima e controllo delle UM rispetto agli anziani.

BIBLIOGRAFIA

Aare, S., Spendiff, S., Vuda, M., Elkrief, D., Perez, A., Wu, Q., Mayaki, D., Hussain, S. N. A., Hettwer, S., & Hepple, R. T. (2016). Failed reinnervation in aging skeletal muscle. *Skeletal Muscle*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/s13395-016-0101-y>

Adrian, E. D., & Bronk, D. W. (1928). THE DISCHARGE OF IMPULSES IN MOTOR NERVE FIBRES. Part I. Impulses in single fibres of the phrenic nerve. In *The Journal of Physiology* (Vol. 66, Issue 1, pp. 81–101). <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1928.sp002509>

Connelly, D. M., Rice, C. L., Roos, M. R., & Vandervoort, A. A. (1999). Motor unit firing rates and contractile properties in tibialis anterior of young and old men. *Journal of Applied Physiology*, 87(2), 843–852. <https://doi.org/10.1152/jappl.1999.87.2.843>

Del Vecchio, A., Holobar, A., Falla, D., Felici, F., Enoka, R., & Farina, D. (2020). Tutorial: Analysis of motor unit discharge characteristics from high-density surface EMG signals. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 53, 102426. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2020.102426>

Del Vecchio, A., Negro, F., Holobar, A., Casolo, A., Folland, J. P., Felici, F., & Farina, D. (2019). You are as fast as your motor neurons: speed of recruitment and maximal discharge of motor neurons determine the maximal rate of force development in humans. *Journal of Physiology*, 597(9), 2445–2456. <https://doi.org/10.1113/JP277396>

Duchateau, J., & Enoka, R. M. (2011). Human motor unit recordings: Origins and insight into the integrated motor system. *Brain Research*, 1409, 4261. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.06.011>

Enoka, R. M. (2006). Motor unit. *Wiley Encyclopedia of Biomedical Engineering*. <https://doi.org/10.1002/9780471740360.ebs0798>

Enoka, R. M. (2008). *Neuromechanics of human movement*. Human kinetics. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2019.03.010>

Enoka, R. M. (2019). Physiological validation of the decomposition of surface EMG signals. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 46, 70–83. <https://doi.org/10.1016/j.jelekin.2019.03.010>

Farina, D., Jiang, N., Rehbaum, H., Holobar, A., Graimann, B., Dietl, H., & Aszmann, O. C. (2014). The extraction of neural information from the surface EMG for the control of upper-limb prostheses: Emerging avenues and challenges. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, 22(4), 797–809. <https://doi.org/10.1109/TNSRE.2014.2305111>

Farina, D., & Holobar, A. (2016). Characterization of human motor units from surface EMG decomposition. *Proceedings of the IEEE*, 104(2), 353–373. <https://doi.org/10.1109/jproc.2015.2498665>

Faulkner, J. A., Larkin, L. M., Claflin, D. R., & Brooks, S. V. (2007). AGE-RELATED CHANGES IN THE STRUCTURE AND FUNCTION OF SKELETAL MUSCLES. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 34(11), 1091–1096. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04752.x>

- Felici, F., & Del Vecchio, A. (2020). Surface electromyography: What limits its use in exercise and sport physiology? *Frontiers in Neurology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.578504>
- Henneman, E. (1957). Relation between Size of Neurons and Their Susceptibility to Discharge. In *New Series* (Vol. 27, Issue 3287).
- Hepple, R. T., & Rice, C. L. (2015). Innervation and neuromuscular control in ageing skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 594(8), 1965–1978. <https://doi.org/10.1113/jp270561>
- Holobar, A., & Zazula, D. (2007). Multichannel blind source separation using convolution Kernel compensation. *IEEE Transactions on Signal Processing*, 55(9), 4487–4496. <https://doi.org/10.1109/TSP.2007.896108>
- Holobar, A., Minetto, M. A., & Farina, D. (2014). Accurate identification of motor unit discharge patterns from high-density surface EMG and validation with a novel signal-based performance metric. *Journal of Neural Engineering*, 11(1), 016008. <https://doi.org/10.1088/1741-2560/11/1/016008>
- Jones, E. J., Chiou, S., Atherton, P. J., Phillips, B. E., & Piasecki, M. (2022). Ageing and exercise-induced motor unit remodelling. *Journal of Physiology*, 600(8), 1839–1849. <https://doi.org/10.1113/jp281726>
- Kamen, G., & Knight, C. A. (2004). *Training-Related Adaptations in Motor Unit Discharge Rate in Young and Older Adults*. <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article-abstract/59/12/1334/538642>
- Kamen, G., Sison, S. V., Du, C. C., & Patten, C. (1995). Motor unit discharge behavior in older adults during maximal-effort contractions. *Journal of Applied Physiology*, 79(6), 1908–1913. <https://doi.org/10.1152/jap.1995.79.6.1908>
- G- T Liddell, B. E., & Charles Sherrington, S. S. (1925). Recruitment and some other features of reflex inhibition. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 97(686), 488–518. <https://doi.org/10.1098/rspb.1925.0016>
- Luff, A. R. (1998). Age-associated changes in the innervation of muscle fibers and changes in the mechanical properties of motor units. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 854(1), 92–101. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb09895.x>
- Manini, T. M., Hong, S. L., & Clark, B. C. (2013). Aging and muscle. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 16(1), 21–26. <https://doi.org/10.1097/mco.0b013e32835b5880>
- Pedersen, B. K., & Febbraio, M. A. (2008d). Muscle as an endocrine organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. *Physiological Reviews*, 88(4), 1379–1406. <https://doi.org/10.1152/physrev.90100.2007>
- Piasecki, M., Ireland, A., Jones, D. A., & McPhee, J. S. (2015). Age-dependent motor unit remodelling in human limb muscles. *Biogerontology*, 17(3), 485–496. <https://doi.org/10.1007/s10522-015-9627-3>

Piasecki, M., Ireland, A., Jones, D. A., & McPhee, J. S. (2015b). Age-dependent motor unit remodelling in human limb muscles. *Biogerontology*, 17(3), 485–496. <https://doi.org/10.1007/s10522-015-9627-3>

Opie, G. M., Hand, B. J., & Semmler, J. G. (2020). Age-related changes in late synaptic inputs to corticospinal neurons and their functional significance: A paired-pulse TMS study. *Brain Stimulation*, 13(1), 239–246. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2019.08.003>

Orsatto, L. B., Borg, D. N., Pendrith, L., Blazevich, A. J., Shield, A. J., & Trajano, G. S. (2022). Do motoneuron discharge rates slow with aging? A systematic review and meta-analysis. *Mechanisms of Ageing and Development*, 203, 111647. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2022.111647>

Tudoraşcu I, Sfredel V, Riza AL, Dănciulescu Miulescu R, Ianoşi SL, Dănoiu S. Motor unit changes in normal aging: a brief review. *Rom J Morphol Embryol*. 2014;55(4):1295-301. PMID: 25611259.

RINGRAZIAMENTI

Vorrei cominciare col ringraziare tutta la mia famiglia, per avermi sempre sostenuto e assecondato nelle scelte della vita, mettendo la mia felicità al primo posto. Voglio dedicarvi questo piccolo-grande traguardo della mia vita, come ringraziamento per tutto quello che fate ogni giorno.

Grazie a Stefano, mio migliore amico e ormai quinto membro della mia famiglia, per essere sempre al mio fianco e per migliorarmi le giornate. Spero che questo traguardo arrivi presto anche per te, e ti auguro sempre il meglio per ogni cosa che verrà.

Grazie al gruppo formato dai miei amici più stretti (FDDM) che ormai conosco da più di 10 anni e che negli ultimi anni si è espanso. Ogni giorno mi fate divertire e mi permettete di staccare dalla monotonia delle giornate. Mi ritengo molto fortunato per il rapporto spontaneo e sincero che ormai prosegue da anni, vi voglio bene.

Grazie alle bellissime persone che ho conosciuto in questi tre importanti anni, in particolare Pietro, Rebecca e Andrea. Vi ringrazio perché con voi ho condiviso i migliori momenti in università, che porterò sempre con me. In questi anni è nata un'amicizia anche fuori dall'aula che spero continui nel tempo. Vi auguro il meglio e spero riusciate a raggiungere ogni vostro traguardo.

Grazie ai miei bravissimi e simpaticissimi dottorandi Alessandro Sampieri e Gioi Spinello, che ci hanno sempre seguito per un anno intero nonostante avessero anche i loro impegni. Hanno contribuito a creare un ambiente lavorativo sereno e piacevole da frequentare, pur mostrando sempre assoluta serietà ed efficienza in risoluzione dei problemi e chiarimenti su dubbi o domande.

Grazie, infine, al professor Casolo per avermi fatto da relatore per questa tesi. Nel corso delle lezioni ho avuto modo di vedere quanto fosse preparato in materia, ma durante questa esperienza ho capito perché ricopre un ruolo fondamentale nell'Università di Padova. Grazie in primis per la disponibilità e la costante presenza che ha avuto in questo anno di tesi. Grazie anche per i suoi importanti e puntuali consigli per migliorare il progetto.