

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Scienze Biomediche

Corso di Laurea Triennale in Scienze Motorie

Tesi di Laurea

**CAMBIAMENTI DELLA MASSA MUSCOLARE DEGLI
ESTENSORI DEL GINOCCHIO IN SEGUITO AD UN PERIODO
FORZATO DI INATTIVITA' FISICA**

Relatore: Prof. Martino Franchi

Laureando: Clotilde Bacco

N° di matricola: 2010664

Anno Accademico 2022/2023

INDICE

ABSTACT.....	3
1) INTRODUZIONE.....	5
1.1 Il metabolismo totale.....	5
1.1.1 L'attività fisica	6
1.1.2 L'inattività fisica: conseguenze per la salute	8
1.1.3 Bilancio energetico	11
1.1.4 La composizione corporea.....	11
1.2 Tessuto Muscolare.....	13
1.2.1 Il muscolo scheletrico: proprietà e fibre muscolari.....	14
1.2.2 Anatomia e suddivisioni del muscolo scheletrico.....	17
1.3 Compartimento anteriore (estensore) della coscia.....	18
1.4 Modifiche strutturali del muscolo.....	19
1.4.1 Sezione trasversa e forza muscolare.....	21
2) SCOPO DELLA TESI.....	24
2.1 Modello di inattività periodica: Step Reduction.....	25
2.2 Eco intensità.....	27
3) MATERIALI E METODI.....	29
3.1 Campione statistico.....	29
3.2 Design Step Reduction e Fase di Familiarizzazione	30
3.3 Giornata di test.....	31
3.4 Ecografia muscolare.....	33
3.4.1 Materiali per ecografia muscolare.....	34
3.4.2 Ecografia trasversale e criteri di standardizzazione.....	36
3.4.3 Procedura di Acquisizione scansioni trasversali.....	37
3.5 CSA estensori del ginocchio e raccolta dati.....	39
4) ANALISI STATISTICA E RISULTATI.....	42

4.1	Analisi statistica dei dati.....	42
4.2	<i>Normality and Lognormality Tests e t-test per dati appaiati</i>	43
4.3	<i>P-value e livello di significatività</i>	46
4.4	Risultati.....	48
4.5	<i>Media e Deviazione Standard</i>	49
4.6	Grafici dei risultati.....	51
5)	DISCUSSIONE	54
6)	CONCLUSIONE	59
7)	BIBLIOGRAFIA	61

ABSTRACT

È noto come ogni anno siano milioni gli Italiani affetti dalla comunemente nota “*influenza stagionale*”.

L’influenza ha una ripercussione diretta sui costi sanitari, ma anche ripercussioni indirette quali i costi per l’assistenza, la mancata produttività e l’assenteismo giustificato dal luogo di lavoro.

Secondo la Società Italiana di Medicina Generale l’influenza, al pari dei disturbi muscolo-scheletrici, è causa del 10% dell’assenteismo dal lavoro. Quest’assenteismo dal luogo di lavoro, che sia per un motivo od un altro, ha un impatto diretto sulla salute generale delle persone affette da influenza, o disturbi muscolo-scheletrici, le quali per forza di cose si troveranno a dover modificare il proprio stile di vita, presumibilmente con una generale riduzione delle attività svolte quotidianamente.

Nel peggiore dei casi, ove l’influenza comporti un’ospedalizzazione, si va incontro ad un vero e proprio stravolgimento della quotidianità sia sul piano psico-relazionale che alimentare.

Possiamo quindi generalizzare le ospedalizzazioni, siano esse dovute a complicanze influenzali, operazioni chirurgiche programmate e/o interventi d’urgenza, a dei periodi di completa inattività fisica con ripercussioni oltre che sul piano psicologico, anche sul più ampio concetto di salute generale della persona.

L’Organizzazione Mondiale della Sanità definisce il concetto di salute come “*uno stato totale di benessere fisico, mentale e spirituale*” andando oltre alla classica erronea idea di “*assenza di malattie ed infermità*”.

L’obiettivo dell’OMS è il “*raggiungimento, da parte di tutte le popolazioni, del più alto livello possibile di salute*”.

La salute presenta cinque dimensioni; fisica, emozionale, sociale, mentale, spirituale. Esulando dalle dimensioni non di nostro interesse, andremo in questo progetto di tesi ad interessarci della prima citata, ossia della dimensione fisica. Nonostante essa racchiuda al suo interno nozioni di prevenzione, nutrizione e Fitness, il modo in cui andremo ad approcciarci ad essa sarà alternativo. Ciò che seguirà è lo studio di come

un periodo forzato di inattività influenzi la massa muscolare dei muscoli estensori del ginocchio.

In questo studio viene tolta una parte fondamentale del benessere della persona; il movimento.

Parlando di Wellness ci si riferisce ad un processo dinamico verso cui la persona tende al miglioramento ed al raggiungimento di uno stato ottimale di salute e di cui è responsabile. Diventa altresì semplice definire questo progetto di riduzione dei passi giornalieri (*Step Reduction*) come un'antitesi del Wellness, giungendo già ad una logica, seppur piccola, conclusione secondo cui l'inattività fisica non può che inevitabilmente comportare dei peggioramenti della fitness generale siano essi cardio-respiratori e/o muscolo-scheletrici.

1) INTRODUZIONE

1.1 Il metabolismo totale

Quando si parla di metabolismo totale in un adulto si fa riferimento in primis al metabolismo basale, ossia all'energia spesa dall'organismo a riposo affinché il corpo garantisca l'omeostasi interna dello stesso e il conseguente corretto funzionamento delle funzioni vitali quali; respirazione, circolazione, attività del sistema nervoso e del sistema endocrino.

Il metabolismo basale è responsabile di circa il 60-75% del dispendio energetico totale di un individuo.

Alcuni fattori geneticamente determinati influenzano il metabolismo basale:

- Il sesso; gli uomini tendono ad avere un dispendio energetico a riposo maggiore per via della diversa composizione corporea di base rispetto alle donne. Gli uomini hanno una maggiore % di massa muscolare, a discapito delle donne, che, viceversa hanno in proporzione più massa grassa; quest'ultima indispensabile per assolvere alle funzioni riproduttive della donna.

- Età; con l'avanzare dell'età diminuisce il consumo energetico a causa di fenomeni naturali degenerativi quali la sarcopenia.

La sarcopenia descrive un declino neuro-motorio, caratterizzato dalla perdita di massa (*atrofia muscolare*) e relativa forza muscolare, direttamente connesso all'invecchiamento del corpo umano.

- Fattori ormonali; le donne in età fertile sono maggiormente soggette alle oscillazioni ormonali, ad esempio, nella fase luteinica del ciclo mestruale, l'aumento di estrogeni e progesterone causano un leggero innalzamento della temperatura corporea a cui segue un dispendio energetico a riposo del 10-15% superiore al normale.

Al metabolismo basale bisogna sommare la termogenesi indotta dagli alimenti; ossia l'energia necessaria alla digestione, all'assorbimento e all'immagazzinamento dei macronutrienti (*grassi, proteine e carboidrati*).

Essa partecipa per circa il 10% al consumo energetico oltre quello base.

In minima parte anche l'energia prodotta dall'attivazione del sistema nervoso simpatico contribuisce ad un aumento del dispendio energetico.

Il restante 20% del metabolismo totale è fornito dal movimento in generale.

Un'ulteriore divisione definisce il movimento generale in due tipologie:

- *NEAT (Non-exercise activity thermogenesis)*; costituisce circa il 15%.
- *EAT (exercise activity thermogenesis)*; costituisce circa il 5%.

Quando si parla di NEAT si fa riferimento a tutti quei movimenti quotidiani che implicino un minimo di sforzo (*fare la spesa, pulire la casa, cucinare, lavare i piatti, andare a lavoro/scuola in bici, guidare. etc.*), ma che non sono esercizio fisico vero e proprio, facente invece parte dell'*EAT (corsa, allenamento contro resistenza, sport in generale)*.

1.1.1 L'attività fisica (AF)

Secondo l'Istituto Superiore di Sanità lo svolgimento di Attività Fisica (AF) regolare è indispensabile per il mantenimento di uno stato di completo benessere psico-fisico.

L'*AF* assolve quindi un ruolo curativo/preventivo; migliora la salute ossea (*prevenendo l'osteoporosi*), stimola la produzione di ormoni come le endorfine e la serotonina (*ormone neurotrasmettitore che aumenta lo stato di serenità*) il cui effetto riduce stress, ansia, depressione e altre sintomatologie psicologiche associate.

Il movimento è un ottimo modo per unire la sfera relazionale ai sopra citati effetti benefici svolti dall'attività fisica; infatti, qualsiasi movimento svolto in compagnia aiuta a contrastare quel senso di solitudine lamentato da buona parte della popolazione almeno una volta nella vita.

Inoltre, il movimento è un'ottima forma di prevenzione per le malattie metaboliche, cardiovascolari e neoplastiche, oltre ad un ottimo mezzo per ridurre la pressione arteriosa e contrastare l'aumento della glicemia post-prandiale.

L'*AF* è fondamentale anche in obiettivi a breve termine come il dimagrimento. Tra le variabili di quest'ultimo, oltre alla genetica ed allo status ormonale, un ruolo fondamentale è dato dal rapporto *NEAT/attività quotidiana*.

La differenza sostanziale nello stile di vita tra soggetti obesi e normopeso è stata riscontrata, a seguito di ricerche scientifiche, nella quantità di attività fisica giornaliera svolta dalle persone; nei paesi industrializzati si assiste ad uno stile di vita, sempre più inattivo, che si ripercuote nella salute di tutti i cittadini (*giovani, adulti e anziani*). Le conseguenze sono evidenti sin dalla giovane età; l'incidenza di bambini affetti da obesità e patologie associate (*asma, facile affaticamento, precoce comparsa di malattie come diabete e pressione alta*) è cresciuta esponenzialmente negli ultimi anni.

Tra le variabili positive indotte dall'esercizio fisico vi sono l'aumento della spesa calorica durante l'esercizio, l'*EPOC (Excess Postexercise Oxygen Consumption)*, l'aumento della capillarizzazione, le modifiche ormonali indotte dall'esercizio e per ultima, ma di nostro maggiore interesse, l'impatto sulla massa muscolare.

La massa muscolare è un fattore che influenza la spesa dell'esercizio fisico, sia che sia *EAT* o *NEAT*.

Un dato interessante è che, per ogni kg di massa muscolare acquisito e messo in movimento si consumano approssimativamente *15 kcal/giorno* in più.

Altri dati, sull'importanza dell'*AF*, ci vengono forniti dall'*American College of Cardiology/American Heart association Task Force* secondo cui, in uno studio svolto nel 2019 sulla prevenzione primaria delle malattie cardiovascolari si raccomanda, agli adulti, l'esecuzione di un'attività fisica moderata cumulata di almeno 150 minuti settimanali o 75 minuti di attività ad intensità vigorosa. Inoltre, si è giunti a conclusione che per gli adulti con diabete mellito di tipo due alcuni cambiamenti nello stile di vita, quali il miglioramento delle abitudini alimentari e il raggiungimento delle

raccomandazioni sull'esercizio fisico siano fondamentali per migliorare la convivenza con la malattia stessa.

1.1.2 L'inattività fisica: conseguenze per la salute

L'inattività fisica è classificata dall'*OMS* come il quarto fattore di rischio di mortalità nel mondo; attestato che sia causa del 6% di tutte le morti nel mondo, al pari dell'iperglicemia.

È importante differenziare il concetto di inattività fisica da quello di sedentarietà, in quanto sovente vengono intercambiati nonostante il diverso significato.

L'American College Of Sports Medicine (ACSM) e l'American Diabetes Association (ADA) ci aiutano definendo un soggetto "fisicamente inattivo" quando non raggiunge i 150 minuti di esercizio fisico settimanale, di intensità moderata, raccomandato.

Quando si parla di sedentarietà è prassi utilizzare l'Equivalente Metabolico dell'Attività (*MET*). Il *MET* è un'unità di misura che stima la quantità di energia utilizzata dall'organismo durante l'attività fisica, rispetto al metabolismo a riposo.

Quindi 1MET è espresso come la quantità di ossigeno consumata a riposo e viene standardizzato a 3,5 ml di O₂/Kg/min.

Un soggetto viene definito "sedentario" quando, in condizione di veglia, è impegnato per più di 8ore/giorno in attività che coinvolgano un equivalente metabolico <1,5MET.

Ad ogni modo Inattività Fisica e Sedentarietà producono, secondo uno studio del 2020 "*Impatti metabolici del confinamento durante la pandemia COVID-19 a causa della dieta modificata e delle abitudini di attività fisica*", attraverso diversi meccanismi, effetti negativi sulla salute generale.

È comune imbattersi in soggetti con sindrome metabolica e diabete mellito di tipo 2 (*T2DM*); all'origine vi sono generalmente comportamenti sedentari e di iperalimentazione che comportano, se protratti per lungo tempo, un peggioramento del profilo metabolico ed un relativo aumento di mortalità generale.

Così, pazienti contemporaneamente affetti da sindrome metabolica e *T2DM*, hanno dimostrato grazie al sopra citato studio, oltre ai problemi associati alle malattie (*ipertensione, glicemia alta a digiuno, insulino-resistenza, grasso viscerale in eccesso...*) anche un deterioramento del sistema immunitario con capacità antivirale ridotta (*stato di immunodepressione*) ed una persistente infiammazione sistemica cronica di basso grado con alterati livelli circolanti di citochine pro-infiammatorie. L'esperimento, svolto durante questo progetto di studio sul covid-19, ha dimostrato gli effetti benefici dell'Attività fisica su questi pazienti; gli indici di infiammazione sistemica, come la proteina-C reattiva ultrasensibile delle proteine pro-infiammatorie (*IL-6, TNF-alfa, IFN-gamma*) sono diminuite stimolando invece il rilascio di citochine antinfiammatorie (*IL-4 e IL-10*). Quindi il rapporto a favore delle adipochine antinfiammatorie (*molecole sintetizzate e secrete dal tessuto adiposo*) ha comportato un miglioramento anche della funzione immunitaria, grazie alla regolazione tra sistema lipidico e glucidico.

Dalla pubblicazione di un recente articolo "*Pathophysiological mechanisms of reduced physical activity: Insights from the human step reduction model and animal analogues*", è stato posto in evidenza uno studio, in soggetti anziani (*prediabetici e sovrappeso*), di riduzione dei passi (<750/giorno) della durata di due settimane. Lo scarico muscolare (*seppur leggero rispetto ad un completo disuso degli arti inferiori*) a cui sono stati sottoposti i partecipanti ha evidenziato l'atrofia dei muscoli della gamba ed il peggioramento dell'insulino resistenza dei tessuti. L'inattività fisica ha messo in luce anche il fenomeno della "resistenza anabolica"; quest'ultima è caratterizzata da una riduzione della secrezione di MPS (*Fattori di Sintesi Proteica Muscolare*).

Il mantenimento della massa muscolare è regolato da un corretto bilancio tra MPS e Muscle Protein Breakdown; non ci sorprende quindi che l'inattività fisica, ancor di più se completa, alteri questo equilibrio riducendo la secrezione di MPS come conseguenza di uno mancato stimolo muscolare.

Nello stesso studio si è visto inoltre, a sostegno del concetto di “*resistenza anabolica*”, che le due successive settimane di ripresa abituale delle attività quotidiane, negli stessi anziani sovrappeso e prediabetici, non è stato sufficiente al recupero dei normali tassi di MPS. Ad oggi è stato dimostrato come una riduzione dei passi giornalieri abbia un impatto negativo sul turnover proteico.

In un altro recente studio “*The impact of Step Reduction on Muscle health in Aging: Protein and exercise as Countermeasures*”, troviamo informazioni importanti secondo cui il processo della sarcopenia (*declino neuro-motorio*) definito come fisiologico e naturale, è motivo principale della debolezza e fragilità dell'anziano, al quale può causare invalidità (*aumentando di cinque volte il rischio di morte*). Studi epidemiologici confermano che la progressiva perdita di massa muscolare fa la sua comparsa dalla quarta decade di vita: dal 3-5% fino ai 50 anni, con un aumento dell'1-2% l'anno dalla quinta decade di vita in poi.

La sarcopenia è un cofattore di degenerazione ossea, in quanto la diminuzione di tessuto muscolare comporta l'accelerazione dell'osteoporosi (*riduzione della densità ossea*) cadute frequenti, fratture e problemi di deambulazione negli anziani.

Ancora più interessante è come questa patologia induca glicemia alta e diabete: la minore massa muscolare (*principale tessuto, oltre quello cerebrale che consuma zucchero*) comporta un minor utilizzo di glucosio, ed un abbassamento del metabolismo basale (*vi sono meno cellule da alimentare*) che spesso non viene percepito, causando sovrappeso negli anziani. La sarcopenia ed i suoi esiti negativi (*perdita di forza esplosiva e velocità, problemi di deambulazione e coordinazione neuro-motoria, cadute frequenti, osteoporosi, fratture, alterazioni metaboliche,*

sovrappeso/obesità) possono essere mitigati, se non addirittura quasi inibiti, dal mantenimento di uno stile di vita sano e attivo.

Dati forniti dal medesimo articolo prendono in esame la popolazione canadese, riscontrando che ben l'85% della popolazione non raggiunge i livelli di AF raccomandati dalle linee guida, un dato piuttosto allarmante considerando tutte le patologie che vengono aggravate dall'inattività fisica.

Quindi, l'inattività fisica è un fattore determinante nell'aumento dell'insorgenza nelle popolazioni di malattie cardiovascolari (*malattie coronariche, infarti, ictus...*), obesità, *T2DM* e tumori, oltre che di malattie degenerative del sistema nervoso come il Parkinson e l'Alzheimer.

1.1.3 Bilancio Energetico

Il bilancio energetico abbiamo visto essere parte fondamentale del metabolismo totale di un individuo.

L'equazione del bilancio energetico è data dall'energia assunta dai macronutrienti, a cui si sottrae l'energia spesa nell'arco della giornata (*metabolismo basale + dispendio energetico*).

Generalmente in soggetti ipocinetici si riscontra un bilancio energetico positivo, ove l'intake (*kcal assunte e assorbite*) supera la spesa energetica (*kcal consumate e metabolizzate*). È però riscontrato che la sola sovralimentazione non è sufficiente nel determinare sovrappeso e obesità; l'aumento del tessuto adiposo e la riduzione della massa muscolare sono soprattutto il risultato di un'insufficiente attività fisica.

1.1.4 Composizione corporea

La composizione corporea costituisce uno dei parametri fondamentali per delineare lo stato di forma nutrizionale e di fitness generale della persona, sia essa un atleta o meno.

Il più rapido metodo per avere un'idea della composizione corporea è dato dall'Indice di Massa Corporea (*IMC*). L'*IMC* è dato dal peso in kg,

rapportato al quadrato dell'altezza in metri. Questo metodo nonostante fornisca delle ottime linee guida, secondo cui il Ministero della Salute fissa un range di "normalità" compreso tra il 18,5 e il 25, è utile soprattutto in soggetti evidentemente in sovrappeso o obesi, quest'ultimi con $IMC > 30$.

Tra le più note metodiche non invasive utilizzate per la misurazione della composizione corporea, abbiamo la plicometria (*utilizzo di pinze graduate per la misurazione delle pliche di grasso sottocutaneo*) e l'impedenzometria bioelettrica (*appositi strumenti vengono utilizzati per inviare segnali elettrici al corpo*).

Generalmente si assume che il corpo presenti due compartimenti chimicamente distinti:

- *Fat Mass (FM)*; data dalla somma di grasso sottocutaneo e viscerale.
- *Fat Free Mass (FFM)*; data dalla sottrazione tra peso corporeo totale e *FM*.

Anatomicamente la *FFM* è composta circa da:

- 40% muscoli scheletrici (*massa muscolare*)
- 40% muscoli non scheletrici e tessuti magri
- Scheletro

In studi che comportino una riduzione drastica dell'*AF*, come nel progetto in esame, è imprescindibile non parlare di composizione corporea.

Infatti, nel già sopra citato articolo scientifico "*Pathophysiological mechanisms of reduced physical activity: Insights from the human step reduction model and animal analogues*" è confermato, a fronte di un'accurata raccolta degli studi effettuati sulla riduzione dei passi, l'effetto negativo dell'inattività sulla funzione metabolica, sull'infiammazione sistemica generale e sulla composizione corporea.

Sia nei giovani che negli anziani sottoposti ad un protocollo di diminuzione dell'attività fisica (*riduzione dei passi*) si è verificato un'evidente perdita di massa magra/muscolare, confermando un peggioramento della

composizione corporea in termini di quantità e qualità della massa muscolare.

Viene così evidenziato quanto il muscolo scheletrico sia sensibile alle variazioni del carico meccanico.

1.2 Il tessuto muscolare

La complessità del corpo umano è data dalla presenza di trilioni di cellule diverse e specializzate.

Il nostro corpo è composto da cellule specializzate in funzioni simili che si aggregano in tessuti. Diverse forme di tessuto si aggregano insieme per svolgere la medesima funzione, componendo un organo, e più organi che partecipano alla stessa funzione costituiscono un apparato.

Lo studio dei tessuti e di come sono organizzati negli organi prende il nome di Istologia (*anatomia microscopica*).

Un tessuto è costituito da una massa di cellule e di prodotti cellulari simili che svolgono la stessa funzione, vi è poi la matrice composta da fibre e sostanza fondamentale/liquido extracellulare.

Nell'uomo riscontriamo quattro tipologie di tessuto; il tessuto epiteliale, connettivo, nervoso e muscolare.

Il tessuto muscolare è caratterizzato da cellule allungate (*fibre muscolari*), al cui interno troviamo le miofibrille. Le miofibrille (*costituite da miofilamenti*) condizionano l'attività contrattile della cellula; esse sono cellule eccitabili e specializzate nella contrazione.

In particolare, l'eccitabilità è una caratteristica delle cellule viventi che ha raggiunto il suo apice nel tessuto nervoso e muscolare; vengono perciò descritti come tessuti eccitabili.

Alla base della loro eccitabilità vi è una differenza di carica elettrica (*potenziale di membrana*). I tessuti eccitabili rispondono velocemente a stimoli esterni inducendo una variazione nel potenziale di membrana; il tessuto muscolare risponde con una contrazione o accorciamento della cellula muscolare.

Il tessuto muscolare si suddivide, in base alla struttura e alle funzioni, in tre tipi:

- Tessuto muscolare striato; costituisce i muscoli scheletrici, è distinto dall'alternanza di bande chiare e scure, risultato della sovrapposizione di filamenti proteici citoplasmatici di actina e miosina responsabili della contrazione.

È un tessuto volontario in quanto esercitiamo un controllo conscio sui muscoli scheletrici.

I muscoli scheletrici sono per lo più attaccati alle ossa, ma ne fanno parte anche gli sfinteri delle palpebre, dell'uretra e dell'ano; il diaframma; la lingua; alcuni muscoli dell'esofago.

- Tessuto muscolare cardiaco (*cuore*); è striato (*cellule con brevi ramificazioni dette miociti*) ma involontario (*non esercitiamo un controllo conscio riguardo le sue funzioni*).
- Tessuto muscolare liscio; è privo di striature ed involontario. Lo si trova come foglietti di tessuto nelle pareti viscerali, negli sfinteri involontari, nell'iride e nei follicoli piliferi.

Nella loro generalità i muscoli hanno diverse funzioni; rendono possibile il movimento, mantengono la stabilità del corpo (*mm. antigravitari, mm. stabilizzatori delle articolazioni*), controllano le aperture e dei passaggi del corpo, producono calore e controllano la glicemia.

1.2.1 Il muscolo scheletrico: proprietà e fibre muscolari

Le proprietà universali dei muscoli scheletrici sono 5:

- L'eccitabilità; tipica dei neuroni e delle cellule muscolari
- Conduttività; dal punto trigger in cui è stata stimolata la cellula nervosa, l'eccitazione elettrica viene condotta, tramite la

membrana plasmatica, a tutta la cellula dando avvio agli eventi che portano alla contrazione.

- Contrattilità; risposta specifica delle cellule muscolari.
- Estensibilità; l'allungamento delle fibre muscolari può raggiungere anche tre volte la loro lunghezza contratta, impedendo che un muscolo resista all'azione opposta del muscolo antagonista.
- L'elasticità; una cellula muscolare nel passaggio di massimo allungamento (*stirata*) a quando la tensione viene rilasciata può accorciarsi di più rispetto alla lunghezza originaria. Questa proprietà permette al muscolo il mantenimento del tono muscolare.

I muscoli scheletrici sono formati da fibre muscolari, ognuna delle quali rappresenta una singola cellula.

Nei muscoli della gamba le fibre muscolari possono raggiungere i 25 cm di lunghezza, con diametro compreso tra 10 e 80 μm .

Considerando la sezione trasversale di un muscolo si vede non solo tessuto muscolare, ma anche tessuto connettivo, nervoso e vasi sanguigni.

Gli elementi del tessuto connettivo, dal più grande al più piccolo, e dal più superficiale al più profondo, sono:

- Fascia: strato di tessuto connettivo che separa i tessuti sottocutanei e i gruppi muscolari gli uni dagli altri.
- Epimisio: guaina connettivale fibrosa che avvolge l'intero muscolo e ha la funzione di contenerlo e proteggerlo durante i movimenti/le contrazioni. L'epimisio termina nella fascia esternamente, mentre prosegue all'interno del ventre muscolare con delle proiezioni tra i fascicoli andando a formare il perimisio
- Perimisio: è una guaina spessa di tessuto connettivo che avvolge fascicoli di fibre muscolari.

- Endomisio: è una struttura lassa di tessuto connettivo che avvolge ogni cellula muscolare.

Ogni fibra muscolare scheletrica contiene al suo interno più miofibrille; ogni miofibrilla è composta di fibre sottili di actina (*bande I*) e di fibre più spesse di miosina (*banda A*). Al centro di ogni banda chiara vi è la linea Z ed è tra due linee Z contigue che si trova l'unità contrattile fondamentale del muscolo (*sarcomero*).

La fibra muscolare è quindi una cellula eccitabile che, quando stimolata risponde con il potenziale d'azione (*risposta di membrana*), a cui segue l'aumento della concentrazione di calcio intracellulare ed infine la contrazione (*risposta specifica intracellulare*).

La contrazione del muscolo è il risultato dello scorrimento dei filamenti di actina, reso possibile dalla trazione esercitata dalla miosina, verso il centro del sarcomero.

La fibra muscolare è suddivisa in due tipi in base alla velocità di contrazione:

- Fibre a scossa rapida; sono di colore chiaro (*fibre bianche*) e contengono una maggior quantità di enzimi glicolitici (*alta capacità glicolitica*) rispetto agli ossidativi.
- Fibre a scossa lenta; hanno un diametro inferiore rispetto alle fibre rapide, presentano un colore rosso (*elevata capacità ossidativa*) per la presenza di mioglobina, mitocondri e l'abbondante irrorazione sanguigna.

Durante la contrazione sono reclutate prima le fibre lente (o ossidative) rispetto alle fibre veloci; la differenza nella velocità di contrazione è data dall'isoforma di miosina presente nelle fibre muscolari scheletriche.

1.2.2 Anatomia e suddivisione dei muscoli scheletrici

Nei muscoli scheletrici distinguiamo due estremità: l'origine e l'inserzione.

L'origine, prossimale rispetto al baricentro del corpo, rappresenta il punto fisso (*zona in cui la funzione di contrazione del muscolo non viene esercitata*) al quale il muscolo si ancora.

L'inserzione, distale rispetto al centro del corpo, rappresenta la parte mobile su cui il muscolo esplica la sua funzione di movimento (*zona effettrice*).

Dall'origine verso l'inserzione troviamo:

- Uno o più capi muscolari
- Uno o più ventri muscolari
- Tendine

Il muscolo scheletrico, in base alla direzione con cui le fibre muscolari sono disposte rispetto al tendine, presenta diverse forme:

- Muscolo fusiforme
- Muscolo semi-pennato
- Muscolo bi-pennato
- Muscoli multi-pennati

In base a quanti punti d'origine ha un muscolo si hanno muscoli con uno, due o più capi, i quali si riuniscono in un unico ventre a formare il tendine. Ne sono esempi il bicipite e il tricipite brachiale negli arti superiori, e bicipite femorale, quadricipite femorale e tricipite della sura negli arti inferiori.

In caso di muscoli con un unico capo d'origine e più ventri muscolari si parla di muscoli bi-ventri.

I muscoli possono essere estesi su una o più articolazioni.

Nel secondo caso si parla di muscoli bi o pluriarticolati.

Inoltre, muscoli diversi che collaborano per la riuscita del medesimo movimento sono detti “*sinergici*”, viceversa muscoli che si oppongono nello stesso movimento sono definiti “*antagonisti*”.

1.3 Compartimento anteriore (*estensore*) della coscia

I muscoli situati nella loggia anteriore della coscia sono il quadricipite femorale e il sartorio; agiscono quasi esclusivamente sull’articolazione del ginocchio e formano la maggior parte della massa muscolare della coscia. Il quadricipite femorale assolve, nella sua globalità, alla funzione di estensore del ginocchio; esso si articola in quattro parti (*retto femorale, vasto intermedio, vasto laterale e vasto mediale*).

Il retto femorale ha due punti d’origine; il capo diretto origina dalla spina iliaca antero-inferiore ed il capo riflesso dal margine superiore dell’acetabolo del femore.

Il vasto laterale origina lateralmente sul grande trocantere, fino alla tuberosità glutea e al labbro laterale della linea aspra del femore.

Il vasto mediale ha origine sul labbro mediale della linea aspra del femore.

Il vasto intermedio origina dalla superficie anteriore e laterale del femore; in una visione di sezione trasversale della coscia il vasto intermedio costituisce il muscolo più in profondità, inoltre risulta ben delimitato dal vasto laterale ma non dal vasto mediale

I quattro capi convergono in un unico tendine del quadricipite (*patellare*) che si estende oltre la patella, e continuando come legamento patellare giunge sino all’inserzione distale sulla tuberosità della tibia. La differenza tra il tendine patellare e il legamento risiede nel fatto che il primo si estende dal muscolo all’osso, mentre il secondo connette un osso con un altro osso.

Il retto femorale con i suoi due capi d’origine è un muscolo bi-articolare; è un estensore del ginocchio, partecipa alla corsa agendo sinergicamente con

l'ileo psoas nella flessione della coscia sull'anca nelle fasi del movimento della gamba, flette l'anca nell'azione di calciare, arrampicare e nella camminata.

Inoltre, se la coscia funge da punto fisso il retto femorale flette il tronco sull'anca.

I due vasti (laterale e mediale) lavorano in sinergia, ed oltre ad essere estensori del ginocchio, mantengono la patella in sede e a contatto con il femore nei movimenti del ginocchio.

Il vasto intermedio agisce solo come estensore del ginocchio ed è, a differenza degli altri tre capi muscolari (*muscoli superficiali*), un situato in profondità nella loggia anteriore della coscia.

Il quadricipite femorale è il più potente muscolo del corpo e nella sua globalità è il motore principale dell'estensione del ginocchio; la funzione è più intensa con l'articolazione dell'anca estesa, poiché, così facendo, il retto femorale esercita il massimo contributo.

Il muscolo quadricipite è essenziale nella deambulazione, tant'è che la sua potenza supera notevolmente tutta quella dei mm. Flessori del ginocchio,

Una paralisi del muscolo quadricipite rende impossibile alzarsi autonomamente dalla posizione seduta, evidenziando quanto sia indispensabile mantenere in salute questo muscolo in età avanzata o semplicemente per agire nella propria quotidianità.

1.4 Modifiche strutturali del muscolo

Quando lo scheletro cresce, le cellule muscolari si allungano grazie al processo, reversibile, di formazione di nuovi sarcomeri sui capi terminali delle cellule muscolari. Un arto immobilizzato, ossia forzato in un'innaturale posizione accorciata, determina l'eliminazione fisiologica dei sarcomeri terminali ed un conseguente accorciamento del muscolo. Alterazioni nella lunghezza del muscolo comportano modificazioni soltanto

della velocità di contrazione (*accorciamento*) del muscolo scheletrico. Interessante è uno studio del 1974, tratto dal libro "*Principi di metodologia del fitness*", che dimostra come sottoponendo i muscoli alla posizione di stretching prolungato per 7 giorni si abbia un aumento del 20-40% dei sarcomeri in serie, mentre viceversa una posizione in accorciamento determini la perdita del 20-30% dei sarcomeri terminali. Questi cambiamenti, oltre ad essere estremamente rapidi, mostrano come i sarcomeri terminali persi vengano sostituiti dalla formazione di tessuto connettivo, incrementando la componente tendinea del muscolo; il muscolo risulterà più lungo ma meno veloce a causa della diminuzione della componente contrattile. Ne consegue che la velocità di un muscolo sia direttamente proporzionale al numero di sarcomeri disposti in serie, e che quindi una modificazione della lunghezza di un muscolo scheletrico alteri la velocità e l'accorciamento dello stesso, ma non l'espressione di forza.

I muscoli scheletrici possono andare incontro a due fenomeni diversi: l'iperplasia e l'ipertrofia.

L'iperplasia consiste nella formazione, oltre alle già esistenti, di nuove fibre muscolari; il muscolo scheletrico ha però una ridotta capacità iperplastica.

L'ipertrofia è un fenomeno fisiologico e graduale dell'incremento di forza e diametro dei muscoli scheletrici. Si riscontra un'ipertrofia muscolare durante il naturale periodo di crescita, e poi in seguito a specifiche metodiche allenanti (*allenamento eccentrico, stretch contrastato etc.*) che stimolino la crescita dei sarcomeri in parallelo delle fibre muscolari. Quando viene raddoppiato il diametro mio fibrillare si può generare una forza doppia rispetto alla precedente struttura del muscolo; infatti, la forza di un muscolo è direttamente proporzionale al numero di sarcomeri disposti in parallelo.

Il fattore che influenza maggiormente la crescita ipertrofica del muscolo è il carico meccanico; il muscolo risponde a livello mio fibrillare attivando vie di segnale intracellulare e andando a regolare la sintesi o meno delle proteine. Vi è una risposta anche a livello sarcoplasmatico, ma sembra essere trascurabile.

Quindi, come il carico meccanico stimola direttamente la sintesi proteica, viceversa l'assenza ne inibisce la crescita.

L'esercizio fisico, in risposta acuta provoca la sintesi di proteine e di glicogeno, mentre in risposta cronica provoca ipertrofia ed accumulo di glicogeno

Il fenomeno opposto all'ipertrofia è l'atrofia.

L'atrofia è la diminuzione della massa muscolare e dipende fondamentalmente da due fattori: la riduzione della dimensione delle fibre e la morte nei neuroni motori (denervazione). Quando un muscolo viene immobilizzato perde naturalmente massa muscolare e forza, con relativa sensazione di debolezza e rapido affaticamento.

Un esempio lampante di atrofia muscolare sono le missioni spaziali. Negli astronauti, immersi in un ambiente di microgravità e in assenza di stimoli meccanici sulla muscolatura, si assiste ad una sostanziale perdita di massa muscolare (*fat free mass*) e forza, tant'è che a seguito del periodo trascorso in assenza di gravità risulta indispensabile un periodo di riabilitazione e recupero delle capacità funzionali (*forza*) e strutturali della muscolatura.

1.4.1 Sezione trasversa e forza muscolare

L'espressione di forza di un muscolo dipende da parametri quali la dimensione del muscolo, la composizione delle fibre (*fibre lente/fibre veloci*), la coordinazione intra ed intermuscolare, la capacità di contrazione e l'orientamento dei fascicoli rispetto al tendine. La direzione della contrazione del muscolo avviene secondo l'orientamento dei fascicoli.

Una breve suddivisione in base all'orientamento dei fascicoli può essere fatta tra muscoli fusiformi e muscoli pennati.

I muscoli fusiformi (*bicipite brachiale*) presentano un tendine centrale parallelamente al quale si estendono i fasci di fibre; la forma del muscolo sarà più spessa al centro e andrà ad assottigliarsi alle estremità.

L'espressione di forza è direttamente proporzionale al diametro nel punto più spesso del muscolo (*sarcomeri in parallelo*).

I muscoli pennati hanno fascicoli disposti obliquamente rispetto al tendine centrale e presentano fibre più corte rispetto ai muscoli fusiformi. Nel caso del quadricipite femorale abbiamo muscoli uni pennati (*tutti i fascicoli si inseriscono solo su un lato del tendine*) comprendendo i 3 vasti, e il retto femorale che è un muscolo bi pennato (*i fascicoli si inseriscono da ambe due i lati del tendine*).

Questi muscoli generano maggiore forza rispetto ai muscoli con fasci paralleli in quanto possiedono più fibre in una determinata lunghezza del muscolo.

La forza massima di un muscolo (*capacità massima del muscolo di esprimere una tensione contro resistenza*) dipende dall'area della sezione trasversale fisiologica (*PCSA*).

La PCSA è l'area delle fibre perpendicolare alla direzione della fibra.

Nei muscoli fusiformi la PCSA corrisponde all'area della sezione, nel punto con diametro maggiore (*a metà del muscolo*), perpendicolare alla linea di trazione.

Nei muscoli pennati la linea di trazione delle fibre non coincide con la linea di trazione del muscolo. Ne consegue che la PCSA in muscoli pennati, affinché vengano incluse tutte le fibre, debba essere presa ad angolo retto (*perpendicolare*) alla direzione media delle fibre muscolari. L'aumento dell'angolo di pennazione delle fibre è direttamente proporzionale alla sezione trasversa fisiologica del muscolo.

Quindi la PCSA di un muscolo pennato è maggiore, a parità di massa (*volume*), della stessa massa muscolare non pennata.

La Forza massima di un muscolo è data dalla seguente formula:

$$F_{massima} = PCSA \times K \text{ con } K = \text{costante} = \text{circa } 20 \text{ to } 100 \text{ N} \times \text{cm}^{-2}$$

Ciò indica, una correlazione positiva tra sezione trasversa del muscolo e forza massima, indi per cui, generalmente muscoli più grandi tendono ad avere maggiore capacità di generare forza. Nonostante ciò, l'efficienza biomeccanica e la tecnica di esecuzione dell'esercizio giocano un ruolo fondamentale sull'espressione di forza.

2) SCOPO DELLA TESI

Il progetto “*Prin InactiveAge*”, a cui ho avuto l’opportunità di partecipare, è stato finanziato e quindi reso possibile dal Ministero dell’Istruzione dell’Università e della Ricerca (*MIUR*). Le Università Italiane che hanno partecipato sono state tre; Padova, Pavia e Udine.

La piccola parte di cui renderò conto ha lo scopo di analizzare e verificare quanto un periodo di inattività fisica forzato, inteso come una drastica riduzione dell’attività fisica giornaliera, influisca sulla quantità e sulla qualità della massa muscolare dei muscoli estensori del ginocchio. Per farlo ci siamo avvalsi di ecografie trasversali del quadricipite a riposo, tramite le quali abbiamo valutato una proprietà morfologica del muscolo (*grandezza*) misurando l’area del muscolo in cm^2 nell’ area di sezione analizzata.

Ad oggi, i lavori scientifici esistenti sul modello di inattività fisica da noi utilizzato (*Step Reduction*) sono ridotti e i dati riguardanti i cambiamenti della sezione trasversa del muscolo quadricipite sono altrettanto pochi. In particolare, le ricerche pubblicate hanno sempre preso in esame soggetti anziani e/o adulti over 50.

La novità del nostro progetto risiede proprio nei partecipanti reclutati; soggetti giovani ($18 < \text{età} < 35 \text{ anni}$), sani e moderatamente attivi ($>7000 \text{ passi/giorno}$).

Di conseguenza, l’obiettivo del seguente studio è stato quello di verificare, dopo una settimana di monitoraggio dell’AF quotidiana dei soggetti, se, a seguito del periodo di due settimane di inattività fisica, la massa muscolare del quadricipite risulti cambiata rispetto ai dati iniziali.

Per avvalerci di dati attendibili abbiamo effettuato delle ecografie trasversali e longitudinali del muscolo quadricipite prima e dopo il periodo di inattività fisica. Tramite analisi delle immagini ecografiche trasversali abbiamo misurato la Cross Sectional Area (*CSA*) dei muscoli estensori del ginocchio (*vasto laterale, retto femorale, vasto mediale e vasto intermedio*); stabilità

l'area in cm^2 dei muscoli estensori del ginocchio (*dimensione della massa muscolare*) abbiamo proceduto con l'analisi dati.

Metodi, procedure, e programmi utilizzati nel corso dello studio e dell'analisi dati verranno in seguito approfonditi.

Dati riguardanti la qualità muscolare ci vengono forniti dall'eco intensità delle immagini trasversali del muscolo; nonostante ciò, non verranno compresi nella qui presente tesi, ma verrà loro riservata una breve e motivata spiegazione sul perché della loro esclusione.

Le batterie di test e le ecografie trasversali (*parte fondamentale della qui presente tesi*) sono state effettuate presso il Laboratorio di Fisiologia Neuromuscolare di Padova.

2.1 Modello di inattività periodica: Step Reduction

Esistono diverse forme di inattività che si prestano al poter diventare la chiave di ricerche scientifiche. L'inattività fisica, come visto in precedenza, coinvolge il corpo totalmente e i danni comportati si ripercuotono sistematicamente, compromettendo la salute generale degli individui.

L'inattività fisica può essere espressione di una totale assenza di movimento (*ospedalizzazioni*), della totale assenza di gravità (*missioni spaziali*) in cui gli astronauti non essendo soggetti alla forza di gravità si trovano in condizione di completo scarico del peso corporeo e quindi senza stimolo meccanico sulle componenti muscolo-tendinee-articolari del corpo.

Una forma parziale di inattività si ha con le immobilizzazioni del corpo (*braccio/gamba ingessata a causa di una frattura*); a differenza delle prime due forme citate, quest'ultima ha conseguenze periferiche, come la perdita di massa e forza muscolare dell'arto coinvolto nell'immobilizzazione. In questo progetto di tesi la forma di inattività utilizzata è stata la "*Step Reduction*" (*SR*); essa si riferisce ad una riduzione del numero di passi o all'aumento dell'inattività. La SR simula cambiamenti nel comportamento

legati all'AF, come quando un soggetto riduce l'AF quotidiana o l'esercizio fisico rispetto al passato. Essa è inoltre un ottimo canale per studiare quanto un solo periodo, o cumulati periodi di inattività nel corso della vita, influiscano negativamente con il declino della salute psico-fisica. Nell'articolo "*The impact of Step Reduction on Muscle Health in Aging: Protein and Exercise as Countermeasures*" dati riportati, indicano che dopo i sessant'anni il declino della massa muscolare è circa dell'1% ogni anno, mentre relativamente alla forza muscolare il declino stimato è più rapido, giungendo al 3%. Il fenomeno della sarcopenia è ipotizzato venga drasticamente peggiorato da più periodi cumulati di inattività. Quindi una qualsiasi riduzione dei passi giornaliera (*SR*) nel corso della vita influisce negativamente sulla qualità della vita futura, riducendo la salute ossea (*osteoporosi*), velocizzando la degenerazione della forza e della massa muscolare (*sarcopenia*), peggiorando il benessere mentale e fisico degli individui.

Il concetto di *SR* può essere utilizzato anche a scopo terapeutico, riferendosi ad interventi intenzionali, ponendo come esempio un professionista e/o medico dello sport che prescriva una riduzione graduale della AF quotidiana a seguito di un infortunio o ad una specifica condizione medica del paziente. In questo caso la *SR* può essere una strategia di recupero o riabilitazione.

Ad ogni modo, in questo studio, la *SR* (*riduzione dei passi*) è un metodo che si riferisce al comportamento sedentario, cioè al tempo passato inattivo, il quale spesso è correlato ad un basso numero giornaliero di passi.

Il monitoraggio dei passi giornalieri durante il periodo di inattività fisica si avvale di conta passi e/o di accelerometri.

L'obiettivo principale degli studi simulati sulla *SR* è lo studio dell'impatto negativo che si ha nelle funzioni generali del corpo; nel mio specifico caso abbiamo analizzato il cambiamento nella massa muscolare del quadricipite.

Questo tipo di ricerche di *SR* sono un ottimo modo per sensibilizzare sulle conseguenze negative dell'inattività fisica, fornendo dati scientifici

attendibili, che mirino al far prendere coscienza a tutti gli individui dell'importanza sul mantenere uno stile di vita quanto più possibile attivo.

2.2 Eco-intensità

L'eco-intensità (*EI*) è un termine utilizzato nell'ambito medico per descrivere la luminosità o l'intensità dei segnali ecografici che vengono visualizzati nello schermo dell'ecografo.

In parole più semplici, si riferisce alla colorazione o alla tonalità di grigi che rappresentano i tessuti e le strutture all'interno del corpo.

Nelle ecografie muscolari che abbiamo svolto la scala di grigi è un parametro, che tramite analisi, può essere utilizzato come indicatore della qualità muscolare. Il colore è indicatore della capacità dei tessuti di riflettere le onde sonore emesse dall'ecografo; ciò dipende dalla densità, dalla composizione e da altre caratteristiche dei tessuti esaminati. Queste riflessioni sono quindi tradotte in segnali ecografici mostrati sullo schermo in diverse tonalità di grigio.

Quindi, nelle ecografie muscolari, il tessuto muscolare sano appare come una zona omogenea di eco-intensità media-grigia. La diversa scala di grigi rappresenta la densità e la composizione del tessuto muscolare.

Le zone iper-intense appaiono di colorazione chiara rispetto al tessuto circostante in quanto riflettono maggiormente le onde sonore; nel nostro specifico caso zone chiare sono indice di calcificazioni, depositi di grasso o tessuto fibroso/connettivo.

Ai limiti del possibile, potremmo avere, zone completamente nere che indicano la completa composizione del muscolo in termini di tessuto muscolare, o viceversa un colore bianco che indica una totale composizione del muscolo di tessuto adiposo.

Pertanto, un aumento dell'*EI*, correlata ad una colorazione chiara, indicherebbe una maggiore presenza di tessuto adiposo e connettivo ed una

riduzione della FFM (*tessuto contrattile*), indicando un peggioramento della qualità muscolare. Secondo una recente review del 2022 “*Factors of Muscle Quality and Determinants of Muscle Strength: A Systematic Literature Review*”, che ha preso in esame diversi studi di SR, l’EI è direttamente associata alla forza muscolare, in quanto è un parametro dell’aumento o diminuzione del tessuto adiposo e fibroso intramuscolare. Nonostante ciò, i risultati dell’EI nei diversi studi si sono dimostrati contrastanti. Non a caso, l’affidabilità dei dati delle Eco-intensità sono influenzati da fattori specifici quali il sesso e il BMI dei soggetti, la regione muscolare specifica, il tessuto adiposo, oltre che errori dovuti alla qualità delle immagini e all’uso di diversi sistemi di analisi.

È al fronte di questi motivi che, nella presente tesi, i dati sull’EI verranno esclusi dall’analisi dei dati.

3) MATERIALI E METODI

3.1 Campione Statistico

Per la presente ricerca sono stati coinvolti 10 soggetti, di cui 5 femmine e 5 maschi, che su base volontaria hanno espresso interesse e disponibilità nel partecipare. In seguito alla diffusione di un volantino sono pervenute quasi 70 richieste, delle quali il gruppo di ricerca ha esaminato l'idoneità, di modo che vi fosse una selezione che rispettasse i criteri stabiliti.

I criteri di selezione sono stati:

- Età compresa tra 18-35 anni.
- Buono stato di salute/assenza particolari patologie.
- Genere femminile o maschile.
- Moderatamente attivi fisicamente (>7000 passi/giorno).
- Effettiva possibilità di ridurre i passi giornalieri per 15 giorni considerando la propria routine quotidiana.
- Sospensione delle attività ricreative, spostamenti in bicicletta, allenamento arti superiori.

Inizialmente i soggetti che avrebbero dovuto prendere parte alla ricerca erano 12, suddivisi in 4 gruppi da 3. A seguito di due defezioni, dovute ad improvvisa indisponibilità, a prendere parte al progetto con avvio maggio 2023, abbiamo cominciato la ricerca con 10 partecipanti suddivisi, per i test in laboratorio, in 4 coppie.

Tutti i soggetti studiati sono stati considerati un unico gruppo, i cui dati registrati in laboratorio prima e dopo il periodo di due settimane di SR, sono stati confrontati. Abbiamo, denominato ogni individuo con il suffisso SR seguito dal numero da 1-10, tale per cui SR1 è colui che ha per primo eseguito i test e SR10 l'ultimo.

Il campione SR8 ha portato a termine la ricerca, ma è stato in seguito ai controlli dei dispositivi di monitoraggio dei passi, escluso dall'analisi dati.

Il campione statistico su cui è stata effettivamente svolta l'analisi dati è di 9 soggetti, di cui 5 donne e 4 uomini. Nonostante l'esclusione finale di SR8, continueremo a riferirci all'ultimo soggetto con SR10.

3.2 Design Step Reduction e Fase di familiarizzazione

Il modello di riduzione dei passi, previsto nella nostra ricerca, si è basato su 2 settimane di SR (*max passi 1500/giorno*).

I test sono stati svolti il giorno prima dell'inizio della SR (*giorno -1*) e il giorno dopo la sua conclusione (*giorno 15*).

Di grande importanza è stata la richiesta ai partecipanti di sospendere eventuali attività fisiche ricreative e/o spostamenti in bicicletta.

Le due settimane sono state precedute da una settimana di monitoraggio dei livelli di baseline dei partecipanti (*cut-off inclusione >7000 passi/giorno*).

Per spiegare meglio ai soggetti a cosa andavano incontro è stata prevista, prima dell'inizio della settimana di controllo, una seduta di Familiarizzazione.

Nella fase di Familiarizzazione, oltre al conoscersi meglio, è stato spiegato nel dettaglio il progetto a cui avevano aderito, si è familiarizzato con le misure neuromuscolari ed è stato fatto firmare un consenso de liberatorio e informato.

Durante la fase conoscitiva è stata fatta una sorta di anamnesi ai possibili partecipanti, così da prender nota di eventuali patologie (*la cui presenza non era affine alla partecipazione*), eventuale facilità allo svenimento, gruppo sanguigno, gamba dominante e altre informazioni come infortuni/traumi passati, e svolgimento di particolari sport.

Al fine della sicurezza dei partecipanti si è garantito la presenza di un medico e del defibrillatore nei giorni in cui sarebbe stato svolto il test incrementale da sforzo.

È stato richiesto ai partecipanti di tener conto della propria alimentazione in un diario alimentare da noi fornitogli, in modo da monitorare possibili cambiamenti nella settimana di monitoraggio rispetto alle due successive.

Il numero dei passi dei partecipanti è stato monitorato in due modi:

- Con un contapassi: ha permesso un feedback real time.
- Un accelerometro: ha consentito l'analisi vera e propria in quanto è uno strumento più preciso del contapassi.

Ai soggetti è stato richiesto di non rimuovere mai gli strumenti di monitoraggio dei passi in tutto il periodo di ricerca (*21 giorni*), se non per registrare i dati dopo la prima settimana di controllo.

Per facilitare e spronare i volontari a rispettare il protocollo da rispettare per la ricerca è stato previsto, per chi ha portato a termine lo studio, un pagamento di 300 euro, oltre che il rimborso di eventuali mezzi pubblici usufruiti per mantenere la compliance (*autobus, monopattini, treni etc.*).

3.3 Giornata di Test

L'intero protocollo di ricerca prevedeva una batteria di test biomedici mirati alla valutazione dello stato di salute del sistema neuro-muscolare, con obiettivo di indagare l'impatto di uno stile di vita sedentario su soggetti giovani e sani.

I test in vivo sono stati svolti per prassi su gamba destra, mentre la biopsia su gamba sinistra. Precedentemente si era tenuto conto in un file della gamba dominante riferita dai soggetti, nonostante ciò, per questioni organizzative e a prescindere da gamba destra o sinistra, si è seguito quanto sopra.

Ai partecipanti è stato chiesto di presentarsi a digiuno e di non consumare caffè la mattina stessa dei test, oltre all'evitare alcool e attività fisica intensa il giorno precedente.

I test svolti sono stati:

- Biopsia e prelievo: biopsia del muscolo vasto laterale (*previa anestesia locale*) e prelievo sono stati svolti a digiuno. Nel prelievo è stato raccolto siero e plasma, ed un ulteriore provetta per la valutazione dell'HOMA Index (*parametro che permette di valutare la resistenza insulinica e la funzionalità delle cellule beta del pancreas*) calcolato con glicemia e insulinemia a digiuno.
- Ecografia muscolare: l'architettura muscolare (*ecografia longitudinale*) è stata presa al 50% della lunghezza del femore (*LF*), mentre la *Cross Sectional Area (CSA)* al 30-50-70% della *LF*. La *CSA* è stata presa tramite ecografia trasversale.
- Ecografia Vascolare: si è valutato lo stato di salute delle arterie e vene femorali (*possibili restringimenti e/o eventuale presenza di coaguli di sangue*) e l'afflusso di sangue a livello del quadricipite durante movimento passivo della gamba destra.
- Test neuromuscolari: sono stati svolti test neuromuscolari sulla Massima Contrazione volontaria, misurata con due metodi; elettromiografia intramuscolare ad aghi ed elettromiografia ad alta densità (*MVC+iEMG+HD EMG*). I seguenti test hanno valutato la forza di Massima Contrazione Volontaria (*MCV*) isometrica della gamba destra (*leg extension*), per poi sottoporre i partecipanti ad ulteriori prove modulando l'intensità a diverse percentuali (25-50%) della forza di *MVC* registrata nelle prime prove.
- Test Cardiopolmonare: test incrementale da sforzo svolto su bike. L'intensità dello sforzo è stata graduata e valutata tramite cardiofrequenzimetro e valutazione personale tramite la scala di percezione dello sforzo (*scala di Borg*).

Le giornate di test sono cominciate il 23 maggio e si sono susseguite fino al termine il 21 giugno.

3.4 Ecografia Muscolare

L'ecografia muscolare o muscolo-tendinea, è una tecnica di imaging medico che utilizza ultrasuoni ad alta frequenza per visualizzare le componenti muscolari, tendinee e scheletriche.

Altre modalità di imaging sono la Risonanza Magnetica (*MRI*) o la Tomografia Computerizzata (*TC*).

L'ecografia muscolare, metodica utilizzata in questa tesi, ha diversi vantaggi:

- Permette una risposta real-time: le immagini in tempo reale permettono di osservare le articolazioni, movimenti, ed eventuali contrazioni muscolari.
- È una tecnica non invasiva: nelle Eco vengono utilizzate onde sonore e non radiazioni ionizzanti, ciò le rende prive di rischi.
- Accessibilità: vengono svolte con macchine che possono essere utilizzate anche in ambito non ospedaliero.
- Costi relativamente bassi rispetto ad altre tecniche di imaging.
- Valutazione dinamica delle strutture durante i movimenti

3.4.1 Materiali per ecografia muscolare

Per realizzare le ecografie abbiamo utilizzato l'ecografo "Esaote Mylab 70 Xvision" (figura 1)



Figura 1: ecografo "Esaote Mylab 70 Xvision"

L'ecografo si compone essenzialmente di tre parti:

- Trasduttore: è una sonda che emana onde sonore ad alta frequenza e che tramite contatto con la pelle trasmette e riceve il segnale traducendolo in tempo reale in immagini visibili sullo schermo.
- Sistema elettrico
- Sistema di visualizzazione (*schermo*)

Per aumentare la conduttività degli ultrasuoni attraverso il derma ed i tessuti sottostanti, ridurre l'attrito allo scorrimento della sonda sulla pelle e annullare la resistenza opposta dall'aria alla propagazione delle onde sonore viene applicato sulla sonda un gel trasparente

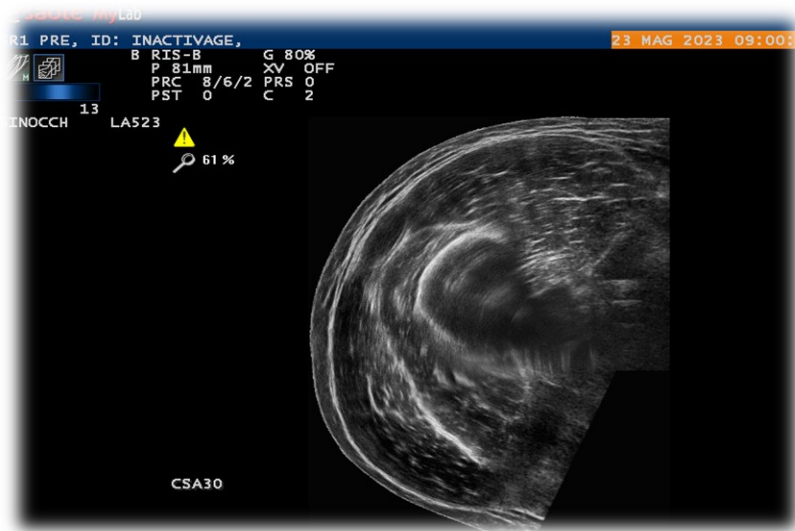
3.4.2 Ecografia trasversale e criteri di standardizzazione

L'ecografia muscolare trasversale è una tecnica non invasiva, che permette di visualizzare immagini bidimensionali delle strutture interne del muscolo.

L'eco trasversale è nota anche come scansione trasversale o sezione trasversale.

Nelle eco trasversali si può immaginare di tagliare il muscolo trasversalmente e di vederne l'interno; infatti, le immagini acquisite avvengono come un taglio sul piano trasverso del muscolo, dividendolo in una metà superiore e inferiore.

Nella sezione trasversa del quadricipite (*figura 2*) sono visibili le strutture interne del muscolo: dall'esterno all'interno troviamo il tessuto epiteliale, il grasso sottocutaneo, le strutture connettivali (*fascia, epimysio, perimysio*), i muscoli vasto laterale, retto femorale, vasto mediale e intermedio. Sono inoltre visibili i fasci di fibre muscolari.



*Figura 2: ecografia trasversale del quadricipite femorale SR1
gamba destra al 30% della lunghezza del femore*

Durante l'acquisizione delle ecografie trasversali è stato utilizzato per tutti i partecipanti lo stesso protocollo con dei criteri standard da utilizzare.

I criteri di standardizzazione sono stati:

- Ecografie svolte esclusivamente su gamba destra a prescindere se fosse o meno l'arto inferiore dominante
- Misurazione della lunghezza del femore dei partecipanti partendo lateralmente dalla testa del femore fino all'epicondilo laterale del perone (*punti di riferimento anatomici osservabili e palpabili*)
- Suddivisione della lunghezza in % (*figura 3*): in base alla lunghezza del femore sono state fatte delle linee con l'indelebile per fissare il 30-50-70% della lunghezza del femore. Rispettivamente il 30% corrisponde alla parte più prossimale,



Figura 3: Arto dx con suddivisione 30-50-70% LF

mentre il 70% (*più vicino all'inserzione distale*) alla parte più distale. Il 50% è considerato il "*punto standard*" perché si vedono, tramite ecografia, tutti i capi del quadricipite.

- Per ogni % sono state prese un minimo di due immagini, così da selezionare la migliore al momento della misurazione della CSA.
- Ai partecipanti era stato richiesto di non svolgere attività fisica intensa il giorno antecedente alla prima seduta (*dopo la settimana di controllo*) di test biomedici.

- Ai partecipanti è stato richiesto di ripassare le linee prese nella prima seduta di raccolta immagini, in modo da poter effettuare le scansioni trasversali post periodo di SR nei medesimi punti.

3.4.3 Procedura di acquisizione scansioni trasversali

Per acquisire le immagini trasversali è stata seguita la stessa procedura in entrambe le fasi del progetto (*Pre-SR e Post-SR*).

Quindi, dopo aver fatto sdraiare i soggetti sul lettino, è stata misurata la LF e suddivisa in base alle % prefissate, rispettando i criteri di standardizzazione e il protocollo del progetto di ricerca.

In seguito, abbiamo applicato il gel trasparente alla sonda e dato avvio alla registrazione delle ecografie trasversali.

Come scritto precedentemente (rimando *al paragrafo 3.4.2 Ecografia trasversale e criteri di standardizzazione*) abbiamo svolto le ecografie sulla gamba destra e voluto salvare almeno due scansioni della CSA per ogni % di sezione del muscolo (*Figura 4.1, 4.2, 4.3*).

È stato chiesto ai partecipanti di rilassare completamente la zona da analizzare, in quanto la rigidità o contrazione muscolare (*anche minima*) avrebbe alterato le successive analisi delle immagini riducendone le dimensioni.

Sono state, in alcuni casi, necessarie delle modifiche per migliorare la qualità delle immagini registrate dall'ecografo (*zoom, luminosità, scala utilizzata*) e per consentire di comprendere nelle scansioni l'intera sezione del muscolo (*intra-extra rotazione arto inferiore dx*). Per ogni immagine (30-50-70% LF) Pre e Post SR ho misurato l'area dei muscoli estensori del ginocchio (*vasto laterale, retto femorale, vasto mediale e vasto intermedio*). I dati forniti dalla misurazione sono stati l'area del muscolo in cm² e l'eco-intensità, relativi all'area di sezione del muscolo in % della LF.



Figura 4.1: CSA30 SR4 Pre-SR

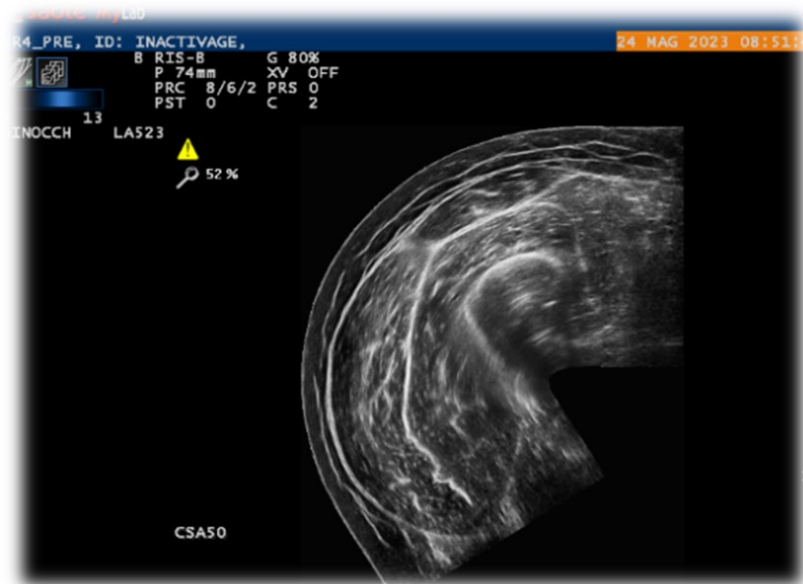


Figura 4.2: CSA50 SR4 Pre-SR



Figura 4.3: CSA70 SR4 Pre-SR

3.5 CSA estensori del ginocchio e raccolta dati

La scelta delle immagini si è basata su due presupposti:

- Qualità grafica.
- Completezza dell'ecografia in termini di delimitazioni muscolari.

La misurazione delle CSA l'ho svolta utilizzando un programma informatico di elaborazione digitale delle immagini "ImageJ".

Per ogni immagine ho ricalibrato la scala per la misurazione dell'area, fissandola ad 1 cm. È stato un accorgimento necessario in quanto, alcune ecografie, erano state salvate con zoom differente.

"ImageJ" ha permesso di misurare l'area degli estensori del ginocchio andando a delimitare, con appositi strumenti, i bordi dei muscoli (figura 5).

Per ogni immagine (30-50-70% LF), Pre e Post SR, ho misurato l'area dei mm. estensori del ginocchio

(*vasto laterale, retto femorale, vasto mediale e vasto*

intermedio). I dati forniti sono stati l'area dei muscoli in cm^2 e l'eco-intensità, relativi all'area di sezione del muscolo in % della LF.



Figura 5: Misurazione Area (CSA70) Retto Femorale SR2 pre-SR con "ImageJ"

Ho svolto la procedura per tutte le ecografie dei partecipanti. Prima e dopo la SR eccetto che per SR10, del quale non sono riuscita a misurare l'area

Post-SR dei mm. estensori del ginocchio al 70%LF, in quanto le immagini si presentavano troppo sfocate e con margini indefiniti.

Per completare la raccolta dati, oltre a quelli ottenuti dalla misurazione della CSA con “Imagej”, ho calcolato, tramite *Excel*, la media totale del muscolo considerato, in tutte le aree di sezione, per lo stesso soggetto (*Pre-SR e Post-SR*). Ad esempio, la media (che verrà chiamata *MEAN* delle aree del muscolo vasto laterale di SR1 al 30-50-70% della LF Pre-SR (tabella 1.1)).

VL				
	30%LF	50%LF	70%LF	MEAN
SR1 (CSA in cm ²)	12,351	22,929	19,397	18,226

Tabella 1.1: Parte dei dati raccolti su foglio lavoro *Excel*. Vengono riportate le misure dell'area del muscolo Vasto Laterale (VL) di SR1 nelle diverse aree di sezione rispetto alla Lunghezza del Femore. Nell'ultima colonna è riportata la media delle misure sopra citate. Tabella Pre-SR.

Inoltre, ho calcolato la media e la deviazione standard (*tabella 1.2*) delle misure delle aree relative ad un muscolo (*es. Vasto Laterale*) di tutti i partecipanti prima e dopo la SR.

Partecipanti	VL - MEAN – CSA cm ²
SR1	18,226
SR2	19,390
SR3	17,423
SR4	12,571
SR5	10,862
SR6	17,019
SR7	10,245
SR8	Escluso
SR9	13,928
SR10	14,730
MEDIA	14.93
DEVIAZIONE STANDARD	3,29

Tabella 1.2: Parte dei dati raccolti su foglio di lavoro Excel e relativo calcolo della media e deviazione standard delle misure. Tabella Pre-SR.

4) ANALISI STATISTICA E RISULTATI

4.1 Analisi statistica dei dati

Per l'analisi statistica dei dati ho utilizzato il software “*GraphPad Prism 9.2.0*”, dal quale ho ricavato anche i grafici seguentemente illustrati.

I dati relativi alla CSA al 30-50-70%LF e la media del muscolo nelle relative sezioni d'area di ogni partecipante (*es. SR1 – media del vasto laterale CSA al 30-50-70%LF*) prima e dopo la SR sono stati messi a confronto.

Nell'analisi statistica (*3.1 campione statistico*) il campione è stato composto di 9 soggetti. Tutti hanno portato a termine la ricerca, nonostante ciò, SR8 è stato completamente escluso per non aver rispettato i criteri stabiliti durante il periodo di SR; SR8 non ha rispettato la media giornaliera di passi richiesta (<1500 passi) ma ha effettuato un numero maggiore di passi rispetto alla settimana di monitoraggio base-line, effettuata per verificare che i volontari rientrassero nei criteri di selezione (*es. soggetti moderatamente attivi, >7000 passi/giorno*). A discapito di ciò abbiamo, per forza di cose, dovuto escluderlo dalla ricerca.

Inoltre, l'analisi statistica post SR al 70%LF è stata svolta con un campione statistico di 8 soggetti, in quanto (rimando 3.5 CSA estensori del ginocchio e raccolta dati) in SR10 non è stato possibile misurare l'area dei muscoli al 70%LF post SR (*Tabella 2*).

SR 1	SR 2	SR 3	SR 4	SR 5	SR 6	SR 7	SR8	SR 9	SR10
M	M	M	F	F	M	F	M	F	F
							Escluso (>1500 passi/giorno o durante SR)		Impossibilità di misurare CSA 70%LF Post SR

Tabella 2: Campione statistico finale della ricerca. Ad ogni colonna troviamo il partecipante (SR) e il sesso corrispondente (M=maschio, F=femmina). SR8 è stato escluso dalla ricerca dopo l'analisi dati. In SR10 mancano l'area del mm. estensori al 70%LF Post SR.

4.2 Normality and Lognormality Tests e t-test per dati appaiati

Per valutare quale fosse il test, parametrico o meno, ideale per comparare i dati delle aree prima e dopo SR ho utilizzato un “*Normality and Lognormality Tests*”.

Il test, oltre a (o al posto di) testare la normalità, verifica anche la lognormalità; ossia ci dice se è più probabile che i dati siano stati campionati da una distribuzione normale (*gaussiana*) o lognormale.

Da questo test derivano i grafici “*Normality QQ-plot*”; essi sono la rappresentazione grafica dei quantili di una distribuzione (*i dati del nostro campione Pre-SR*) rispetto i quantili di una seconda distribuzione (*i dati del nostro campione Post-SR*). Insieme al *QQ-Plot* viene disegnata anche la retta $y=x$ (*retta tratteggiata nelle figure 6.1, 6.2, 6.3, 6.4*) che identifica il caso ideale di due distribuzioni identiche per le quali i quantili sono identici.

Quando i dati giacciono pressoché sulla retta $y=x$, si parla di distribuzione normale. I grafici “*Normality QQ-plot*” sono degli strumenti grafici, che ci hanno confermato a vista d’occhio, in modo rapido e semplice, la provenienza dei nostri dati (*figura 6.1, 6.2, 6.3, 6.4*).

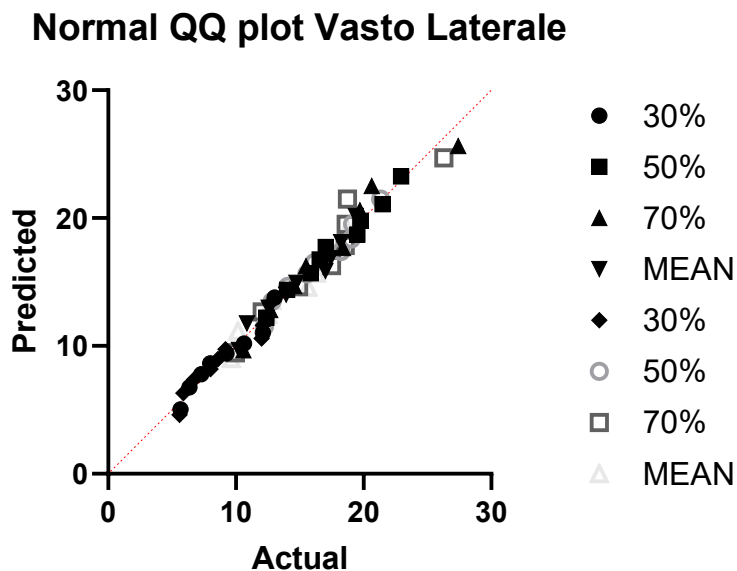


Figura 6.1: Grafico Normal QQ plot vasto laterale

Normal QQ plot Retto Femorale

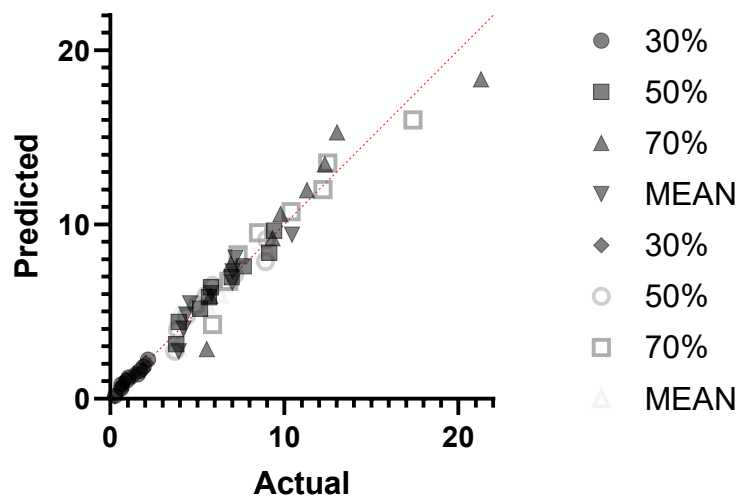


Figura 6.2: Grafico Normal QQ plot retto femorale

Normal QQ plot Vasto Mediale

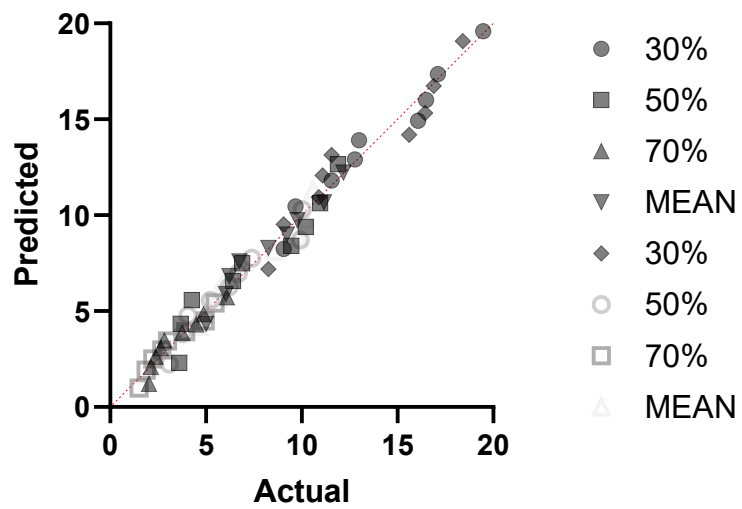


Figura 6.3: Grafico Normal QQ plot Vasto Mediale

Normal QQ plot Vasto Intermedio

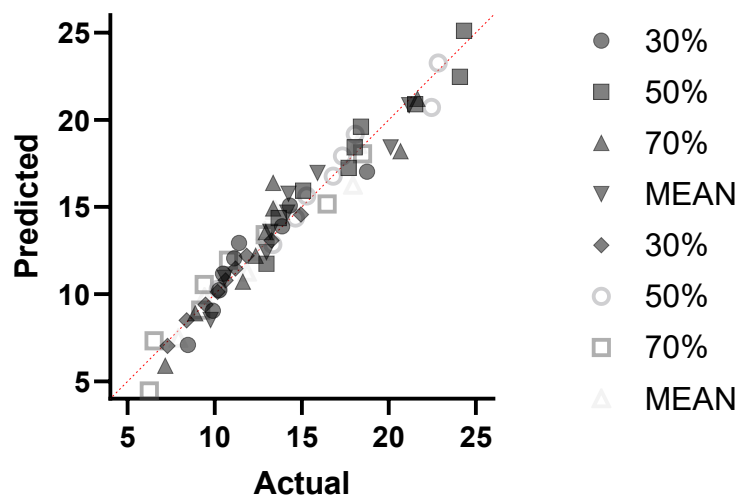


Figura 6.4: Grafico Normal QQ plot Vasto Intermedio

Verificata la normalità dei dati (presupposto fondamentale per poter proseguire) ho utilizzato un “t-test per dati appaiati”.

Il “t-test per dati appaiati” è un test parametrico che può essere utilizzato per analizzare misurazioni appaiate. Nella nostra ricerca si parla di dati (*aree dei muscoli*) riguardanti il “*prima e il dopo*” nello stesso gruppo di individui.

Quindi, per poter avvalersi del “*t-test delle coppie corrispondenti*” (utilizzato per studiare le differenze tra misure appaiate) devono sussistere i seguenti assunti:

- I soggetti devono essere indipendenti (*le misurazioni di un soggetto non devono influire su quelle altrui*).
- Le misurazioni appaiate devono essere ottenute dallo stesso soggetto (*es. Area 30%LF del vasto mediale SR2 alla fine e all’inizio del periodo di SR*).
- Le differenze misurate devono avere una distribuzione normale.

Ho svolto il “t-test per dati appaiati” di ogni muscolo nella sezione di area misurata (*es. paired t-test del VL30%LF, paired t-test VL 50%LF, paired t-*

test VL 70%LF, paired t-test mean VL etc.) confrontando le misure dell'area pre-SR con le corrispondenti misure post-SR.

Per ogni “*paired t-test*” svolto (*totale 16*) sono stati forniti dei risultati.

Al fine della nostra ricerca sperimentale ho preso in considerazione il *P-value* di ogni *t-test* effettuato.

4.3 *P-value* e livello di significatività

Il valore di *P*, in inferenza statistica, è utilizzato quale strumento di lettura dei test.

Il *P-value* è un *valore di probabilità*, che concretamente indica la probabilità che quanto vogliamo sostenere sia corretto, seppur con un leggero margine d'errore.

Il *P-value* è direttamente correlato al *livello di significatività (alpha)*. Il livello di significatività è la soglia che indica se un determinato risultato può essere considerato statisticamente significativo. Nella pratica scientifica il valore alpha è deciso a priori; generalmente nelle ricerche scientifiche (*come avvenuto nella nostra*) si adotta un valore $\alpha=0.05$. *Alpha* impostato a 0.05 ci dice che le nostre analisi hanno il 5% di possibilità di restituire un risultato significativo; infatti, il rapporto impostato di $1/20$ (0.05) è ritenuto sufficientemente piccolo da concludere che sia improbabile che la differenza osservata, ove il valore *P* indichi la presenza di significatività dei risultati, sia dovuta al semplice caso.

Semplificando, il livello di significatività indica quanto deve essere grande la differenza tra i due punteggi medi affinché il risultato sia statisticamente significativo.

In termini numerici:

- $P\text{-value} \geq \alpha$ con $\alpha=0.05$; il valore di *P* eguaglia o supera il valore fissato per alpha, ciò indica che non vi è differenza statistica

rilevante sulla variabile considerata (risultati statisticamente non significativi).

- $P\text{-value} < \alpha$ con $\alpha=0.05$; il valore P è inferiore al valore di soglia, indicando una differenza statistica dei dati analizzati (risultati statisticamente significativi)

Nella nostra ricerca sperimentale la variabile considerata è l'area del mm. estensori del ginocchio prima e dopo il periodo di *SR*.

Un basso livello di significatività ($P\text{-value} \geq 0.05$) indica che non vi sono stati cambiamenti significativi dell'area del mm. estensori del ginocchio a seguito del periodo di riduzione dei passi, al contrario, un alto livello di significatività

($P\text{-value} < 0.05$) è riscontrato ove vi sia stata una riduzione statisticamente significativa della massa muscolare del quadricipite in seguito a *SR*.

4.4 Risultati

I valori del *P-value* nei “*paired t-test*” sono riportati nella tabella sottostante (*tabella 2*):

Muscoli	<i>P-value</i>			
	30%LF	50%LF	70%LF	MEAN
VL	0.0794	0.0566	0.070	0.0118
RF	0.0307	0.0194	0.0551	0.0080
VM	0.0124	0.0340	0.3202	0.0200
VI	0.0203	0.0095	0.0029	0.0022

Tabella 2: valori riscontrati del P-value a seguito dei “paired t-test” svolti. Rispettivamente sulla prima colonna sono riportate le iniziali del muscolo estensore del ginocchio (es. VL = Vasto laterale, RF=retto femorale, VM=vasto mediale, VI=vasto intermedio) cui i risultati si riferiscono. Nella prima riga è specificata la % della lunghezza del femore (LF) a cui i risultati fanno riferimento.

Nei risultati riportati nella *tabella 2* è necessario ricordare che i “*t-test per dati appaiati*” sono stati svolti al 30-50%LF con 9 coppie di dati, mentre al 70%LF e nella media sono stati confrontati 8 coppie di dati.

Dai valori riportati nella *tabella 2* si evince che valori di *P* statisticamente non significativi ($P\text{-value} \geq 0.05$) sono risultati:

- Nel Vasto Laterale al 30%LF ($0.0794 > 0.05$) e al 50%LF ($0.0566 > 0.05$)
- Nel Retto Femorale al 70%LF ($0.0551 > 0.05$).
- Nel Vasto Mediale al 70%LF ($0.3202 > 0.05$)

Dai risultati (*tabella 2*) abbiamo ottenuto risultati significativi ($P\text{-value} < 0.05$):

- Nel Vasto Laterale al 70%LF ($0.070 < 0.05$) e nella mean ($0.0118 < 0.05$).
- Nel Retto Femorale al 30%LF ($0.0307 < 0.05$), al 50%LF ($0.0194 < 0.05$) e nella mean ($0.0080 < 0.05$).
- Nel Vasto Mediale al 30%LF ($0.0124 < 0.05$), al 50% ($0.0340 < 0.05$) e nella media ($0.0200 < 0.05$)

- Nel Vasto Intermedio al 30%LF ($0.0203 < 0.05$), al 50%LF ($0.0095 < 0.05$), al 70%LF ($0.0029 < 0.05$) e nella mean ($0.0022 < 0.05$).

4.5 Media e Deviazione Standard

Vengono riportate le tabelle (*tabella 3.1 e 3.2*) con i risultati relativi alla Media e alla Deviazione Standard delle aree dei mm. estensori del ginocchio Pre-SR e Post-SR (rimando al paragrafo 3.5 CSA estensori del ginocchio e Raccolta Dati e alla *Tabella 1.2*).

Ho svolto i calcoli tramite l'uso di Excel.

Tabella Media \pm DS Pre-SR:

Muscoli	30%LF	50%LF	70%LF	MEAN
Vasto Laterale	9,41 \pm 2,75	17,73 \pm 3,47	17,65 \pm 5,01	14,93 \pm 3,29
Retto Femorale	1,22 \pm 0,65	6,40 \pm 2,05	10,59 \pm 4,86	6,07 \pm 2,10
Vasto Mediale	13,91 \pm 3,56	7,48 \pm 3,25	3,47 \pm 1,42	8,29 \pm 2,47
Vasto Intermedio	12,06 \pm 3,12	18,42 \pm 4,19	13,55 \pm 4,81	14,68 \pm 3,87

Tabella 3.1

Tabella Media \pm DS Post-SR

Muscoli	30%LF	50%LF	70%LF	MEAN
Vasto Laterale	8,97 \pm 2,74	16,51 \pm 3,13	17,08 \pm 4,97	14,08 \pm 3,08
Retto Femorale	1,10 \pm 0,60	5,92 \pm 2,01	10,13 \pm 3,82	5,47 \pm 1,87
Vasto Mediale	13,13 \pm 3,73	6,27 \pm 2,53	3,21 \pm 1,45	7,76 \pm 2,32
Vasto Intermedio	10,80 \pm 2,37	16,78 \pm 4,07	11,25 \pm 4,43	13,04 \pm 3,62

Tabella 3.2

Confrontando le due tabelle (*tabella 3.1 e 3.2*) risulta che:

- Tutte le medie sono diminuite a seguito delle due settimane di *SR*.
- Quasi tutte le *DS* sono diminuite nel *Post-SR* rispetto al *Pre-SR*.
Fa eccezione il Vasto Mediale ove riscontriamo un aumento della *DS* al *30%LF* (3,56 vs 3,73) e al *70%* (1,42 vs 1,45).
Si è mantenuta quasi uguale la *DS* del Vasto Laterale al *30%LF* (2,75 vs 2,74).

La riduzione, dopo le due settimane di inattività fisica, dei dati relativi alla Media significa che c'è stata una riduzione dell'area dei mm. estensori del ginocchio.

La *DS* indica se la variazione tra le medie dei partecipanti si è mantenuta simile a seguito del periodo di *SR*.

Se diminuita nel *Post-SR* vuol dire che i valori medi dei partecipanti sono variati meno rispetto al *Pre-SR*, viceversa se, come avvenuto nei due casi sopracitati, è aumentata vuol dire che i valori medi dei partecipanti sono stati soggetti a maggior variazione a seguito della riduzione dei passi rispetto alla settimana di controllo.

Casi in cui la *DS*, riportata prima e dopo la *SR*, si sia mantenuto pressoché identica, indica che la quantità di variazione nei valori medi dei soggetti è stata simile in entrambi i periodi.

4.6 Grafici dei risultati

Ho realizzato i grafici (*figura 7.1, 7.2,7.3,7.4*) con il programma “*Graph Pad Prism 9.2.0*”.

Nelle seguenti figure sono riassunti i risultati dei due paragrafi precedenti.

Sull’asse delle ascisse è indicata la lunghezza del femore con % relative della sezione muscolare analizzata (30-50-70%) e la media (*mean*) delle misure, mentre sull’asse delle ordinate (*verticale*) sono riportate le misure delle *CSA* in cm^2 .

Ad ogni barra del *Pre-SR* ho affiancato la relativa barra del *Post-SR*, differenziandole attribuendo alle barre del *Pre-SR* le righe bianche nere e alle barre *Post-SR* il colore nero.

La linea verticale, sopra alle barre, indica la Deviazione Standard (*rimando alle tabelle 3.1 e 3.2 del paragrafo precedente*). La *DS* è un parametro che ci dice quanto i valori dei partecipanti, a seguito della riduzione dei passi, sono cambiati intorno al valore medio.

Le linee orizzontali con l’asterisco, inserite in corrispondenza delle relative barre del prima e dopo *SR*, evidenziano la presenza di valori di *P-value* significativi (*rimando al paragrafo 4.4 “Risultati” e alla tabella 2*).

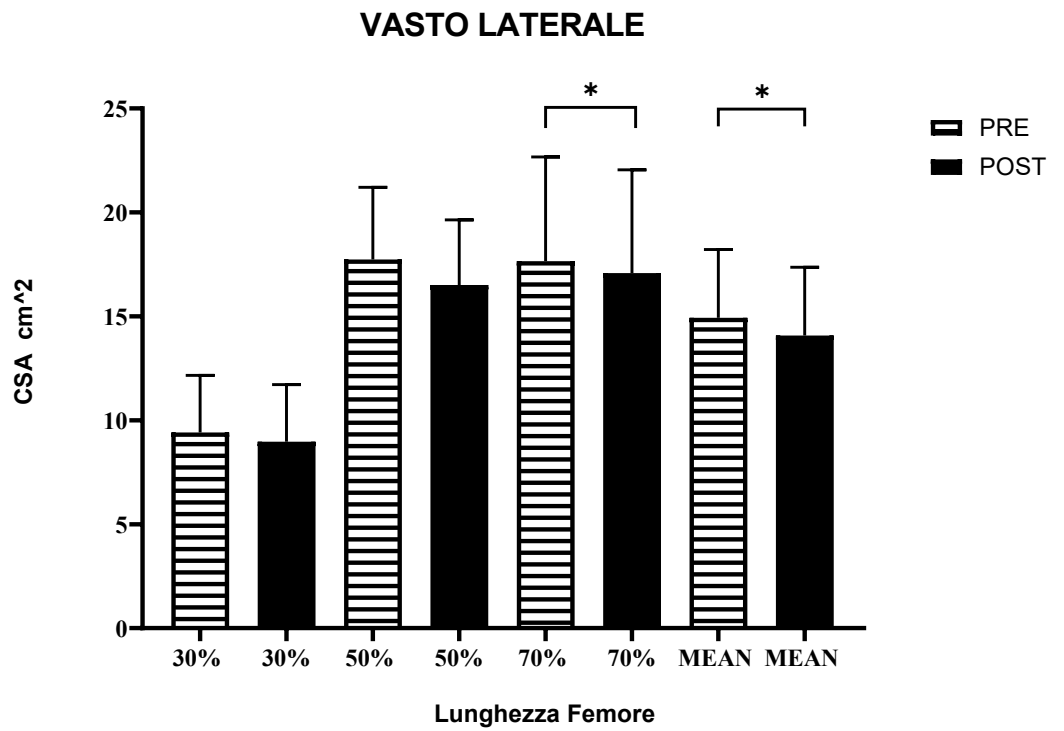


Figura 7.1: Grafico delle misure della CSA pre-SR a confronto con le misure della CSA post-SR del Vasto Laterale nelle diverse aree di sezione.

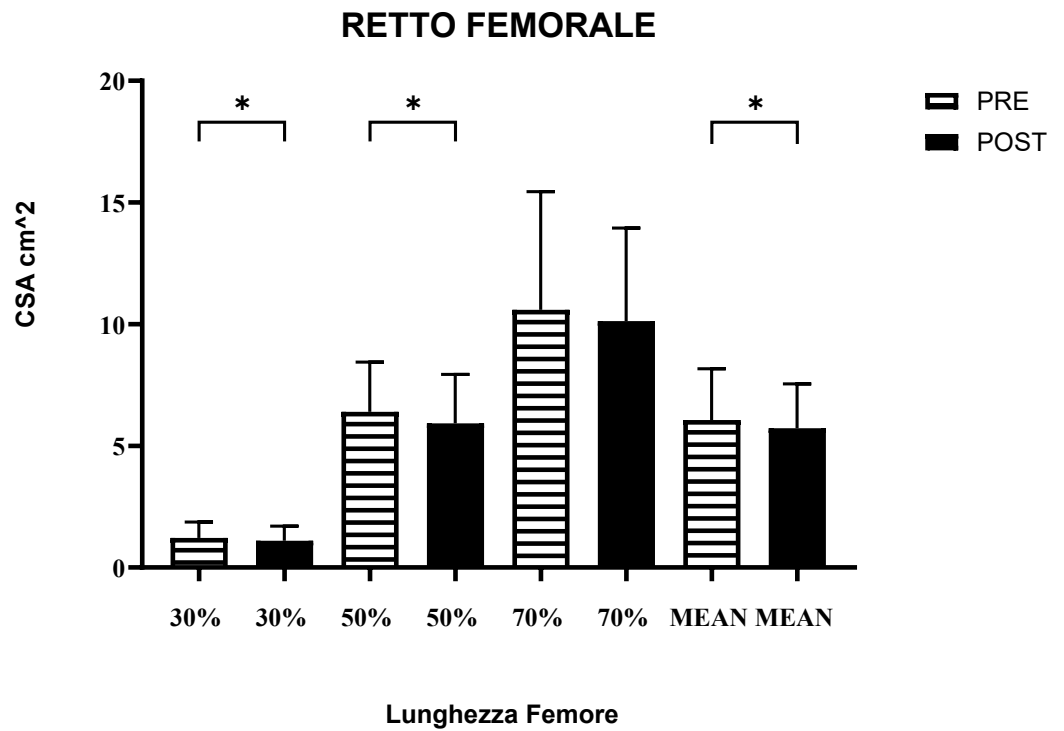


Figura 7.2: Grafico delle misure della CSA Pre-SR a confronto con le misure della CSA post-SR del Retto Femorale nelle diverse aree di sezione.

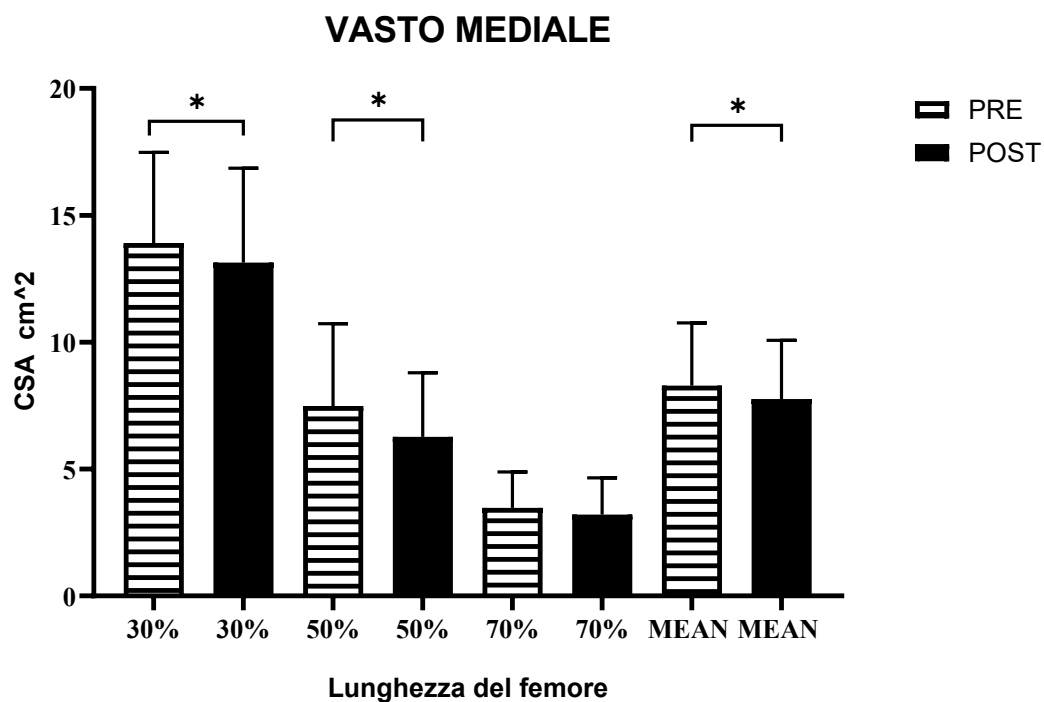


Figura 7.2: Grafico delle misure della CSA Pre-SR a confronto con le misure della CSA post-SR del Vasto Mediale nelle diverse aree di sezione

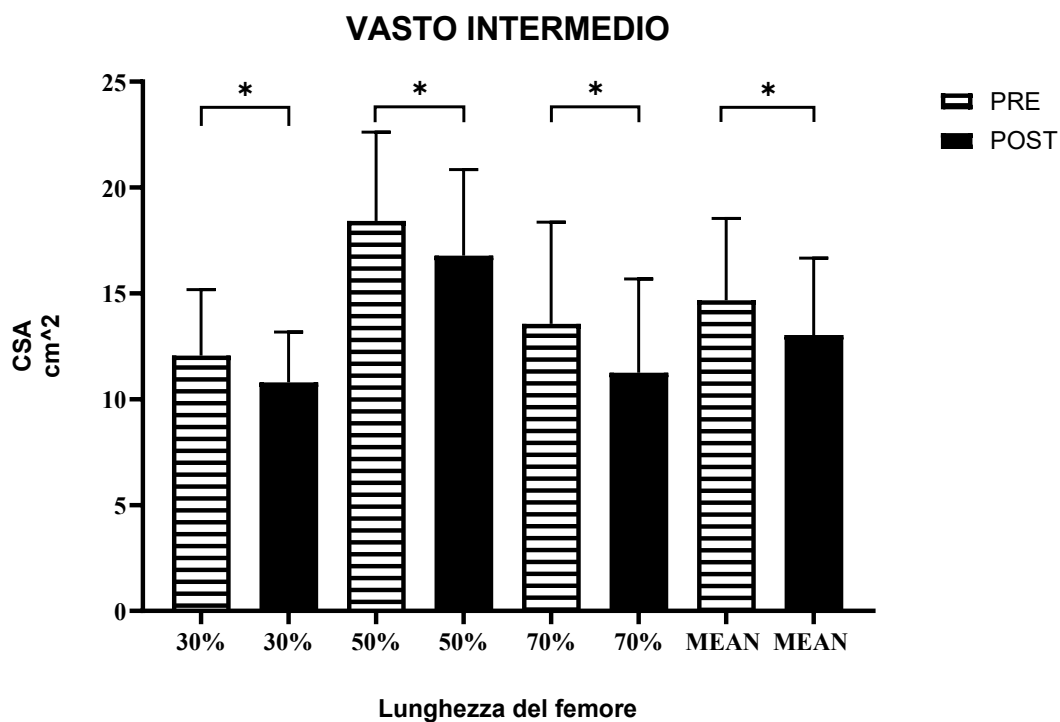


Figura 7.4: Grafico delle misure della CSA Pre-SR a confronto con le misure della CSA post-SR del Vasto Intermedio nelle diverse aree di sezione

5) DISCUSSIONE

I risultati sopra esposti dimostrano che un periodo di riduzione dei passi (*SR di 2 settimane, media giornaliera di passi < 1500*) in soggetti giovani e sani (*età compresa tra i 18 e i 35 anni*), comporti un'atrofia muscolare (*diminuzione della massa muscolare dei mm. estensori del ginocchio*).

Dal paragrafo 4.6 (*Grafici dei risultati*) notare come i dati raccolti delle aree dei mm. estensori del ginocchio siano, anzi tutto, attendibili sul profilo anatomico.

Il Vasto Laterale (*figura 7.1*) è un capo muscolare che si presenta prossimalmente meno esteso e accresce di dimensione a mano a mano che ci si porta verso l'inserzione distale (*crescita evidente dal 30 al 50% della LF, mentre dal 50 al 70% LF accresce relativamente poco*).

Il Retto Femorale (*figura 7.2*) ha un andamento di esponenziale crescita di dimensione dalla sezione muscolare prossimale a quella distale sulle quali abbiamo calcolato l'area; perciò, è di piccolissime dimensioni al 30%LF e aumenta esponenzialmente al 70%LF.

Il Vasto Mediale (*figura 7.3*) si presenta esteso al 30%LF e diminuisce esponenzialmente al 70%LF; esso ha un andamento decrescente in termini di area, presentando un decorso opposto al Retto Femorale.

Il Vasto Intermedio (*figura 7.4*) tende a raggiungere il picco di dimensione al 50%LF, diminuendo al 70%LF, ma mantenendosi leggermente più esteso rispetto al 30%LF.

In termini di *P-Value* (*rimando al paragrafo 4.4 Risultati – tabella 2*) risultati statisticamente significativi sono stati riscontrati in quasi tutte le sezioni d'area (*30-50-70%LF*) dei capi muscolari del quadricipite. Il decremento della CSA (cm^2) è graficamente semplificata nelle *figure 7.1, 7.2, 7.3, 7.4*, ove le barre del Post-SR siano meno sviluppate in altezza rispetto a quelle che le precedono, quest'ultime riassuntive dei dati raccolti nella settimana di controllo base-line Pre-SR.

È stato importante, nel nostro studio, non soffermarci solo su una sezione d'area muscolare. L'aver misurato le CSA a varie lunghezze del femore, ha fornito più dati da analizzare, fornendoci un riscontro più preciso. Infatti, la diminuzione dei capi muscolari non è stata omogenea e/o identica ad ogni lunghezza del femore; il rischio sarebbe stato quello di soffermarsi solo su una regione muscolare, limitandoci ad un solo dato, non tenente conto dell'intera espansione del muscolo.

A dimostrazione di quanto scritto sopra, è di nostro interesse evidenziare che, risultati statisticamente non significativi del *P-value* (≥ 0.05) sono stati riscontrati in alcuni casi (*VL al 30-50%LF, RF al 70%LF e VM al 70%LF*), mentre in tutte le misure relative alla "MEAN" (*ultime due colonne delle figure al paragrafo 4.6*) si siano ottenuti *P-value* < 0.05 , ossia statisticamente significativi.

Ciò dimostra che, complessivamente delle sezioni d'area misurate e dei partecipanti, tutti i capi del muscolo quadricipite hanno riscontrato a seguito del periodo forzato di inattività fisica una riduzione della *CSA*.

Se ci fossimo limitati ad analizzare la *CSA* dei capi muscolare, ad esempio solo al *70%LF*, avremmo indubbiamente ottenuto risultati parziali.

Riferendoci ai *P-value* delle Medie (*MEAN*) troviamo in ordine crescente:

Muscolo	<i>P-Value (MEAN)</i>
Vasto Intermedio	0.0022
Retto Femorale	0.0080
Vasto Laterale	0.0118
Vasto Mediale	0.0200

Tabella 8: risultati statisticamente significativi ($P\text{-value} < 0.05$) dei risultati relativi alla MEAN dei mm estensori del ginocchio; indicando che sono stati ottenuti risultati statisticamente significativi in tutti i capi muscolari del quadricipite.

Essi, come scritto in precedenza, sono tutti valori < 0.05 .

A fronte di questi risultati, possiamo affermare che il capo muscolare che ha risentito maggiormente delle due settimane di *SR* è stato complessivamente (*considerando tutti i partecipanti e analizzando i valori della MEAN*) il

Vasto Intermedio; esso è l'unico capo muscolare ove nel grafico corrispondente (*figura 7.4*) abbiamo riscontrato, a seguito dell'analisi statistica, *P-value* significativi (*linee orizzontali con asterisco*) nella *MEAN*, così come in tutte le misure nelle diverse aree di sezione.

Nei 14 giorni di *SR* la media della *CSA* relativa alla *MEAN* (*valore comprendente tutte le misure delle CSA prese alle diverse %LF, e riassuntiva di tutto il campione statistico*) è diminuita rispettivamente (*in ordine decrescente*):

- Vasto Intermedio: 11,1%, con un tasso giornaliero dello 0,8%.
- Retto femorale: 9,8%, con tasso giornaliero dello 0,7%.
- Vasto Mediale: 6,3%, con tasso giornaliero dello 0,45%.
- Vasto Laterale: 5,7 %, con tasso giornaliero dello 0,4%.

Durante le due settimane di inattività la dimensione del quadricipite, si è ridotta complessivamente dell'8,2%, con una perdita di massa muscolare giornaliera dello 0,58%.

La riduzione di massa muscolare del quadricipite dei nostri partecipanti, rispetto ad uno studio di completo disuso muscolare (*bed rest*), esposto nell'articolo scientifico "*The impact of Step Reduction on Muscle Health in Aging: Protein and Exercise as Countermeasures*", e che ha misurato la perdita di massa muscolare in tutto il corpo a seguito di 14 giorni a letto, ha ottenuto la stessa percentuale di diminuzione in tutto il corpo (8,2%) che abbiamo ottenuto noi (*in soggetti giovani*) nel muscolo quadricipite a seguito delle nostre analisi (8,2%). Questo dimostra quanto la *SR* possa essere classificata come una brusca forma di riduzione dell'attività fisica quotidiana nei soggetti giovani.

In un'altra review scientifica "*Pathophysiological mechanisms of reduced physical activity: Insights from the human step reduction model and animal analogues*" troviamo dati riassuntivi interessanti di studi scientifici su diverse forme di riduzione del movimento. Tra i diversi esposti, ho posto attenzione ad un progetto di completo disuso, nel quale due diversi gruppi

di individui adulti sono stati sottoposti ad un periodo di 90 giorni di completa inattività. Il primo gruppo ha svolto, durante l'intero periodo di bed rest, esercizi contro resistenza, che hanno permesso il quasi completo mantenimento del volume del quadricipite (*misurato prima e dopo i 90 gg tramite risonanza magnetica – MRI*). Nel secondo gruppo, non sottoposto a Resistance Training, si è ottenuto, tramite MRI, un declino della massa muscolare del quadricipite intorno al 18%.

Confrontando la nostra percentuale media di riduzione del quadricipite (8,2%) con quella del gruppo non sottoposto a RT (18%), è evidente esserci un declino della massa muscolare più rapido nei giovani piuttosto che negli adulti.

Ciò è confermato anche dal fatto che soggetti giovani sottoposti ad un periodo di re-allenamento (*di uguale durata alla SR*) post-SR rispondano più velocemente al re-allenamento muscolare, rispetto a soggetti adulti o anziani (*recupero parziale*), mostrando un ripristino del volume muscolare completo.

Però, non essendoci studi sulla velocità con cui i soggetti giovani perdano massa muscolare in seguito a SR, ma solo sulla velocità del loro recupero, possiamo ipotizzare che quest'ultimi siano più sensibili alla riduzione del carico meccanico sul muscolo (*nei periodi di parziale o completa inattività fisica*) così come siano soggetti ad un recupero della massa muscolare con più facilità rispetto a soggetti over 60.

Ad oggi risulta comunque difficile confrontare i risultati da noi ottenuti con quelli di altri studi; nessuno aveva mai preso in esame soggetti giovanissimi (*nel nostro caso, nonostante il criterio d'inclusione per età comprendesse soggetti fino a 35 anni, nessun partecipante aveva più di 24 anni*) sottoponendoli ad un protocollo di riduzione dei passi di due settimane. Inoltre, il metodo utilizzato per la misurazione della CSA del quadricipite (*ecografie trasversali*) si differenzia dai metodi utilizzati per la misurazione in altri studi di riduzione dell'attività. C'è poi da aggiungere che è difficile e di dubbia affidabilità paragonare studi che abbiano analizzato i

cambiamenti della CSA di muscoli diversi (*quadricipite vs gastrocnemio*), in soggetti di età non paragonabili (*giovani vs anziani*), e utilizzando modelli di inattività periodica non analoghi (*Step Reduction vs Bed Rest*).

Nonostante ciò, a fronte degli articoli scientifici presi in esame per la realizzazione di questa tesi, la diminuzione di massa muscolare riscontrata in tutti i capi del quadricipite, conferma l'inattività come un parametro di declino della qualità generale di vita, associando oltre alla riduzione di massa e qualità muscolare, peggioramenti del profilo metabolico e altri malesseri riferiti anche dai nostri partecipanti (*aumento incidenza di nausea, vertigini, capo-giri, senso di malessere generale, spossatezza, disturbi del sonno, lombalgie, gonalgie*).

6) CONCLUSIONE

L'obiettivo della tesi è stato verificare se vi fossero cambiamenti della massa muscolare dei muscoli estensori del ginocchio a seguito di 14 giorni di riduzione significativa dell'attività fisica quotidiana.

Abbiamo modificato lo stile di vita dei nostri volontari, che si sono trasformati improvvisamente da soggetti moderatamente attivi ad inattivi o, meglio dire, quasi sedentari.

I dati raccolti hanno mostrato, tramite l'analisi dati, differenze significative; indicando la presenza di cambiamenti della CSA rispetto i test svolti il giorno prima di cominciare la SR (*giorno -1*) e il giorno dopo la sua conclusione (*giorno 15*).

La massa muscolare del quadricipite dei nostri partecipanti è, nelle due settimane, mediamente diminuita dell'8,2%.

Quindi, già 14 giorni di SR hanno creato, in soggetti giovani, modifiche strutturali del quadricipite (*ridotta sezione trasversa*) con aumentata debolezza muscolare.

Se il progetto "*PrinInactive Age*" avesse previsto un periodo di riduzione dei passi più prolungato (*ad esempio 21 giorni*), avremmo, quasi sicuramente, riscontrato un'atrofizzazione muscolare ancora più marcata.

Nel qui presente studio l'attenzione è stata concentrata su proprietà strutturali del muscolo, esulando altri parametri che, secondo altre ricerche scientifiche sulla riduzione del movimento, vengono alterati dall'inattività fisica.

Infatti, brevi periodi di inattività, comportano perdita di massa muscolare (*come dimostrato anche da noi*) e perdita di forza, nonché una compromissione della sensibilità all'insulina ed un aumento dell'infiammazione generale sistemica.

Quindi, periodi di inattività fisica ripetuti, sono fattori che accelerano la perdita di massa muscolare e inducono disfunzioni metaboliche in tutti gli

individui. Per coloro che svolgano una vita insufficientemente attiva (*si attesta che siano circa 1,4 miliardi di individui adulti nel mondo*) ulteriori periodi inattivi, sono responsabili del peggioramento del proprio quadro clinico. Si è visto quanto l'inattività fisica sia dannosa nei soggetti giovani, ma non deleteria quanto nei soggetti anziani. Il declino di massa e forza muscolare (*sarcopenia*) tipica dell'avanzare dell'età, viene accelerata da una vita sedentaria; inoltre è associato un peggioramento della salute generale dell'anziano, il quale è maggiormente soggetto a debolezza muscolare, fragilità ossea, problemi di deambulazione e alterazioni metaboliche.

In conclusione, le ricerche di Step Reduction, sono un'ottima simulazione di periodi inattivi che si riscontrano di frequente nella quotidianità, e che dimostrano attraverso il peggioramento della salute generale dei partecipanti, quanto l'attività fisica sia importante quale strumento (*anche se non l'unico*) di prevenzione a lungo termine.

7) BIBLIOGRAFIA

1. Kenneth S. Saladin (Georgia College & State University), *Human Anatomy*. (2017 by McGraw-Hill Education).
Anatomia Umana, Seconda edizione italiana a cura di Raffaele De Caro, con la collaborazione di Segio Galli, Giovanna Albertin, Anna Sandra Belloni, Veronica Macchi, Andrea Porzionato, Carla Stecco, Cesare Tiengo, Cinzia Tortorella (2017 by Piccin Nuova Libreria S.p.A., Padova).
2. Werner Platzer, *Taschenatlas der Anatomie in 3 Banden, Band 1: Bewegungsapparat – Anatomia Umana (Atlante Tascabile) I Apparato Locomotore (quinta edizione)*, Edizione Italiana a cura di Giovanni E. Orlandini (1975, 2013 by George Thieme Verlag, Stuttgart, Germany – 2015, 2007, 2000, 1987, 1979 C.E.A. Casa Editrice Ambrosiana).
3. Matthew N. Levy, Bruce M. Koeppen, Bruce A. Stanton, *BERNE AND LEVY PRINCIPLES OF PHYSIOLOGY – Fourth Edition* (2006, Elsevier Mosby).
4. Antonio Paoli, Marco Neri, Antonino Bianco, *PRINCIPI DI METODOLOGIA DEL FITNESS* (2013 Erika Srl Editrice).
5. Rivellese – Annunzi – Capaldo – Vaccaro – Riccardi, *NUTRIZIONE UMANA* (2017 Edizioni Idelson – Gnocchi 1908 srl Sorbona – Grasso – Morelli – Liviana Medicina – Grafite).
6. Jones EJ, Bishop PA, Woods AK, Green JM. *Cross-sectional area and muscular strength: a brief review. Sports Med.* 2008;38(12):987-94. doi: 10.2165/00007256-200838120-00003. PMID: 19026016.
7. *Muscle quality EI, Kuschel LB, Sonnenburg D, Engel T. Factors of Muscle Quality and Determinants of Muscle Strength: A Systematic Literature Review. Healthcare (Basel).* 2022 Oct 3;10(10):1937. doi: 10.3390/healthcare10101937. PMID: 36292384; PMCID: PMC9601777.
8. Oikawa SY, Holloway TM, Phillips SM. *The Impact of Step Reduction on Muscle Health in Aging: Protein and Exercise as Countermeasures.*

- Front Nutr.* 2019 May 24; 6:75. doi: 10.3389/fnut.2019.00075. PMID: 31179284; PMCID: PMC6543894.
9. Arnett DK, Blumenthal RS, Albert MA, Buroker AB, Goldberger ZD, Hahn EJ, Himmelfarb CD, Khera A, Lloyd-Jones D, McEvoy JW, Michos ED, Miedema MD, Muñoz D, Smith SC Jr, Virani SS, Williams KA Sr, Yeboah J, Ziaeian B. 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation.* 2019 Sep 10;140(11): e563-e595. doi: 10.1161/CIR.0000000000000677. Epub 2019 Mar 17. Erratum in: *Circulation.* 2019 Sep 10;140(11): e647-e648. Erratum in: *Circulation.* 2020 Jan 28;141(4): e59. Erratum in: *Circulation.* 2020 Apr 21;141(16): e773. PMID: 30879339; PMCID: PMC8351755.
 10. Martinez-Ferran, M.; de la Guia-Galipienso, F.; Sanchis-Gomar, F.; Pareja-Galeano, H. *Impatti metabolici del confinamento durante la pandemia COVID-19 a causa della dieta modificata e delle abitudini di attività fisica. Nutrienti* 2020.
 11. Cartee GD. Aging skeletal muscle: response to exercise. *Exerc Sport Sci Rev.* 1994; 22:91-120. PMID: 7925554.
 12. Sarto F, Bottinelli R, Franchi MV, Porcelli S, Simunič B, Pišot R, Narici MV. Pathophysiological mechanisms of reduced physical activity: Insights from the human step reduction model and animal analogues. *Acta Physiol (Oxf).* 2023 Jul;238(3): e13986. doi: 10.1111/apha.13986. Epub 2023 May 22. PMID: 37178372.
 13. <https://www.istat.it/it/files//2022/07/Impatto-covid-su-ricoveri-ospedalieri-Istat-Agenas.pdf>
 14. https://www.simg.it/Riviste/rivista_simg/2008/04_2008/7.pdf
 15. https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2177_allegato.pdf