



# UNIVERSITÀ DI PARMA

**DIPARTIMENTO DI MEDICINA E CHIRURGIA  
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN PSICOBIOLOGIA E  
NEUROSCIENZE COGNITIVE**

**VALUTAZIONE NEUROVEGETATIVA, NEUROENDOCRINA E  
PSICOMETRICA DI STRESS IN UN CAMPIONE DELLA  
POPOLAZIONE PARMIGIANA**

Relatore:

Chiar.mo Prof. ANDREA SGOIFO

Controrelatore:

Chiar.ma Dott. SARA GAMBETTA

Laureando:

SEBASTIANO RAVENDA

**ANNO ACCADEMICO 2021-2022**

# Indice

ELENCO DELLE ABBREVIAZIONI.....	3
ABSTRACT .....	4
<b>1 INTRODUZIONE .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 ANSIA E DEPRESSIONE .....</b>	<b>7</b>
<i>1.1.1 Depressione .....</i>	<i>8</i>
<i>1.1.2 Disturbi d'ansia .....</i>	<i>8</i>
<b>1.2 STRESS .....</b>	<b>9</b>
<b>1.3 L'IPOTESI DELL'HPA ALTERATO .....</b>	<b>10</b>
<b>1.4 IPOTESI DELL'ALTERAZIONE NEUROVEGETATIVA NELL'ANSIA E NELLA DEPRESSIONE .....</b>	<b>12</b>
<b>2. MATERIALI E METODI .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1 SOGGETTI .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2 PROTOCOLLO SPERIMENTALE .....</b>	<b>15</b>
<i>2.2.1 Consegna del materiale .....</i>	<i>15</i>
<i>2.2.2 Fase sperimentale .....</i>	<i>15</i>
<b>2.3 TEST PSICOMETRICI .....</b>	<b>16</b>
<i>2.3.1 State-Trait Anxiety Inventory .....</i>	<i>16</i>
<i>2.3.2 Scala della depressione del Centro per gli Studi Epidemiologici (CES-D) .....</i>	<i>17</i>
<i>2.3.5 Scala per lo stress percepito (PSS) .....</i>	<i>17</i>
<b>2.4 FREQUENZA CARDIACA E VARIABILITÀ DELLA FREQUENZA CARDIACA .....</b>	<b>18</b>
<b>2.5 CAMPIONI SALIVARI E DETERMINAZIONE DEL CORTISOLO .....</b>	<b>18</b>
<b>2.6 ANALISI DEI DATI .....</b>	<b>19</b>
<b>3. RISULTATI .....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 CARATTERISTICHE ANAMNESTICHE .....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 TEST PSICOMETRICI .....</b>	<b>20</b>
<i>3.2.1 Correlazione parziale tra PSS e STAI TRATTO .....</i>	<i>20</i>
<i>3.2.2 Correlazione parziale tra PSS e CES-D .....</i>	<i>21</i>
<i>3.2.3 Correlazione parziale tra STAI Tratto e CES-D .....</i>	<i>21</i>
<b>3.3 VALORI DIMENSIONALI DEI TEST PSICOMETRICI E INDICI NEUROVEGETATIVI E LIVELLI DI CORTISOLO .....</b>	<b>22</b>
<i>3.3.1 Correlazione tra i livelli di cortisolo e CAR con i punteggi ai questionari psicometrici. ....</i>	<i>22</i>
<i>3.3.2 Correlazione tra misure relative all'HRV e punteggi di cortisolo .....</i>	<i>22</i>
<b>3.4 DIFFERENZE TRA GRUPPI .....</b>	<b>22</b>
<i>3.4.1 PSS e variabili neurovegetative e livelli di cortisolo .....</i>	<i>22</i>
<i>3.4.2 STAI TRATTO e variabili neurovegetative e livelli di cortisolo .....</i>	<i>23</i>
<i>3.4.3 CES-D e variabili neurovegetative e livelli di cortisolo .....</i>	<i>23</i>
<b>4. DISCUSSIONE .....</b>	<b>24</b>
<b>4.1 ASPETTI PSICOLOGICI .....</b>	<b>24</b>
<b>4.2 PARAMETRI PSICOLOGICI E NEUROENDOCRINI .....</b>	<b>25</b>
<b>4.3 PARAMETRI PSICOLOGICI E NEUROVEGETATIVI .....</b>	<b>25</b>
<b>4.4 LIMITI DELLO STUDIO E PROSPETTIVE FUTURE .....</b>	<b>26</b>
<b>5. CONCLUSIONI .....</b>	<b>27</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>29</b>

## **Elenco delle abbreviazioni**

HPA = HYPOTHALAMIC PITUITARY ADRENAL AXIS

CRH = CORTICOTROPIN RELEASING HORMONE

ACTH = ADRENOCORTICOTROPIC HORMONE

CAR = CORTISOL AWAKENING RESPONSE

MDD = MAJOR DEPRESSIVE DISORDER

ANS = AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM

HRV = HEART RATE VARIABILITY

RMSSD = ROOT MEAN SQUARE OF SUCCESSIVE DIFFERENCE

STAI = STAI-TRAIT ANXIETY TEST

CES-D = CENTER FOR EPIDEMIOLOGICAL STUDIES DEPRESSION

IPAQ = INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRES

PSS = PERCEIVED STRESS SCALE

TSST = TRIER SOCIAL STRESS TEST

## **Abstract**

Eventi quali COVID-19 o la guerra in Ucraina hanno influito inevitabilmente sui livelli di stress della popolazione mondiale, apportando un impressionante aumento delle problematiche di ordine psicologico quali ansia e depressione. Inoltre, i più recenti rapporti di ricerca suggeriscano che la depressione sia una tra le malattie più comuni al mondo, seconda solo all'insufficienza cardiaca, alla quale potrebbe già nel 2030 togliere il primato, guardando i recenti sviluppi. Risulta quindi essenziale cercare di comprendere quali siano i fattori eziopatologici che contraddistinguono tali disturbi. A tal proposito è stato proposto che vi siano due sistemi, il sistema nervoso autonomo e l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene, che subiscono una serie di alterazioni che si riflettono in un'alterata risposta allo stress. La ricerca di biomarcatori risulta quindi fondamentale; in particolare il cortisolo salivare si presta molto bene in quanto facilmente prelevabile dai soggetti. Come è noto da studi precedenti, disturbi come depressione e ansia sono spesso accompagnati ad una marcata disregolazione dell'andamento circadiano del cortisolo. Inoltre, per quanto concerne la risposta neurovegetativa, si osserva una riduzione nella modulazione vagale cardiovascolare. Per indagare tale aspetto, è ampiamente utilizzata in contesti clinici e sperimentali l'Heart Rate Variability, valida misura indiretta di controllo autonomo cardiovascolare. Il presente studio è stato condotto sulla popolazione parmigiana con lo scopo di descrivere in dettaglio se esiste una relazione tra variabili vagali e neuroendocrine e test psicometrici che riguardano sintomi d'ansia e sintomi depressivi. Sono stati reclutati 48 soggetti sani, residenti nel territorio della città di Parma. È stato chiesto loro di applicare un dispositivo Holter per 24 ore, prelevare dei campioni di saliva e rispondere a questionari psicometrici in maniera autonoma. La raccolta dei dati impegnava quindi una giornata. Pertanto, sono stati valutati parametri autonomici (frequenza cardiaca e la sua variabilità), neuroendocrini (cortisolo salivare) e psicologici (STAI trait, STAI-state, sintomatologia depressiva (CES-D) e scala per lo stress percepito (PSS)). Dai risultati è emersa una forte correlazione significativa tra i parametri psicologici che indagano la sintomatologia depressiva, lo stress percepito e i sintomi d'ansia. Non sono state evidenziate ulteriori correlazioni significative tra i parametri autonomici, neuroendocrini e psicometrici. Lo studio risulta fortemente limitato dalla numerosità campionaria che non permette di sottolineare eventuali ulteriori associazioni. In futuro sarebbe interessante creare un ambiente standardizzato per cercare di osservare se i soggetti che presentano punteggi più elevati ai test psicometrici sopra citati mostrino una diversa produzione di cortisolo e una alterata risposta neurovegetativa in risposta ad uno stress. Risulta tuttavia fondamentale rimarcare l'importanza di trovare dei marcatori che possano aiutare la clinica nel diagnosticare disturbi quali ansia e depressione, ma anche a prevenire tali disturbi e costruire degli interventi terapeutici la cui efficacia possa essere testata anche da questi biomarker.

Events such as COVID-19 or the war in Ukraine have inevitably affected the stress levels of the world's population, bringing an impressive increase in psychological issues such as anxiety and depression. In addition, recent research reports suggest that depression is one of the most common diseases in the world, that's why it is therefore essential to try to understand the etiopathological factors that distinguish these disorders. In this regard, it has been proposed that there are two systems, the autonomic nervous system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, that undergo a series of alterations that are reflected in an altered stress response. The search for biomarkers is therefore fundamental; in particular, salivary cortisol is very well suited as it can be easily taken from subjects. As is known from previous studies, disorders such as depression and anxiety are often accompanied by a marked dysregulation of the circadian rhythm of cortisol. In addition, as regards the neurovegetative response, a reduction in cardiovascular vagal tone is observed. To investigate this aspect, we use Heart Rate Variability, which is a valid indirect measure of cardiovascular autonomic control and it is widely used in clinical and experimental contexts. This study has been conducted on Parma's population with the aim of describing in detail if there is a relationship between vagal and neuroendocrine variables and psychometric tests involving anxiety symptoms and depressive symptoms. We recruited 48 healthy individuals, resident in the territory of Parma. They were asked to apply a Holter device for 24 hours, take saliva samples and answer psychometric questionnaires. Data collection therefore took a day. Autonomic parameters (heart rate variability), neuroendocrine (salivary cortisol) and psychological (STAI trait, STAI-state, depressive symptoms (CES-D) and scale for perceived stress (PSS) were evaluated. The results showed a strong significant correlation between depressive symptoms, perceived stress and anxiety symptoms. No further significant correlations were found between autonomic, neuroendocrine and psychometric parameters. The study is strongly limited by the number of samples that does not allow to emphasize any further associations. In the future it would be interesting to create a standardized environment to try to observe if subjects with higher scores in the above psychometric tests show a different production of cortisol and an altered neurovegetative response in response to stress. Or it would be interesting to observe if increasing the duration of the data sampling over several days results are different.

It is however essential to stress the importance of finding markers that can help the clinic in diagnosing disorders such as anxiety and depression, but also to prevent such disorders and build therapeutic interventions which effectiveness can also be tested by these biomarkers.



# 1 Introduzione

## 1.1 Ansia e depressione

Questo periodo storico è stato segnato da grandi cambiamenti, sotto molteplici aspetti, che hanno drasticamente inciso sulle nostre abitudini quotidiane.

Pensando ad eventi quali l'emergenza sanitaria da COVID-19, e ancor più recentemente la guerra in Ucraina, possiamo notare come questi influiscano inevitabilmente sui livelli di stress della popolazione mondiale, determinando così un impressionante incremento delle problematiche psicologiche.

Lo studio di Oscar Galindo-Vázquez et al. (2020) evidenzia quanto negli ultimi tempi vi sia stato un aumento dei casi di disturbi associati ad ansia e depressione. Questa maggior incidenza clinica potrebbe essere una diretta conseguenza degli effetti psicologici che la pandemia di COVID-19 ha portato con sé, proiettando la questione non più su una dimensione individualistica, ma bensì elevando il fenomeno ad una emergente e allarmante questione di salute pubblica.

Se consideriamo che negli ultimi dieci anni, in tutto il mondo, sono stati diagnosticati sempre più disturbi affettivi, non dobbiamo meravigliarci che i più recenti rapporti di ricerca suggeriscano che la depressione sia una tra le malattie più comuni al mondo, seconda solo all'insufficienza cardiaca, alla quale potrebbe già nel 2030 togliere il primato, guardando i recenti sviluppi (Chojnowska Set al., 2020).

Nello specifico, i disturbi depressivi sono spesso preceduti da stati di stress e accompagnati da ansia, tant'è che la coesistenza di ansia e depressione si riscontra in quasi il 75% dei bambini e degli adolescenti (Chojnowska S et al., 2020). Tuttavia, se i disturbi d'ansia e depressivi non si verificano contemporaneamente, possono comunque susseguirsi. Si stima infatti che la probabilità di disturbi d'ansia dopo un episodio depressivo sia del 47-58% e che il 56% dei pazienti con disturbi d'ansia sviluppi poi una depressione (Chojnowska S et al., 2020); tutto ciò muovendo dal presupposto che circa il 50% degli episodi depressivi è preceduto da eventi della vita negativi e improvvisi vissuti dai pazienti (Chojnowska S et al., 2020). In questo senso gli effettivi disturbi d'ansia o depressivi si manifestano attraverso un'intensificazione di lunga durata e auto-limitante dell'esperienza delle emozioni negative.

L'ansia e la depressione invalidano la vita del paziente, dal momento che un paziente affetto da ansia o depressione, nel tempo, tende a perdere la propria autostima e, di conseguenza, perde la motivazione per intraprendere qualsiasi azione della vita (Chojnowska S et al., 2020).

### **1.1.1 Depressione**

La depressione maggiore, detta anche depressione endogena o depressione unipolare, è un disturbo dell'umore caratterizzato da sintomi come: profonda tristezza, calo della spinta vitale, perdita di interesse verso le normali attività, pensieri negativi e pessimistici, disturbi nelle funzioni cognitive e sintomi vegetativi come alterazione del sonno e dell'appetito (Otte et al., 2016).

E' un disturbo molto frequente, la cui incidenza è doppia nel sesso femminile, e particolarmente diffuso. Oltre alle problematiche psichiatriche, infatti, il disturbo depressivo maggiore è associato ad un aumentato rischio di sviluppare diabete, disturbi cardiaci e ictus (Whooley et al., 2013).

Il disturbo depressivo maggiore è stato inserito nel 1980 all'interno del DSM-III, il manuale statistico e diagnostico dei disturbi mentali che oggi è alla sua quinta edizione (DSM-5).

Il paziente con depressione maggiore, infatti, permane in uno stato di profonda tristezza, disperazione e apatia per tutto il giorno, con continue rimuginazioni, cali dell'attenzione e pensieri negativi su di sé, sul proprio futuro e il contesto sociale che lo circonda (Otte et al., 2016).

### **1.1.2 Disturbi d'ansia**

I disturbi d'ansia sono un insieme di disturbi psichiatrici che condividono tra loro una caratteristica comune. In tutti infatti è presente una eccessiva paura o ansia che determina una serie di problematiche comportamentali associate come l'evitamento o l'eccessiva richiesta di rassicurazioni. La paura è la risposta emotiva collegata ad una minaccia imminente reale o percepita, mentre l'ansia è legata all'anticipazione di una minaccia futura (American Psychiatric Association, 2013).

Nel DSM-5 troviamo una categorizzazione dei disturbi d'ansia. L'elenco completo non comprende più alcuni disturbi che in passate edizioni del DSM rientravano in questa categoria. In particolare il disturbo ossessivo-compulsivo e il disturbo post traumatico da stress non fanno più parte dei disturbi d'ansia, ma sono categorizzati all'interno di capitoli specifici (American Psychiatric Association, 2013).

I disturbi d'ansia classificati dal DSM-5 sono:

- Disturbo d'ansia da separazione
- Mutismo selettivo
- Fobia specifica
- Disturbo d'ansia sociale
- Disturbo di panico
- Agorafobia
- Disturbo d'ansia generalizzata



## 1.2 Stress

Sia ansia che depressione sono classificate come situazioni stressanti. L'esperienza dello stress influenza sicuramente lo stato emotivo dei pazienti (Chojnowska Set al., 2020).

L'esposizione cronica ad una situazione stressante può portare a cambiamenti strutturali nelle regioni cerebrali responsabili della modulazione della risposta allo stress (ad esempio l'ippocampo) e può contribuire alla fisiopatologia dei disturbi d'ansia e dell'umore (McEwen & Giannaros, 2010). Il termine stress viene descritto per la prima volta nel 1936 da Hans Selye come "la reazione aspecifica dell'organismo a qualsiasi sollecitazione" (J.Koolhaas et al., 2011). Egli osservò come negli animali vi fosse una risposta comune, a livello fisiologico, dopo l'esposizione a stimoli esterni, la quale venne giustificata come una condizione fisiologicamente finalizzata all'adattamento.

Nel tempo tale visione ha subito profondi cambiamenti e considerazioni che ne hanno delineato un significato più consono e preciso per poter guidare la ricerca.

J.Koolhaas et al.(2011) hanno proposto, più recentemente, che il termine stress possa essere utilizzato per indicare condizioni in cui la domanda ambientale supera la capacità di regolazione naturale di un organismo in situazioni particolari, che includono per definizione imprevedibilità e incontrollabilità.

Tali concetti di imprevedibilità e incontrollabilità enfatizzano l'importanza di valutare aspetti cognitivi e percettivi e non solo aspetti comportamentali e fisiologici (J.Koolhaas et al., 2011) .

Una prova a favore di quanto detto è che stimoli che normalmente non sono considerati stressanti, ma anzi appetitivi e gratificanti, a livello fisiologico, mostrano un'attivazione pari o superiore a quella provocata da stimoli definiti come negativi.

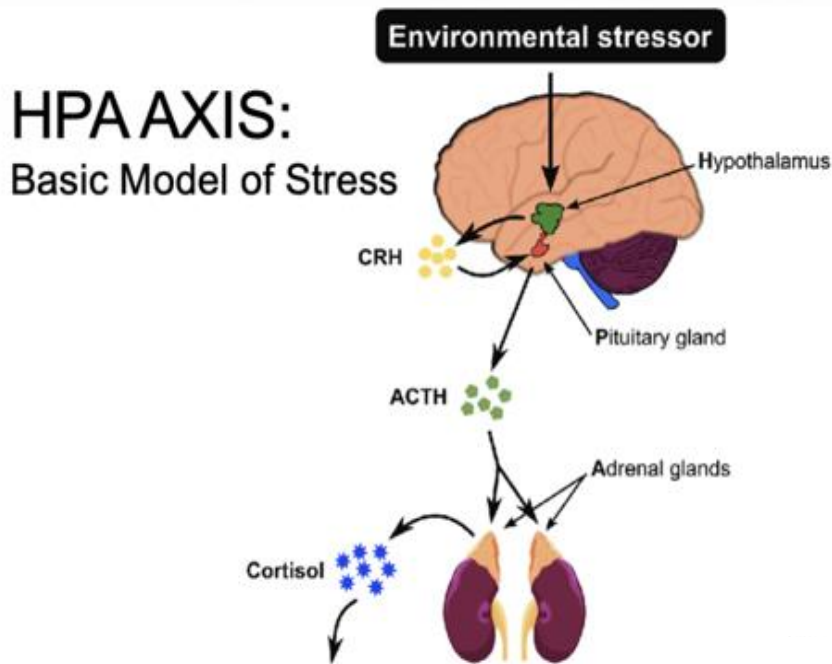
Esperienze di vita stressanti possono avere effetti significativi su una varietà di sistemi fisiologici, tra cui il sistema nervoso autonomo, l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene e il sistema immunitario.

Queste relazioni possono essere bidirezionali; ad esempio, i prodotti delle cellule immunitarie possono agire sul cervello, alterando l'umore e la cognizione, contribuendo potenzialmente alla depressione. Anche se le alterazioni fisiologiche acute possono essere adattative a breve termine, l'esposizione cronica o ripetuta può provocare danni alla salute (Kemeny, M.E., 2003).

Verranno quindi prese in considerazione ansia e depressione con l'obiettivo di valutare se sintomi depressivi e disturbi d'ansia, ottenuti tramite valutazione psicometrica, possano alterare alcuni parametri fisiologici come l'asse HPA e Il sistema nervoso autonomo ovvero i due sistemi fortemente interconnessi ed essenziali per far sì che avvenga una corretta risposta di stress (Rotenberg et al., 2016).

### 1.3 L'ipotesi dell'HPA alterato

La maggiore risposta neuroendocrina allo stress avviene tramite l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA). I meccanismi e i fattori endocrini che sono coinvolti in questa cascata di eventi sono descritti nella figura 1.



**FIGURA 1. Asse ipotalamo-ipofisi-surrene. L'ormone di rilascio della corticotropina(CRH) viene prodotto dai neuroni parvocellulari del nucleo paraventricolare dell'ipotalamo e porta l'ipofisi a rilasciare l'ormone adrenocorticotropo(ACTH) che a sua volta consente il rilascio di glucocorticoidi da parte della ghiandola surrenale.**

Quando una persona è esposta a stress mentale o fisico, le ghiandole surrenali producono maggiori quantità di cortisolo. Il cortisolo attiva il metabolismo, che fornisce energia al corpo (es. rilasciando glucosio nel sangue) e modifica le condizioni delle reazioni mentali (potenziando l'azione di altri "ormoni dello stress" - adrenalina e noradrenalina - grazie ai quali il corpo ottiene un'ulteriore spinta di energia per far fronte allo stress della situazione) (Chojnowska Set al., 2020).

La secrezione di cortisolo è soggetta non solo alla presenza di uno stressor ma anche e soprattutto ad un ritmo circadiano. È noto che durante le prime ore del giorno i livelli di cortisolo siano più elevati. A tale elevata risposta segue un declino della concentrazione che arriva al suo culmine durante il sonno. Quindi le quantità di cortisolo che seguono una determinata concentrazione

circadiana possono essere un buon indicatore. Infatti, l'interruzione di tale ciclo dovuto all'interruzione di uno stress cronico può essere un indicatore precoce di una funzione cerebrale disregolata e quindi evidenziare una modalità grazie alla quale lo stress influisce a livello cerebrale (A. Clow et al., 2020). Molto spesso viene studiata la cortisol awake response (CAR), che riflette i cambiamenti nelle concentrazioni di cortisolo che si verificano durante i primi 30 minuti dopo il risveglio dal sonno notturno ed è attualmente utilizzato per valutare l'attività dell'asse HPA in diverse condizioni fisiopatologiche (Fabio Scarinci et al 2020).

Non esiste un'unica modalità per rilevare i livelli di cortisolo, infatti può essere raccolto dal sangue, dalle feci ma ancora dai capelli e dalla saliva.

Nel sangue la maggior quantità di cortisolo (90%) risulta inattivo in quanto legato a specifiche proteine che non ne permettono l'immediato utilizzo mentre con la misurazione del cortisolo salivare è in grado di misurare esclusivamente la componente attiva in quanto quella legata risulta troppo grande per passare attraverso le ghiandole salivari (A. Clow et al., 2020). Inoltre, il passaggio attraverso le ghiandole salivari è un sistema di trasporto passivo che rende la concentrazione di cortisolo nella saliva indipendente dal volume salivare (A. Clow et al., 2020).

A causa di uno stress permanente, il corpo umano è esposto agli effetti di livelli costantemente elevati di cortisolo. Pertanto, si ipotizza che dopo una lunga esposizione allo stress (sia mentale che fisico), l'asse HPA diventi meno sensibile, il che si traduce in una diminuzione della produzione di cortisolo da parte delle ghiandole surrenali (Chojnowska Set al., 2020). Questa teoria è confermata dai risultati di studi condotti con la partecipazione di persone accompagnate da disturbi d'ansia a lungo termine. In questo modo si è dimostrato che, paradossalmente, tali soggetti avevano una produzione di cortisolo inferiore rispetto alle persone senza diagnosi di disturbo d'ansia (Hek K et al.2012). In tale studio è stato considerato un campione di 1788 soggetti adulti ai quali è stato chiesto di compilare The Munich version of the Composite International Diagnostic Interview per diagnosticare i disturbi d'ansia. Da qui è stata poi calcolata la CAR in seguito alla raccolta di 4 campioni di cortisolo (risveglio, 30 minuti dopo il risveglio, 17 e prima di andare a dormire). I risultati hanno mostrato come vi fosse una differenza significativa tra il gruppo diagnosticato con disturbo d'ansia e chi non lo aveva nel CAR, con il primo gruppo che mostrava un CAR inferiore. Tale studio ha quindi portato alla luce come nei soggetti con disturbo d'ansia vi sia una down-regulation dell'asse HPA.

Un altro studio di Ishitobi Y et al. (2010) in cui venivano presi in considerazione 71 soggetti affetti da depressione, vedeva una divisione del gruppo tra soggetti che erano attualmente in cura e soggetti che erano stati dimessi dalla struttura, tutti messi a confronto con un gruppo senza diagnosi di depressione.

I soggetti avevano ricevuto la diagnosi di MDD seguendo le linee diagnostiche dell'intervista semi-strutturata del DSM-IV. Venivano così raccolti tre campioni di cortisolo salivare e chiesto di compilare il questionario State-Trait Anxiety Inventory. In questo modo veniva constatato come non vi fosse un'associazione tra i livelli di cortisolo e il punteggio allo STAI TRATTO. Inoltre, in tale studio venivano valutati eventuali associazioni tra cortisolo e depressione, il risultato è che vi è una maggiore produzione di cortisolo rispetto al gruppo di controlli sani.

Un altro studio di Yonekkura et al. (2014) ha analizzato la relazione tra i livelli di cortisolo salivare negli adolescenti sopravvissuti al terremoto del Giappone orientale. Durante lo svolgimento dello studio si rilevò che era difficile distinguere le persone con sintomi di grave depressione solo sulla base delle misurazioni cortisolo salivari. Tuttavia, confrontando poi le variazioni dei livelli di cortisolo salivare per tre giorni consecutivi, hanno scoperto che il gruppo di adolescenti con sintomi gravi di depressione aveva un rapporto significativamente più alto tra i livelli di cortisolo salivare mattutino e serale rispetto al gruppo di adolescenti con sintomi lievi di depressione.

Un altro studio di T.J.McCollum (2005) ha reclutato 117 soggetti di sesso femminile che svolgevano attività di caregiving verso familiari con demenza. A differenza dello studio precedente venivano utilizzati diversi test psicometrici. Infatti, in questo studio veniva utilizzato il CES-D e il PSS e si valutava un eventuale correlazione con i livelli di cortisolo salivare che venivano raccolti durante l'arco della giornata per cinque volte. I risultati mostravano come non vi fosse una correlazione tra i livelli di cortisolo mattutino e i due test psicometrici.

È possibile quindi osservare che i soggetti con una diagnosi di depressione e ansia hanno effettivamente uno squilibrio dei livelli di cortisolo, mentre risulta difficile utilizzando test psicometrici per la sintomatologia depressiva e sintomi d'ansia trovare una correlazione tra i livelli di cortisolo e punteggi ai questionari, con una conseguente alterazione dell'asse HPA.

#### **1.4 Ipotesi dell'alterazione neurovegetativa nell'ansia e nella depressione**

L'altro sistema fortemente coinvolto nella risposta allo stress è il sistema nervoso autonomo.

Il sistema nervoso autonomo (ANS) è un'estesa rete di cellule e fibre ampiamente distribuite nel corpo. Come funzione principale ha quella di regolare l'omeostasi dell'organismo ed è un sistema neuromotorio, non influenzabile dalla volontà, che opera con meccanismi appunto autonomi, relativi a riflessi periferici sottoposti al controllo centrale. Il ANS controlla soprattutto il movimento della muscolatura liscia, l'attività cardiaca e l'attività secretoria ghiandolare. Langley (1921) divise l'ANS nelle componenti simpatica e parasimpatica in base alle loro origini spinali e ai diversi effetti riscontrati mediante stimolazione nervosa e applicazione di agenti adrenergici e colinergici sui vari tessuti. Dal punto di vista funzionale, questi due sistemi prendono contatto con diversi organi nel

corpo e contribuiscono bilanciandosi autonomamente al mantenimento dell'omeostasi dell'organismo così come è stato in passato definito da Cannon (1915).

Il sistema simpatico promuove la risposta allo stress, mentre il sistema parasimpatico svolge un ruolo importante nell'alleviare la risposta allo stress degli individui inibendo il sistema simpatico e l'asse HPA (Rotenberg et al., 2016).

In soggetti sani è quindi possibile riscontrare un equilibrio della bilancia simpato-vagale.

La variabilità della frequenza cardiaca (HRV) è una misura indiretta del controllo autonomico cardiovascolare che viene applicata in contesti sperimentali e clinici come biomarker non invasivo che può individuare alterazioni fisiopatologiche dell'ANS.

Un'alta variabilità della frequenza cardiaca è associata quindi ad un'efficace adattabilità agli stimoli, mentre uno squilibrio nella bilancia simpato-vagale risulta in una riduzione della flessibilità dinamica dell'ANS e in una scarsa adattabilità (Shaffer et al., 2014). In particolare, molteplici studi hanno dimostrato che una predominanza della componente ortosimpatica determina una riduzione dell'HRV, la quale a sua volta è associata a varie condizioni patologiche (Thayer et al., 2010).

L'HRV si riferisce alle variazioni tra due battiti cardiaci successivi che garantiscono un adattamento ottimale alle sfide ambientali. L'HRV viene spesso quantificato utilizzando misure nel dominio del tempo come la deviazione standard degli intervalli NN (SDNN) e il quadrato medio della radice delle differenze successive tra i battiti cardiaci normali (RMSSD), che è più influenzato dall'attività vagale rispetto all'SDNN. L'HRV è spesso descritto anche in termini di misure nel dominio della frequenza. L'HRV ad alta frequenza (HF) riflette principalmente l'attività vagale parasimpatica. L'HRV a bassa frequenza (LF) è più complesso e può includere influenze sia simpatiche che parasimpatiche. L'HRV a frequenza molto bassa (VLF) potrebbe riflettere meccanismi di regolazione a lungo termine (ad esempio termoregolazione o fattori ormonali) (Shaffer F et al., 2017).

Numerosi studi hanno cercato di vedere se l'HRV potesse essere associata a disturbi depressivi e disturbi d'ansia.

In una meta-analisi, condotta da Celine Koch et al. 2019, che include 21 studi con un totale di 2250 pazienti depressi e 1982 soggetti di controllo sono emerse delle differenze significative tra questi due gruppi, con un'evidente diminuzione del HRV nei soggetti con la diagnosi di depressione. Infatti, i soggetti depressi mostravano diminuzione. LF, HF, VLF, RMMSD e SDNN mentre mostravano un aumento del rapporto LF/HF.

Anche per quanto riguarda l'associazione tra ansia e HRV vi sono numerosi vi sono in letteratura dati che riportano come soggetti ansiosi presentino una riduzione dell'HRV. In letteratura sono però presenti pochi dati che prendano in considerazione tutte le misure che riguardano l'HRV; infatti,

molto spesso questi articoli prendono in considerazione misure nel dominio delle frequenze non considerando quelle nel dominio del tempo (Kollai M et al., 1992; Thayer JF et al., 1996).

Sebbene molti studi abbiano valutato le risposte al cortisolo nel contesto della depressione clinica e nei disturbi d'ansia, relativamente pochi hanno studiato le associazioni tra le risposte al cortisolo e la sintomatologia depressiva e i sintomi d'ansia.

Il presente studio, ancora in corso, è stato condotto sulla popolazione parmigiana con lo scopo di descrivere in dettaglio se esiste una relazione tra variabili vagali e neuroendocrine e test psicometrici che riguardano sintomi d'ansia e sintomi depressivi.

L'ipotesi di questo studio si basa sui dati riportati in letteratura che prevedono una correlazione tra disturbi quali ansia e depressione con alterazioni dell'asse HPA e della bilancia simpatovagale.

## **2. Materiali e metodi**

### **2.1 Soggetti**

L'intero studio prevede il reclutamento di 100 soggetti da parte del laboratorio chimico facente parte del Dipartimento di scienze chimiche, della vita e della sostenibilità ambientale.

I partecipanti avranno i seguenti criteri di inclusione:

- età pari o maggiore a 18
- Residenza nella città di Parma e Provincia
- Riferite condizioni di buona salute
- Disponibilità a partecipare allo studio e firma del consenso informato e del consenso al trattamento dei dati personali.

### **2.2 Protocollo sperimentale**

#### **2.2.1 Consegna del materiale**

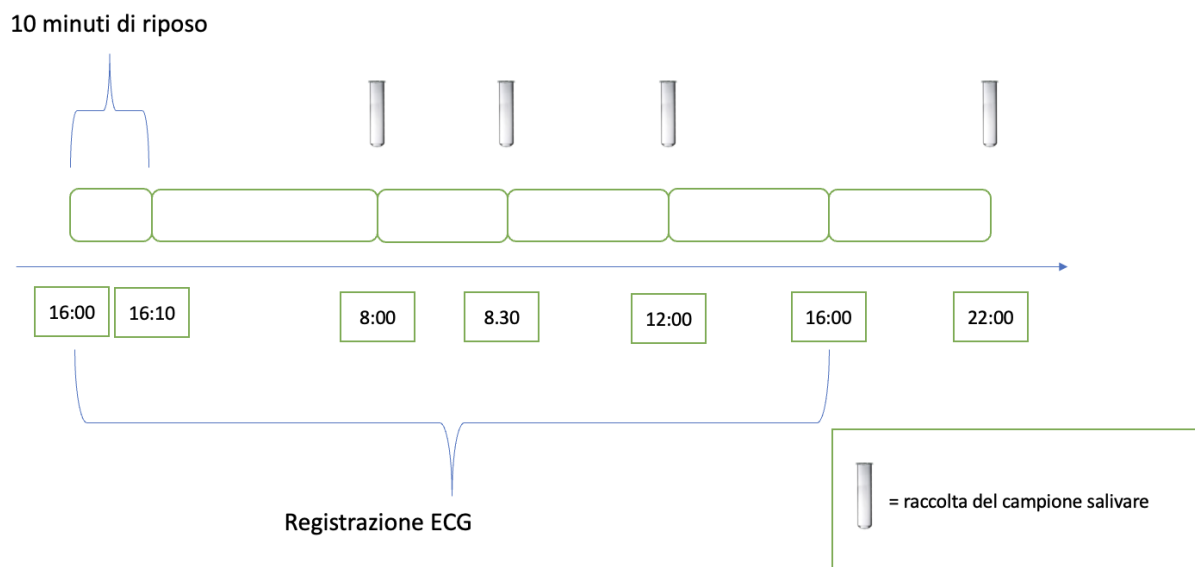
Al soggetto è stato consegnato un kit contenente due provette per la raccolta delle feci, una provetta per la raccolta delle urine, quattro provette per la raccolta salivare e una per la raccolta dello sputum. All'interno del kit è presente, inoltre, un Holter con 2 polarità e 4 elettrodi (due nel caso vi fosse la necessità di rimuovere l'holter). Venivano poi consegnati sei questionari psicometrici: STAI, CES-D (scala della depressione del Centro per gli Studi Epidemiologici, questionario di Berlino, IPAQ (questionario sull'attività fisica quotidiana) e PSS (Scala per lo stress percepito).

#### **2.2.2 Fase sperimentale**

Dopo aver ascoltato verbalmente le istruzioni, le quali sono poi state riportate anche per iscritto, il soggetto ha iniziato la fase sperimentale. Al risveglio (fissato intorno alle ore 8:00), il soggetto doveva applicare un campione di cotone sotto la lingua senza aver prima ingerito alcuna sostanza che potesse alterare la misurazione del cortisolo salivare. Il secondo prelievo di saliva doveva essere applicato 30 minuti dopo il primo, senza nel frattempo aver ingerito sostanze che potessero alterare i livelli di cortisolo (compreso il lavaggio dei denti). Il terzo campione veniva invece raccolto alle ore 12:00, anche in questo caso non potevano essere assunte sostanze che potessero alterare il cortisolo salivare dalle ore 11:00. Il quarto ed ultimo campione veniva raccolto alle 22:00 di sera dove non potevano essere assunte sostanze che potessero alterare il cortisolo salivare dalle 21:00.

L'holter veniva invece applicato lo stesso giorno a partire dalle ore 11:00 ed il soggetto nei primi dieci minuti doveva stare 10 minuti a riposo senza l'utilizzo di strumenti tecnologici.

Lo sputum doveva essere raccolto al risveglio. Mentre urine e feci venivano raccolte durante l'arco della stessa giornata. I questionari psicometrici venivano compilati nella stessa giornata.



**Figura 2. Sequenza della raccolta dei campioni di cortisolo e della registrazione della frequenza cardiaca e della sua variabilità.**

## 2.3 Test psicometrici

### 2.3.1 State-Trait Anxiety Inventory

Lo State-Trait Anxiety Inventory (STAI) è uno strumento frequentemente usato per finalità sia di tipo psicodiagnostico sia per verificare l'efficacia e i benefici della psicoterapia nella misurazione e rilevazione dei sintomi dell'ansia (Spielberger et al., 1983). Il questionario è formato da 40 items valutati con una scala Likert a 4 punti, dove 1 "quasi mai" 4 "quasi sempre" e raggruppati in due differenti scale di misura, forma Y1 e Y2. La forma Y1, STAI- STATE valuta l'ansia di stato, ovvero l'esperienza di percezione di insicurezza, impotenza di fronte ad un evento che può provocare nel momento presente preoccupazione o evitamento ed è composta da 20 items (e.g. "Sono teso", "Sono preoccupato"). La forma Y2, STAI-TRAIT valuta l'ansia di tratto, ovvero una persistente tendenza a percepire situazioni imprevedute come pericolose e minacciose e a rispondere con diversa intensità e comprende 20 items (e.g. "Mi preoccupo troppo di cose che in realtà non hanno importanza"). Il punteggio totale è compreso tra 20 e 80 con un valore soglia predittivo di



sintomatologia ansiosa posto a 40. Secondo un criterio scalare è possibile definire inoltre il livello di gravità: da 40 a 50 forma lieve, da 50 a 60 moderata, > di 60 grave.

### **2.3.2 Scala della depressione del Centro per gli Studi Epidemiologici (CES-D)**

Il Center for Epidemiologic Studies Depression Scale (CES-D) è un breve questionario di autovalutazione sviluppato nel 1977 da Laurie Radloff su misura sintomi depressivi gravità nella popolazione generale (Radloff et al., 1977). Il CES-D consiste di 20 domande che pongono domande sui vari sintomi della depressione che si sono verificati nell'ultima settimana e la maggior parte degli item si concentra sulla componente affettiva della depressione (Eaton et al., 2004). Sebbene inizialmente progettato per l'uso nelle indagini sulla popolazione generale, il CES-D ora funge da strumento di screening nelle cliniche di assistenza primaria e nella ricerca. Il CES-D è un inventario di 20 articoli di autovalutazione riguardanti i sintomi depressivi, che richiedono circa 5 minuti per essere completati. Ogni articolo chiede la frequenza con cui si è verificato un sintomo nell'ultima settimana. Alle scelte di risposta vengono assegnati valori in punti, che vengono sommati per determinare un punteggio di misura totale. Se il punteggio è inferiore a 16 il soggetto risulta essere asintomatico, tra 16-23 la sintomatologia risulta lieve, mentre se è maggiore di 22 risulta avere una sintomatologia depressiva elevata.

### **2.3.5 Scala per lo stress percepito (PSS)**

La Perceived Stress Scale (PSS; Scala per lo Stress Percepito) è lo strumento psicologico più utilizzato per misurare la percezione dello stress. È una misura del grado in cui le situazioni nella vita di una persona vengono valutate come stressanti. Gli item sono stati costruiti per intercettare il livello in cui le persone che rispondono al test trovano le loro vite imprevedibili, incontrollabili o sovraccariche. La scala contiene anche una serie di domande dirette sui livelli attuali di stress percepito. Le domande della PSS riguardano i sentimenti e i pensieri relativi all'ultimo mese. Per ciascun item, alle persone viene chiesto di indicare con che frequenza si sono sentite in un certo modo (Cohen et al., 1988). Se il punteggio è inferiore a 10 il soggetto risulta avere uno stress percepito sotto la media, tra 11 e 14 nella media, tra 15 e 18 medio-alto, mentre se maggiore di 18 molto alto.

## 2.4 Frequenza cardiaca e variabilità della frequenza cardiaca

Il segnale elettrocardiografico è stato registrato tramite gli holter Firstbeat Bodyguard (Firstbeat Technologies Ltd, Jyväskylä, Finlandia, s.d.).

La registrazione è stata processata e i tracciati sono stati convertiti in tacogramma rappresentazione nel tempo della distanza tra picchi R successivi e analizzati con KubiosHRVstandard (Varsitie, Kuopio, Finland).

Il tracciato è stato suddiviso in intervalli di 5 minuti in base alla tempistica del protocollo sperimentale e per ciascun intervallo è stata calcolata la frequenza cardiaca media (HR, bpm) e gli indici di variabilità della frequenza cardiaca (HRV). Nel dominio del tempo abbiamo quantificato la radice quadrata della media dei quadrati delle differenze tra battiti successivi (RMSSD, ms), parametro che riflette la regolazione parasimpatica della frequenza cardiaca.

Nel dominio delle frequenze, mediante l'applicazione della Trasformata di Fourier, abbiamo ricavato e quantificato la potenza totale dello spettro della variabilità della frequenza cardiaca (Total Power,  $\text{ms}^2$ ). Abbiamo poi calcolato in valore assoluto ( $\text{ms}^2$ ) la potenza delle tre principali componenti dello spettro in specifiche bande di frequenza: banda ad alta frequenza (HF 0,15-0,4 Hz), banda a bassa frequenza (LF 0,04-0,15 Hz) e banda a molto bassa frequenza (VLF 0,00-0,04 Hz). Successivamente abbiamo quantificato rispetto alla Total Power la potenza delle bande ad alta frequenza e a bassa frequenza in unità normalizzate (nu). Infine, abbiamo calcolato il rapporto tra la potenza delle bande a bassa frequenza e ad alta frequenza (LF/HF). La Total Power fornisce indicazioni generali sulla variabilità della frequenza cardiaca: alti valori di questo indice indicano una alta variabilità e un buon stato di salute, mentre bassi valori indicano una bassa variabilità, indice di bassa adattabilità. L'indice HF fornisce informazioni sul contributo parasimpatico al cuore, l'indice LF fornisce informazioni sul congiunto contributo simpatico parasimpatico e dei riflessi barocettivi. Infine, il rapporto LF/HF fornisce informazioni sull'equilibrio simpato-vagale cardiaco, dove valori elevati indicano una predominanza simpatica.

## 2.5 Campioni salivari e determinazione del cortisolo

I campioni di saliva sono stati prelevati con tamponi in cotone e conservati all'interno di apposite provette (SalivaBio Oral Swab, Salimetrics, UK) alla temperatura di  $-20^{\circ}\text{C}$  fino all'analisi. I livelli di cortisolo sono stati determinati mediante ELISA Test. Al momento della quantificazione, i campioni sono stati scongelati fino a raggiungere la temperatura ambiente e centrifugati a 1500g per 10 minuti. La centrifugazione rimuove le mucine e altre particelle che potrebbero interferire con il legame antigene-anticorpo e influenzare i risultati. È stato quindi prelevato il surnatante (25  $\mu\text{l}$ ) e

rilasciato all'interno di uno dei 96 pozzetti della piastra secondo uno schema predefinito. Ciascun campione è stato saggiato in doppio secondo le istruzioni del *Kit Immunoassay* (Salimetrics, UK). I valori di concentrazione del cortisolo di ciascun pozzetto sono stati determinati attraverso il lettore di piastre Biotek 800 TS Absorbance reader e il software Gen5.

## **2.6 Analisi dei dati**

Sono state svolte delle correlazioni parziali tra i tre test psicometrici PSS, CES-D, STAI i livelli di cortisolo e le misure sia nel dominio del tempo che in quello delle frequenze per quanto riguarda l'HRV. Inoltre, sono stati successivamente divisi i soggetti in base ai punteggi dei test. I soggetti con un punteggio del PSS inferiore a 19 sono stati inseriti nel gruppo "no stress" mentre i soggetti con un punteggio superiore nel gruppo "stress". I soggetti con un punteggio inferiore a 16 nel CES-D venivano classificati come "gruppo senza sintomatologia depressiva", mentre i soggetti con un punteggio superiore rientravano nel gruppo "sintomatologia depressiva". Anche per lo STAI tratto si sono creati due gruppi, se il soggetto aveva un punteggio inferiore a 40 è stato inserito nel gruppo "non ansioso" mentre se il punteggio è risultato superiore nel gruppo "ansia". Con la categorizzazione in due gruppi dei test sono stati svolti dei t.test per campioni indipendenti per osservare se vi fosse una differenza significativa tra i gruppi nei livelli di cortisolo o nelle misure dell'HRV.

### 3. Risultati

#### 3.1 Caratteristiche anamnestiche

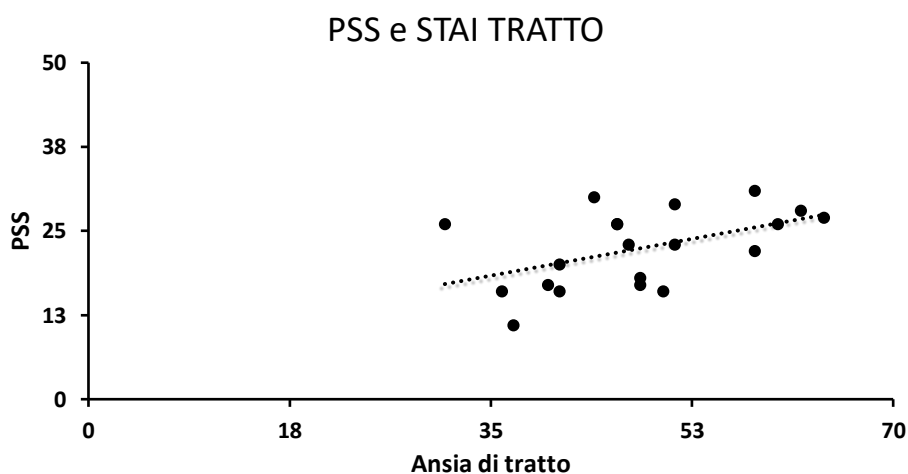
Il campione di 48 soggetti residenti a Parma con riferite condizioni di buona salute è composto da 18maschi e 30 femmine con una media di età pari a 38( $\pm$ 15).

#### 3.2 Test psicometrici

È stata svolta una correlazione parziale tra i test psicometrici STAI TRATTO, CES-D e PSS utilizzando come variabili di controllo il genere e l'età; per quanto riguarda la correlazione tra PSS e STAI tratto è stato effettuato il test di Pearson; per le restanti, dato che la normalità bivariata non era rispettata, ho utilizzato il test di Spearman.

##### 3.2.1 Correlazione parziale tra PSS e STAI TRATTO

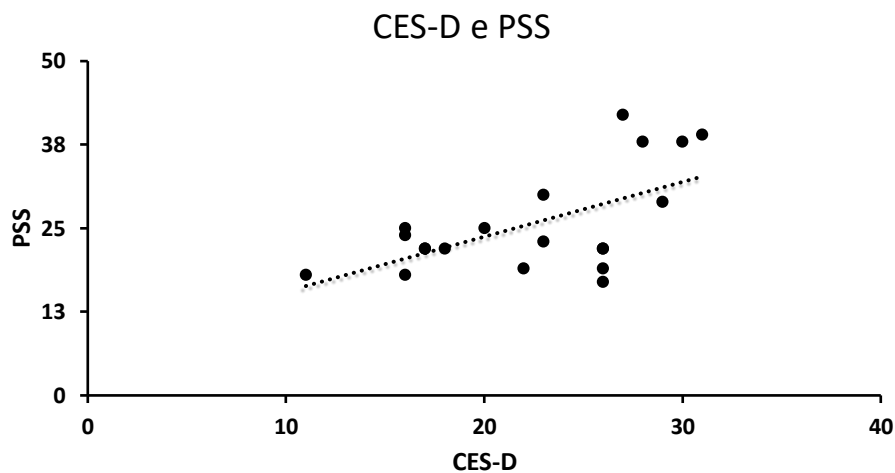
Vi è una correlazione positiva tra PSS e STAI tratto che vede all'aumentare dei punteggi di una l'aumentare dei punteggi dell'altra, tale correlazione risulta significativa ( $t=0.743$ ,  $p<0.01$ ). Questo dato porterebbe a concludere che soggetti che avevano maggiori livelli di stress percepito esibivano anche maggiori livelli di ansia di tratto. La correlazione è ben visibile graficamente. La relazione è ben visibile anche graficamente (Fig. 2).



**Figura 3. Correlazione tra punteggi del PSS e STAI TRATTO.**

### 3.2.2 Correlazione parziale tra PSS e CES-D

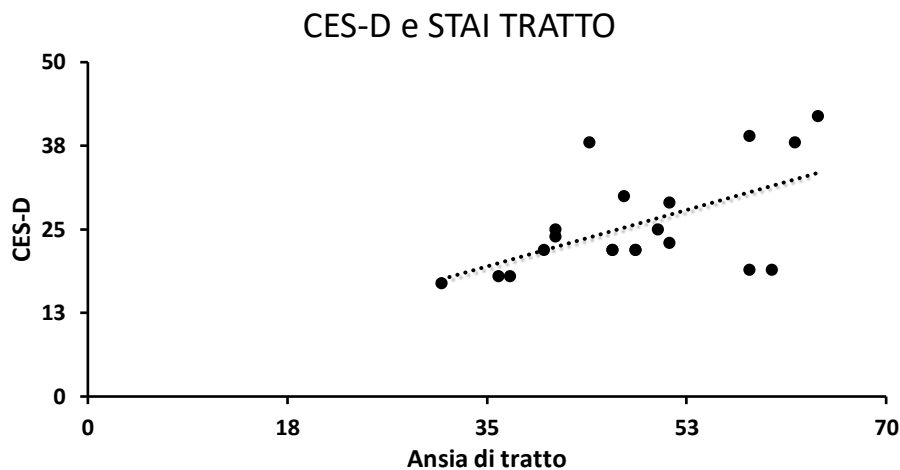
Anche in questo caso vi è una correlazione positiva tra PSS e CES-D che vede all'aumentare del punteggio di uno dei due test, l'aumentare anche i punteggi dell'altro, tale correlazione risulta significativa ( $\rho=0.740$ ,  $p<0.01$ ). Questo dato porterebbe a concludere che soggetti che avevano maggiori livelli di stress percepito esibivano anche maggiori livelli di sintomatologia associata alla depressione. La correlazione è ben visibile graficamente (Fig. 3).



**Figura 4. Correlazione tra punteggi del PSS e CES-D.**

### 3.2.3 Correlazione parziale tra STAI Tratto e CES-D

Vi è una correlazione positiva tra STAI TRATTO e CES-D, tale correlazione risulta essere significativa ( $\rho=0.773$ ,  $p<0.01$ ). Questo dato porterebbe a concludere che soggetti che avevano maggiori livelli di ansia di tratto esibivano anche maggiori livelli di sintomatologia associata alla depressione. La correlazione è ben visibile graficamente. La correlazione è ben visibile graficamente (Fig. 4).



**Figura 5. Correlazione tra punteggi dello STAI TRATTO e CES-D.**

### **3.3 Valori dimensionali dei test psicometrici e indici neurovegetativi e livelli di cortisolo**

#### **3.3.1 Correlazione tra i livelli di cortisolo e CAR con i punteggi ai questionari psicometrici.**

Sono state svolte delle correlazioni parziali tra i punteggi relativi ai livelli di cortisolo al risveglio, mezz'ora dopo il risveglio, alle 12:00 e alle 22:00 e i test psicometrici PSS, CES-D e STAI TRATTO. In nessun caso è stata rilevata una correlazione significativa.

#### **3.3.2 Correlazione tra misure relative all'HRV e punteggi di cortisolo**

Tra le misure nel dominio del tempo e nel dominio nelle frequenze non vi sono correlazioni significative con i punteggi dei test psicometrici PSS, CES-D e STAI TRATTO.

### **3.4 Differenze tra gruppi**

È stato effettuato il t-test per verificare se vi fossero delle differenze tra gruppi che superano il cut-off rispetto ai punteggi dei test psicometrici PSS, CES-D e STAI tratto nei livelli di cortisolo e nei dati neurovegetativi.

Il test che ho utilizzato è quello di Levene in quanto la distribuzione degli errori non risultava normale.

#### **3.4.1 PSS e variabili neurovegetative e livelli di cortisolo**

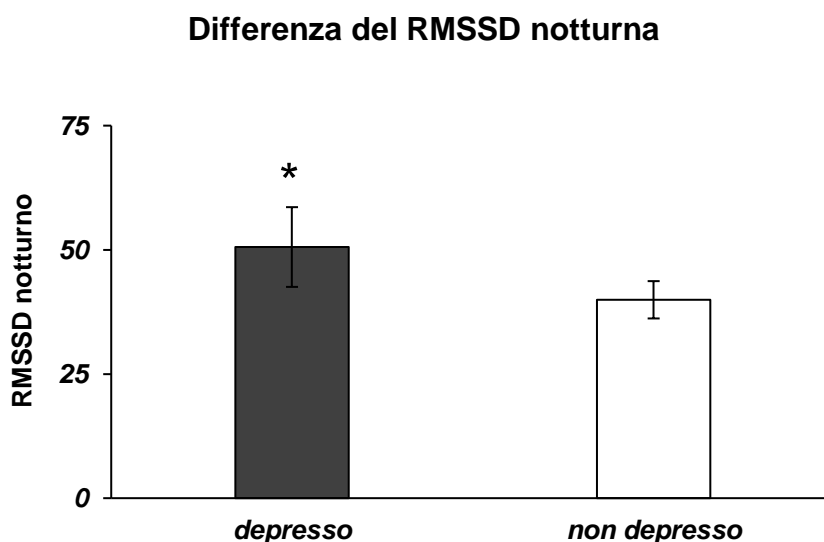
In base al punteggio ottenuto al PSS sono stati creati due gruppi. Se il punteggio era inferiore a 19 i soggetti venivano classificati come “non stressati” (27), mentre se il punteggio era uguale o superiore venivano classificati come “stressati” (21). Non vi sono differenze significative nei due gruppi per quanto riguarda i livelli di cortisolo e i valori legati all'HRV.

### 3.4.2 STAI TRATTO e variabili neurovegetative e livelli di cortisolo

In base al punteggio ottenuto nello STAI TRATTO sono stati creati due gruppi. Se il punteggio era inferiore a 40 i soggetti venivano classificati come “non ansiosi”, mentre se il punteggio era uguale o superiore venivano classificati come “ansiosi”. Il primo gruppo è composto da 25 soggetti mentre il secondo da 23 soggetti. Non risulta nessuna differenza significativa nei due gruppi per quanto riguarda i livelli di cortisolo e i valori legati all’HRV.

### 3.4.3 CES-D e variabili neurovegetative e livelli di cortisolo

In base al punteggio ottenuto nello CES-D sono stati creati due gruppi. Se il punteggio era inferiore a 16 i soggetti venivano classificati come “non depressi” (28), mentre se il punteggio era uguale o superiore venivano classificati come sintomatologia “depressi” (20). Non risulta esserci alcuna differenza significativa nei due gruppi per quanto riguarda i livelli di cortisolo. Risulta significativa la differenza tra i due gruppi per quanto riguarda i valori della RMMSD notturna ( $F= 9.281$ ,  $p<0.01$ ; Fig 5). Non risultano altre differenze significative negli altri valori dell’HRV. Questo dato porterebbe a concludere che soggetti con una sintomatologia depressiva avevano una RMSSD notturna maggiore rispetto a soggetti che non esibivano una sintomatologia depressiva.



**Figura 6. Differenza nel RMSSD notturna nei due gruppi con sintomatologia depressiva e asintomatica.**

## 4. Discussione

Tra i meccanismi eziologici fondanti la depressione ed i disturbi d'ansia troviamo l'ipotesi dell'alterazione dell'asse HPA e del sistema nervoso autonomo. Secondo tale ipotesi l'ansia e la depressione risulterebbero pertanto strettamente associate e, di conseguenza ciò comporterebbe un'alterata risposta allo stress in presenza di stimoli stressanti.

Nello specifico, l'obiettivo è quello di valutare se questa relazione tra depressione e ansia possa essere ritrovata anche tra una sintomatologia depressiva e d'ansia e quindi se valori elevati all'interno di queste due categorie potessero essere a loro volta correlati con alterazioni dell'asse HPA e del sistema nervoso autonomo.

I principali risultati ottenuti dalle analisi sembrano indicare che:

- 1) I tre test psicometrici abbiano tra loro una forte correlazione.
- 2) Non vi sia una correlazione tra I test psicometrici e i livelli di cortisolo giornalieri
- 3) Non vi sia una correlazione tra i test psicometrici e le variabili legate all'HRV.
- 4) Non vi sia una differenza significativa nell'appartenere al gruppo stressato o non stressato, ansioso non ansioso, depresso non depresso nei livelli di cortisolo.
- 5) Non vi sia una differenza significativa nell'appartenere al gruppo stressato o non stressato, ansioso non ansioso, nelle misure legate all'HRV.
- 6) Vi sia una differenza significativa tra il gruppo depresso non depresso nella RMSSD notturna.

### 4.1 Aspetti psicologici

È ormai ben nota l'esistenza una forte associazione tra ansia e depressione (Chojnowska S et al., 2020). In letteratura sono presenti pochi studi che mirano ad indagare se vi sia un'associazione tra sintomi depressivi e sintomi ansiosi. Questo studio dimostra come vi sia una forte correlazione tra i punteggi del test psicometrico CESD e quelli dello STAI TRATTO. Inoltre, entrambi i test risultano fortemente correlati con i punteggi del test PSS. Tali correlazioni evidenziano quindi una stretta relazione tra ansia depressione e stress; il che può condurre a presumere che esistano dei meccanismi a livello neuroendocrino e autonomo simili.

Non è stata tuttavia ritrovata alcuna correlazione tra genere e punteggi nei tre test; allo stesso modo non è stata trovata alcuna correlazione tra l'età dei pazienti e i punteggi nei tre test. Non è stata trovata alcuna correlazione tra il test IPAQ e gli altri test psicometrici.



## **4.2 Parametri psicologici e neuroendocrini**

Data la forte associazione nei punteggi dei test, ci saremmo aspettati che i risultati psicometrici potessero essere seguiti da dei cambiamenti a livello neuroendocrino. In realtà tali risultati non sono stati ottenuti. Infatti, non esiste alcuna correlazione tra le quattro rilevazioni di cortisolo ed i risultati dei test psicometrici. Tale esito è in accordo con i risultati di altri studi che hanno preso in considerazione test psicometrici come il CESD e lo STAI TRATTO (Ishitobi Y et al. 2010; T.J.McCollum et al., 2005).

È necessario, tuttavia, considerare che tali risultati possano essere influenzati da una ridotta numerosità campionaria. Ciò è giustificato dal fatto che in letteratura non vi sono studi che prendano in considerazione test che valutano soggetti con diagnosi di depressione o di disturbi d'ansia inseriti in un campione numericamente elevato. Nel contesto della depressione, le alterazioni della risposta dell'asse HPA possono dipendere da una varietà di fattori. Ad esempio, è stato dimostrato che la cronicità influenza la direzionalità delle associazioni tra i sintomi della depressione e le risposte del cortisolo allo stress (Zorn et al., 2017).

È interessante notare come il lavoro di Fiksdal A et al. 2019 riporti un'associazione tra punteggi a test psicometrici che valutano la sintomatologia depressiva e sintomi di ansia e livelli di cortisolo. Lo studio in questione aveva però lo scopo di valutare la presente associazione in un contesto di laboratorio dove i partecipanti venivano sottoposti a stress grazie al trier social stress test (TSST). Anche la suddivisione tra soggetti stressate/non stressate, ansiose/non ansiose, depresse/non depresse non mostra differenze tra i gruppi rispetto ai livelli di cortisolo durante la giornata.

## **4.3 Parametri psicologici e neurovegetativi**

Gli studi che si sono occupati di indagare la correlazione tra ansia e depressione, hanno riportato come nel caso di entrambi i disturbi vi sia una riduzione dell'HRV (Celine Koch et al., 2019). Sono invece scarsi gli studi che hanno tentato di studiare la correlazione della sintomatologia depressiva e dei sintomi d'ansia. I pochi studi che l'hanno fatto non hanno trovato la correlazione. Anche in questo caso tali studi hanno considerato un campione di soggetti molto ridotto rispetto invece a studi che hanno trovato una correlazione significativa tra disturbi diagnosticati e HRV.

Questo studio non riporta alcuna correlazione tra i test relativi ad ansia depressione e stress percepito e i livelli di cortisolo. I risultati mostrano un'ampia variabilità probabilmente da attribuire alla bassa numerosità campionaria.

La suddivisione in gruppi tra persone stressate/non stressate, ansiose/non ansiose non mostrava differenze nelle misure del HRV. Vi è invece una differenza significativa tra il gruppo senza

sintomatologia depressiva e quello con sintomatologia, ma in una sola misura del HRV. In particolare, risulta significativa la differenza per la misura della RMSSD notturna. I soggetti con sintomatologia depressiva mostrano valori più elevati in questa componente. Tale risultato è in contraddizione con i dati in letteratura inerenti alla depressione, che invece è associata a valori ridotti di questa componente. La RMSSD notturna è una componente che in letteratura non è mai stata considerata. Infatti, i risultati che vengono riportati in letteratura mostrano esclusivamente un valore che è indicativo di tutte le 24h.

#### **4.4 Limiti dello studio e prospettive future**

I limiti dello studio sono sicuramente la numerosità campionaria che aumenta la variabilità dei dati ottenuti.

Uno dei vantaggi del cortisolo salivare è che permette il campionamento di questo in modo autonomo da parte del soggetto, che quindi può continuare a svolgere le normali attività quotidiane. Allo stesso tempo la misurazione dei livelli di cortisolo salivare in un solo giorno potrebbe essere influenzata da eventi che non rendono possibile la standardizzazione dei dati.

Come viene proposto nello studio di Yonekkura et al. (2014) a volte sono necessarie raccolte di cortisolo salivare che devono essere ripetute in più giorni per ottenere dei risultati significativi e per individuare una sintomatologia e non necessariamente un disturbo diagnosticabile in modalità clinica.

Lo studio non è ancora terminato e ha l'obiettivo di raggiungere una numerosità campionaria di 100 soggetti. Sarà interessante vedere se con l'aumento della numerosità campionaria vi potrà essere una minor variabilità e una maggiore enfaticizzazione di differenze tra i gruppi nei livelli di cortisolo e nelle misure dell'HRV.

Potrebbe essere interessante osservare se i soggetti posti in una situazione stressante come quella data dal TSST, possano mostrare delle differenze nei livelli di cortisolo e nelle misure di HRV, in modo tale da poter standardizzare maggiormente l'ambiente sperimentale.

Un altro scopo dello studio condotto porterà a osservare se vi siano delle correlazioni tra i dati raccolti e la presenza di determinati cluster di batteri presenti a livello intestinale che a loro volta sono correlati con infiammazioni croniche del tratto intestinale.

## 5. Conclusioni

In conclusione, questo studio riporta come vi sia una forte associazione tra la sintomatologia ansiosa, depressiva e lo stress. Non sono state evidenziate correlazioni tra i livelli di cortisolo e i punteggi nei test psicometrici come non sono rilevate delle correlazioni tra HRV e punteggi ai test psicometrici. Ciò nonostante, tale esito risulta fortemente influenzato da dei limiti, pertanto, non può portare all'esclusione dei metodi utilizzati. È importante rimarcare i vantaggi che la valutazione di cortisolo salivare o dell'HRV possono apportare alla ricerca e approfondire se questi metodi possano essere considerati dei buoni biomarcatori anche per la sintomatologia depressiva e ansiosa. Infatti, il cortisolo salivare costituisce uno strumento non invasivo che può fare luce su numerose problematiche a livello psicologico, aiutando la clinica come biomarker per effettuare delle diagnosi.

Ci sono prove che le alterazioni delle risposte dell'asse HPA associate alla depressione possano anche dissiparsi in concomitanza con la remissione (Zorn et al., 2017).

Al contrario, le alterazioni delle risposte dell'asse HPA possono precedere la futura ricomparsa della depressione (Calhoun et al., 2012).

È chiaro quindi che vista l'elevato numero di soggetti ai quali vengono poste le diagnosi di depressione e ansia dovrebbe diventare obiettivo della ricerca trovare delle modalità che possano individuare in modo precoce dei biomarker di questi disturbi, quali la sintomatologia depressiva e i sintomi ansiosi in modo tale da poter creare dei trattamenti preventivi che a loro volta possano dimostrarsi efficaci proprio grazie alla valutazione di cortisolo salivare e HRV.



## BIBLIOGRAFIA

-American Psychiatric Association (2013a). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5). Washington, D.C.: APA (trad. it.: DSM-5. Manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali. Quinta edizione. Milano: Raffaello Cortina, 2014).

- A. Clow, N. Smyth, Salivary cortisol as a non-invasive window on the brain, *Int. Rev. Neurobiol.* 150 (2020) 1–16.

-Calhoun D, Franklin JC, Adelman CB, Guerry JD, Hastings PD, Nock MK, & Prinstein MJ (2012). Biological and cognitive responses to an in vivo interpersonal stressor: Longitudinal associations with adolescent depression. *International Journal of Cognitive Therapy*, 5(3), 283–299.

-Chojnowska S, Ptaszyńska-Sarosiek I, Kępka A, Knaś M, Waszkiewicz N. Salivary Biomarkers of Stress, Anxiety and Depression. *J Clin Med.* 2021 Feb 1;10(3):517

-Cohen, S., & Williamson, G. (1988). Perceived stress in a probability sample of the United States. In S. Spacapan & S. Oskamp (Eds.), *The social psychology of health: Claremont Symposium on applied social psychology*. Newbury Park, CA: Sage

- Fiksdal A, Hanlin L, Kuras Y, Gianferante D, Chen X, Thoma MV, Rohleder N. Associations between symptoms of depression and anxiety and cortisol responses to and recovery from acute stress. *Psychoneuroendocrinology.* 2019 Apr; 102:44-52

-Galindo-Vázquez O, Ramírez-Orozco M, Costas-Muñiz R, Mendoza-Contreras LA, Calderillo-Ruiz G, Meneses-García A. Symptoms of anxiety, depression and self-care behaviors during the COVID-19 pandemic in the general population. *Gac Med Mex.* 2020;156(4):298-305.

-Hek K, Direk N, Newson RS, Hofman A, Hoogendijk WJ, Mulder CL, Tiemeier H. Anxiety disorders and salivary cortisol levels in older adults: a population-based study. *Psychoneuroendocrinology.* 2013 Feb;38(2):300-5.

- Ishitobi Y, Akiyoshi J, Tanaka Y, Ando T, Okamoto S, Kanehisa M, Kohno K, Ninomiya T, Maruyama Y, Tsuru J, Kawano A, Hanada H, Isogawa K, Kodama K. Elevated salivary  $\alpha$ -amylase and cortisol levels in unremitted and remitted depressed patients. *Int J Psychiatry Clin Pract.* 2010 Nov;14(4):268-73.
- Kemeny, M. E. (2003). The Psychobiology of Stress. *Current Directions in Psychological Science*, 12(4), 124–129.
- Koch C, Wilhelm M, Salzman S, Rief W, Euteneuer F. A meta-analysis of heart rate variability in major depression. *Psychol Med.* 2019 Sep;49(12):1948-1957
- Kollai M, Kollai B. Cardiac vagal tone in generalised anxiety disorder. *Br J Psychiatry.* 1992 Dec; 161:831-5.
- Koolhaas JM, Bartolomucci A, Buwalda B, de Boer SF, Flügge G, Korte SM, Meerlo P, Murison R, Olivier B, Palanza P, Richter-Levin G, Sgoifo A, Steimer T, Stiedl O, van Dijk G, Wöhr M, Fuchs E. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neurosci Biobehav Rev.* 2011
- McCallum TJ, Sorocco KH, Fritsch T. Mental health and diurnal salivary cortisol patterns among African American and European American female dementia family caregivers. *Am J Geriatr Psychiatry.* 2006 Aug;14(8):684-93
- Rotenberg S, McGrath JJ. Inter-relation between autonomic and HPA axis activity in children and adolescents. *Biol Psychol.* 2016; 117:16–25.
- McEwen BS, & Gianaros PJ (2010). Central role of the brain in stress and adaptation: links o socioeconomic status, health, and disease. *Ann Y Acad Sci*, 1186, 190–222.
- Otte C, Gold SM, Penninx BW, Pariante CM, Etkin A, Fava M, Mohr DC, Schatzberg AF. Major depressive disorder. *Nat Rev Dis Primers.* 2016 Sep 15; 2:16065.
- Radloff LS. The CES-D scale: a self-report depression scale for research in the general population. *Applied Psychological Measurement.* 1977; 1:385–401

- Radloff, Lenore Sawyer (giugno 1977). "The CES-D Scale: A Self-Report Depression Scale for Research in the General Population". *Misurazione psicologica applicata*. **1** (3): 385–401.
  
- Rotenberg S, McGrath JJ. Inter-relation between autonomic and HPA axis activity in children and adolescents. *Biol Psychol*. 2016; 117:16–25.
  
- Scarinci F, Patacchioli FR, Ghiciuc CM, Pasquali V, Bercea RM, Cozma S, Parravano M. Psychological Profile and Distinct Salivary Cortisol Awake Response (CAR) in Two Different Study Populations with Obstructive Sleep Apnea (OSA) and Central Serous Chorioretinopathy (CSC). *J Clin Med*. 2020 Aug 3;9(8):2490.
  
- Shaffer, F., McCraty, R., & Zerr, C. L. (2014). A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Frontiers in psychology*, *5*, 1040.
  
- Shaffer F, Ginsberg JP. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front Public Health*. 2017 Sep 28; 5:258
  
- Spielberger CD. STAI manual for the state-trait anxiety inventory. *Self-Evaluation Quest* 1970:1–24.
  
- Thayer JF, Friedman BH, Borkovec TD. Autonomic characteristics of generalized anxiety disorder and worry. *Biol Psychiatry*. 1996 Feb 15;39(4):255-66.
  
- Thayer, J. F., Yamamoto, S. S., & Brosschot, J. F. (2010). The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *International journal of cardiology*, *141*(2), 122-131.
  
- Whooley MA, Wong JM. Depression and cardiovascular disorders. *Annu Rev Clin Psychol*. 2013; 9:327-54. doi: 10.1146/annurev-clinpsy-050212-185526. PMID: 23537487. Apr;35(5):1291-301.
  
- Yonekura T, Takeda K, Shetty V, Yamaguchi M. Relationship between salivary cortisol and depression in adolescent survivors of a major natural disaster. *J Physiol Sci*. 2014 Jul;64(4):261-7.

-Zorn JV, Schür RR, Boks MP, Kahn RS, Joëls M, Vinkers CH. Cortisol stress reactivity across psychiatric disorders: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*. 2017 Mar;77:25-36.