



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

***DIFFERENZE DI GENERE ED ETA' NEI PARAMETRI NEUROVEGETATIVI E  
NEUROENDOCRINI IN UN CAMPIONE DELLA POPOLAZIONE PARMIGIANA***

***Relatore:***

***Chiar.mo Prof. ANDREA SGOIFO***

***Controrelatore:***

***Chiar.mo Prof. LUCA CARNEVALI***

***Laureanda:***

***EMMA CARLI***

***2021-2022***

## Sommario

<b>ABSTRACT (VERSIONE ITALIANA)</b> .....	<b>3</b>
<b>ABSTRACT (VERSIONE INGLESE)</b> .....	<b>5</b>
<b>GLOSSARIO DI TERMINOLOGIA ABBREVIATA</b> .....	<b>6</b>
<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	<b>8</b>
1.1. HRV .....	9
1.2. PARAMETRI DI HRV .....	10
1.3. HRV E CORTISOLO .....	14
1.4. HRV, GENERE ED ETÀ .....	16
<b>2. MATERIALI E METODI</b> .....	<b>20</b>
2.1. SOGGETTI .....	20
2.2. PROTOCOLLO .....	20
2.2.1. Materiali .....	20
2.2.2. Procedura .....	21
2.3. TEST PSICOMETRICI .....	22
2.3.1. Scala della depressione del Centro per gli Studi Epidemiologici (CES-D) .....	22
2.3.2. State-Trait Anxiety Inventory .....	22
2.3.5. Scala per lo stress percepito (PSS) .....	23
2.4. FREQUENZA CARDIACA E VARIABILITÀ DELLA FREQUENZA CARDIACA .....	24
2.5. CAMPIONI SALIVARI E DETERMINAZIONE DEL CORTISOLO .....	24
2.6. ANALISI DEI DATI .....	25
<b>3. RISULTATI</b> .....	<b>27</b>
3.1. CAMPIONE .....	27
3.2. DIFFERENZA DI GENERE NEI TEST PSICOMETRICI .....	27
3.3. DIFFERENZE DI GENERE NEI LIVELLI DI CORTISOLO .....	28
3.4. DIFFERENZE DI GENERE NEI PARAMETRI FISILOGICI DI HRV .....	28
3.5. CORRELAZIONI BIVARIATE PER IL PARAMETRO ETÀ .....	31
3.5.1. Correlazioni parziali con controllo parametro età .....	34
3.5.2. Correlazioni parziali con controllo parametri età e BMI .....	35
3.6. ANOVA A UNA VIA E INDAGINE DELLE DIFFERENZE NEI 3 GRUPPI DEL FATTORE ETÀ .....	36
3.7. CONFRONTI POST HOC NELLE 3 DIVERSE FASCE D'ETÀ .....	37
3.7.1. post hoc e BMI .....	37
3.7.2. post hoc e test psicometrici .....	38
3.7.3. post hoc ed HRV .....	38
3.8. CORTISOLO NELLE 3 FASCE D'ETÀ .....	40
<b>4. DISCUSSIONE</b> .....	<b>42</b>
4.1. DIFFERENZE DI GENERE .....	42
4.2. DIFFERENZA TRA LE VARIE FASCE D'ETÀ .....	43
4.3. LIMITI DELLO STUDIO E PROSPETTIVE FUTURE .....	45
<b>5. CONCLUSIONI</b> .....	<b>46</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>47</b>
<b>RINGRAZIAMENTI</b> .....	<b>51</b>

### ***Abstract (versione italiana)***

La variabilità della frequenza cardiaca (HRV) è considerata una misura della modulazione neurovegetativa (bilancia simpato-vagale) al nodo senoatriale cardiaco e la sua riduzione è frequentemente riscontrata in pazienti con varie patologie. Oltre che dal sistema nervoso autonomo, l'HRV è influenzata dal cortisolo, dal genere e dall'età e su questi fattori di modulazione si è incentrato lo studio riportato in questa tesi.

Il campione complessivo che abbiamo utilizzato per quest'indagine contava 79 soggetti (38 maschi e 41 femmine), residenti in Parma e Provincia e con riferite condizioni di buona salute. Tutti i soggetti hanno compilato test psicometrici (STAI Y1-Y2, CES-D e PSS), indossato un holter per 24h per la rilevazione della frequenza cardiaca e fornito 4 campioni di saliva per la determinazione del cortisolo salivare.

Si è riscontrata una differenza tra maschi e femmine per quanto concerne il parametro LF/HF (che descrive lo stato della bilancia simpatovagale) in corrispondenza delle seconde 5 ore di registrazione, con i soggetti di sesso femminile che esibivano valori più bassi in questo rapporto, e quindi una modulazione vagale maggiore rispetto a quella dei soggetti di sesso maschile (presentavano valori più alti in questo rapporto e perciò una minore modulazione vagale).

Rispetto all'età, abbiamo rilevato differenze significative nel parametro (i) SDNN (che descrive il livello complessivo di neuromodulazione autonoma) nel corso della notte tra i sottogruppi A vs C (<30 anni vs  $\geq 50$ anni) e tra i sottogruppi B vs C (30-49 anni vs  $\geq 50$  anni). Allo stesso modo abbiamo osservato differenze significative per i parametri HF (che riflette l'attività vagale) e RMSSD (rappresenta la modulazione vagale della frequenza cardiaca) tra sottogruppi A vs C e tra sottogruppi B vs C, ma non tra sottogruppi A vs B (<30 anni vs 30-49 anni). Il rapporto LF/HF nella fase notturna è statisticamente diverso tra tutti e tre i sottogruppi. Questo significa che all'avanzare dell'età i valori dei diversi parametri di HRV si riducono, e

probabilmente la differenza riscontrata tra i tre sottogruppi nel rapporto LF/HF durante la notte riflette uno “shift” nel controllo autonomico.

*Abstract (versione inglese)*

Heart rate variability (HRV) is considered a measure of autonomic neural modulation (sympatho-vagal balance) at the sinus node and its reduction is often found in patients with several pathologies. Other than Autonomic Nervous System (ANS), HRV is influenced by cortisol, gender and age, and about these modulating role of these factors the focus of the study reported in this dissertation.

The sample we used for this research counted 79 healthy subjects (41 female and 38 male), who live in Parma or in its surroundings. All subjects filled a number of psychometric tests (STAI Y1 and Y2, CES-D and PSS), held a holter for 24h for heart rate detection and provided 4 saliva samples for salivary cortisol assessment.

As far as LF/HF is concerned (a marker of sympatho-vagal balance) we found a difference between males and females during the second 5 hours of recording, with female subjects exhibiting lower levels in this parameter, hence a greater vagal modulation compared to male subjects.

Regarding age, we found significant differences in (i) SDNN (describes total level of autonomic neuromodulation) during the night between subgroups A vs C (<30 age vs  $\geq 50$  age) and between subgroups B vs C (30-49 age vs  $\geq 50$  age). Likewise, we observed significant differences for HF (reflecting parasympathetic activity) and RMSSD (vagal modulation of heart rate), between subgroups A vs C and between subgroups B vs C, but not between subgroups A vs B (<30 age vs 30-49 age). Nocturnal LF/HF ratio was significantly different among the three subgroups, suggesting a change in HRV across aging.

The observed differences between subgroups in nocturnal LF/HF ratio presumably reveal initial shift in the autonomic control.

## ***Glossario di terminologia abbreviata***

### 1. Parametri neurofisiologici

- 1) HRV: variabilità della frequenza cardiaca
- 2) HR: frequenza cardiaca
- 3) HR1: frequenza cardiaca delle prime 5 ore della giornata
- 4) HR2: frequenza cardiaca delle seconde 5 ore della giornata
- 5) HR\_notte: frequenza cardiaca di 5 ore durante la notte
- 6) SDNN1: deviazione standard degli intervalli NN delle prime 5 ore del giorno
- 7) SDNN2: deviazione standard degli intervalli NN delle seconde 5 ore del giorno
- 8) SDNN\_notte: deviazione standard degli intervalli NN di 5 ore durante la notte
- 9) RMSSD1: radice quadrata media della differenza tra intervalli adiacenti delle prime 5 ore del giorno
- 10) RMSSD2: radice quadrata media della differenza tra intervalli adiacenti delle seconde 5 ore del giorno
- 11) RMSSD\_notte: radice quadrata media della differenza tra intervalli adiacenti di 5 ore della notte
- 12) HF1: high frequency delle prime 5 ore del giorno
- 13) HF2: high frequency delle seconde 5 ore del giorno
- 14) HF\_notte: high frequency di 5 ore della notte
- 15) RATIO1: LF/HF ratio delle prime 5 ore del giorno
- 16) RATIO2: LF/HF ratio delle seconde 5 ore del giorno
- 17) RATIO\_notte: LF/HF ratio di 5 ore della notte

### 2. Parametri neuroendocrini

- 1) CORT1: livello di cortisolo salivare al risveglio

- 2) CORT2: livello di cortisolo salivare a 30 minuti dal risveglio (awakening+ 30 minuti)
- 3) CORT3: livello di cortisolo salivare alle 12:00
- 4) CORT4: livello di cortisolo salivare alle 22:00

### 3. Test psicometrici

- 1) STAI S: test per l'ansia di stato
- 2) STAI T: test per l'ansia di tratto
- 3) PSS: test per lo stress percepito
- 4) CES-D: test per la sintomatologia depressiva

## ***1. Introduzione***

La variabilità della frequenza cardiaca (HRV) è una misurazione indiretta e non invasiva dei cambiamenti temporali da battito a battito della frequenza cardiaca (A. Sgoifo et al., 2015).

Questa è stata descritta per la prima volta nel 1965 da Hon e Lee, i quali osservarono che il distress fetale era preceduto da cambiamenti nella durata degli intervalli da battito a battito, con un buon anticipo rispetto a cambiamenti rilevanti nella frequenza cardiaca (HR) (A. Sgoifo et al., 2015; B. De Maria et al., 2021). La sua importanza clinica è poi diventata evidente negli anni '80, quando è stato confermato essere un forte e indipendente predittore di mortalità per l'infarto del miocardio (Task Force, 1996; A. Sgoifo et al., 2015), mentre più recentemente una bassa HRV è stata correlata a tutte le cause di mortalità (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014).

L'HRV è considerata una misura della funzione neurocardiaca, che riflette sia l'interazione tra cuore e cervello, sia le dinamiche relative al Sistema Nervoso Autonomo (ANS; F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014; G.E. Billman et al., 2015). Può essere perciò vista come la risposta del cuore a ogni tipo di stimolo. La sua ridotta variazione può essere usata come segnale d'allarme non solo per diversi disturbi psicosomatici, ma anche per descrivere le risposte a fattori di stress cronici e acuti, e sembra poter essere influenzata da patologie come i disturbi dell'umore.

In effetti, una corposa letteratura attesta che una ridotta HRV è riscontrata in pazienti affetti da ansia e depressione, associandole a un aumento del carico allostatico (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014; F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017).

Si può pertanto supporre che HRV sia una delle misure che permettono di scoprire la capacità del corpo di rispondere a stimoli interni ed esterni, in quanto riflette adattabilità, regolazione emotiva e flessibilità comportamentale, al fine di mantenere l'equilibrio (R. Tiwari, et al. 2021;



L.M. Lesnewicha et al. 2019). Per queste ragioni è stato suggerito che potesse essere un utile endofenotipo alla base dei disturbi psicosomatici e psicologici (J.F. Thayer, R.D. Lane, 2009).

### *1.1. HRV*

Il meccanismo fisiologico alla base dell'HRV esemplifica il collegamento stretto ma complesso tra cuore e cervello. I battiti cardiaci sono avviati dall'impulso generato dal nodo senoatriale (SA), un fascio di cellule specializzate nel cuore che detta il ritmo delle contrazioni cardiache. Il cuore è a sua volta controllato dalle complesse interazioni tra diversi sistemi regolatori e attività meccaniche come la respirazione (T. Pham et al., 2021).

L'ANS, che regola dinamicamente la frequenza cardiaca (T. Pham et al., 2021), si compone di due branche principali: il sistema nervoso simpatico (SNS), responsabile dell'accelerazione di HR, e la cui attività è associata alla mobilitazione di riserve energetiche; e il sistema nervoso para-simpatico (PNS), responsabile della decelerazione di HR, e associato a funzioni ristorative e vegetative (J.F. Thayer, E. Sternberg, 2006; J.F. Thayer, A.L. Hansen, 2009).

Normalmente questi due sistemi lavorano tra loro in un equilibrio dinamico, rendendo l'organismo capace di fronteggiare in modo rapido ed efficace situazioni di incertezza o di cambiamento dell'ambiente circostante, favorendo stabilità, adattabilità e salute all'organismo. La HR è infatti determinata dall'attività congiunta delle fibre simpatiche e parasimpatiche (nervo vago, da cui il termine "vagale") su SA, oltre che da meccanismi cardiaci interni (J.F. Thayer, A.L. Hansen, 2009). In condizioni di riposo HR è sotto il controllo tonico e inibitorio esercitato dalla modulazione vagale, nonostante SNS e PNS siano comunque in costante interazione dinamica (J.F. Thayer, E. Sternberg, 2006; Task Force, 1996; J.F. Thayer, A.L. Hansen, 2009).

In corrispondenza di un disequilibrio tra questi, per cui una branca domina sull'altra (in condizioni di stress è SNS a essere iperattivo e PNS è ipoattivo), è possibile riscontrare una serie di patologie (J.F. Thayer, E. Sternberg, 2006; F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017). Nello specifico, quando a dominare per lungo tempo è la componente simpatica, la richiesta energetica del sistema diventa eccessiva, portando verso quello che McEwen ha definito “carico allostatico”. Questa condizione sarebbe caratterizzata da ipoattività da parte della corteccia prefrontale (PFC), che normalmente esercita una modulazione inibitoria top-down su centri inferiori, come l'amigdala (J.F. Thayer, E. Sternberg, 2006).

È stato visto che una disinibizione dei nuclei centrali dell'amigdala (CeA) porta a una simultanea disinibizione dei neuroni simpatoeccitatori nel midollo allungato rostrale ventrolaterale (RVLM), sia in modo diretto sia in modo indiretto, conducendo a un netto aumento dell'attività simpatica; d'altra parte, l'attivazione di CeA porta anche a un'inibizione dei motoneuroni vagali nel nucleo ambiguo (NA) e nel nucleo motorio vagale dorsale (DVN), provocando il decremento dell'attività parasimpatica. Ciò che ne consegue è un aumento di HR e un decremento di HRV (J.F. Thayer, A.L. Hansen, 2009).

## *1.2. Parametri di HRV*

L'HRV viene quantificata analizzando le variazioni degli intervalli di tempo tra battiti cardiaci normali consecutivi (Task Force, 1996; A. Sgoifo et al., 2015), e può essere indagata a partire da registrazioni a lungo termine (es. 24h), a breve termine (es. 5 minuti), analizzando per lo più parametri calcolati nel dominio del tempo e nel dominio della frequenza (F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017).

Nel dominio del tempo si quantifica l'ammontare di variabilità presente in una distribuzione periodica focalizzandosi su differenze tra battiti successivi (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr,

2014; F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017). Questi parametri sono calcolati con semplici metodi matematici, che quantificano la variabilità presente in un periodo di tempo specifico, in un segnale ECG continuo (A. Sgoifo et al., 2015). Per 24h di registrazione le misure più importanti risultano essere SDNN, SDNN index e RMSSD (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014).

SDNN è la deviazione standard tra due intervalli NN (normal-to-normal interval), e riflette tutte le componenti cicliche responsabili della variabilità durante il periodo della registrazione (Task Force, 1996); i suoi valori inoltre riflettono lo stato di equilibrio tra controllo simpatico e parasimpatico di HR; questo significa che riflette la variabilità complessiva di HR, includendo il contributo di ambo i rami di ANS (A. Sgoifo et al., 2015). Un valore che vada da 0-50 ms pone il soggetto che lo presenta a un rischio di morte più alto del 400% rispetto a soggetti che presentano valori tra 50-100 ms (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014).

SDNN index rappresenta invece la media delle deviazioni standard di tutti gli intervalli NN di ogni 5 minuti, in una registrazione di 24h (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014; Task Force 1996; F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017); si ritiene che sia primariamente una misura dell'influenza autonoma complessiva su HRV, e tende a correlare con i valori di VLF (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014).

RMSSD infine è la radice quadrata media di differenze tra intervalli adiacenti (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014; Task Force, 1996). Questa rappresenta la varianza della frequenza cardiaca, ed è la prima misurazione utilizzata nel dominio del tempo per stimare i cambiamenti mediati vagalmente, riflessi nella HRV (indice vagale affidabile poiché quantifica le variazioni a breve termine ad alta frequenza -HF) dell'intervallo R-R, dovute esclusivamente all'attività di PNS (F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017; A. Sgoifo et al., 2015).

Diversamente, nel dominio della frequenza abbiamo a che fare con l'analisi spettrale, che scompone la fluttuazione del segnale dipendente dal tempo nelle sue componenti sinusoidali,

permettendo di indagare e quantificare l'ammontare della variazione ciclica che è presente a diverse frequenze. Per ottenere una stima spettrale affidabile, e attribuire alle singole componenti meccanismi fisiologici ben definiti, è necessario che il segnale sia stabile; il che significa che eventi quali dati mancanti, eventi aritmici, rumore ecc. (artefatti), devono essere rimossi dal segnale prima che ne venga condotta l'analisi spettrale (Task Force, 1996, A. Sgoifo et al., 2015).

Le bande di frequenza che qui vengono stimate sono 4, ovvero ULF (ultra low frequency), VLF (very low frequency), LF (low frequency) and HF (high frequency) (Task Force, 1996; F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017). Questi parametri sono spesso usati nel tentativo di meglio differenziare le influenze da parte di SNS e PNS; inoltre è stato suggerito che ognuno di questi indichi un particolare aspetto dell'attività autonoma (M. Kidwell and B.A. Ellenbroek, 2018).

La fascia HF varia in un range da 0.15 a 0.4 Hz, ed è spesso chiamata "fascia respiratoria" in quanto corrisponde alle variazioni di HR relative al ciclo respiratorio. Sappiamo infatti che durante la fase d'inspirazione HR accelera, mentre decelera durante l'espiazione: mentre inspiriamo, il centro cardiovascolare inibisce la modulazione vagale, il che ha come risultato un'accelerazione di HR; invece, nel momento in cui espiriamo l'afflusso vagale si ristabilisce, portando al rallentamento di HR grazie al rilascio di acetilcolina (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014). Questa fascia riflette quindi l'attività vagale (o parasimpatica; ruolo confermato dopo esperimenti di vagotomia e di blocco dei recettori muscarinici) e la sua influenza sul cuore, e la sua riduzione è stata trovata in pazienti che presentano patologie cardiovascolari, ma anche in soggetti che esibiscono problemi legati a panico, ansia e depressione (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014; L.M. Lesnewicha et al., 2019; A. Sgoifo et al., 2015). HF risulta essere correlata fortemente al parametro RMSSD del dominio del tempo (F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017).

La fascia LF invece, varia in un range tra 0.04 e 0.15 Hz e in precedenza ci si riferiva a questa come ad “ambiti di variazione legati all’attività dei barocettori”, in quanto riflette primariamente l’attività di questi sensori di pressione a riposo (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014). In questa condizione il baroriflesso riporta informazioni circa la pressione sanguigna e modula l’attività autonoma, in quanto i potenziali d’azione dei barocettori trasmettono al nucleo del tratto solitario (NTS; che si trova nel midollo allungato), il quale usa la frequenza di scarica dei barocettori per misurare la pressione sanguigna. Un aumento dell’attività all’interno di NTS fa sì che i centri vasomotori vengano inibiti mentre i nuclei vagali vengano stimolati, portando a una depressione di HR grazie alla maggiore attivazione parasimpatica; in questo modo il baroriflesso ottimizza la riduzione della pressione sanguigna quando questa è rilevata come troppo alta (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014). Allo stesso modo, un’attivazione simpatica promuove l’inibizione dell’afflusso vagale, permettendo al baroriflesso di aumentare la pressione del sangue (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014). La fascia LF sembra riflettere un contributo misto, che arriva sia da parte di SNS sia da parte di PNS; sembra però presentare una maggior sensibilità all’attività simpatica (M. Kidwell and B.A. Ellenbroek, 2018), in quanto un aumento della sua potenza è stata osservata conseguentemente all’attivazione simpatica (es. stress, emorragia; A. Sgoifo et al., 2015).

Abbiamo poi la fascia VLF, il cui range varia da 0.0033 a 0.04 Hz. Storicamente questo parametro non è stato indagato tanto quanto HF e LF, e per questo risulta meno compreso (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014; M. Kidwell and B.A. Ellenbroek, 2018), ma pare che i suoi valori siano fondamentali per la salute, in quanto una bassa VLF è associata a morte cardiaca improvvisa, al disturbo da stress post-traumatico (PTSD), ad alti livelli d’infiammazione e a bassi livelli di testosterone; in generale presenta un’associazione molto più forte con tutte le cause di morte, rispetto a LF e HF (F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017). È stato suggerito che alterazioni in questo parametro riflettano input parasimpatici (M. Kidwell

and B.A. Ellenbroek, 2018), in quanto il blocco di PNS sopprime VLF quasi completamente (F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017).

Vediamo infine ULF, che presenta frequenze inferiori a 0.003 Hz, e al momento è l'unica tra i parametri visti su cui non ci sono accordi circa i meccanismi che vanno a generarla (se SNS o PNS) (F. Shaffer, J. P. Ginsberg, 2017), anche se ha un alto valore predittivo di mortalità rispetto all'infarto del miocardio (M. Kidwell and B.A. Ellenbroek, 2018).

C'è poi un parametro che inizialmente non è stato citato, in quanto non è un parametro a sé ma un rapporto tra LF e HF, ed è la LF/HF ratio. La sua interpretazione è controversa, in quanto la relazione tra PNS e SNS nel generare LF è complessa, non lineare, e dipendente dalle manipolazioni sperimentali (inoltre ricordiamo che la sua varianza è influenzata da meccanismi vagali, simpatici e dal baroriflesso). In ogni caso, spesso si assume che una bassa ratio rifletta un'attività maggiormente parasimpatica, promuovendo la conservazione delle risorse energetiche, mentre un'alta ratio può essere osservata quando le persone devono affrontare difficoltà che richiedono uno sforzo e un incremento dell'attività di SNS (F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr, 2014). Questa viene comunemente considerata come una misura indiretta della bilancia simpatovagale (A. Sgoifo et al., 2015).

### *1.3. HRV e cortisolo*

Il cortisolo è un ormone steroideo sintetizzato e rilasciato dalla corteccia del surrene a seguito di un segnale a cascata neuroendocrino coordinato dal cervello, grazie all'asse ipotalamo-ipofisi-corticale del surrene (HPA axis; A. Clow, N. Smyth, 2020).

Quest'ormone è prodotto per la maggior parte durante le prime ore successive al risveglio, per poi diminuire in modo significativo durante il giorno (segue perciò un ritmo circadiano). Nello specifico, nei primi 30 minuti (a partire dal risveglio) assistiamo a un aumento nei suoi livelli,

che poi decrescono nell'arco del resto della giornata, per arrivare alla sera presentando circa il 10% del livello di cortisolo mattutino (A. Clow, N. Smyth, 2020; S. Chojnowska et al., 2021). L'aumento appena citato nei livelli di cortisolo a mezz'ora dal risveglio, è conosciuto come "*cortisol awakening response*" (CAR), e una delle più prominenti teorie a riguardo, sostiene che tale aumento sia funzionale affinché gli individui siano in grado di far fronte alle esigenze del nuovo giorno. Interessante notare che mentre durante la settimana (giorni lavorativi) sarebbero le donne a presentare una CAR maggiore rispetto agli uomini, nel weekend tale andamento si invertirebbe (gli uomini presentano un CAR maggiore delle donne); questo potrebbe derivare dal fatto che tendenzialmente le donne al mattino devono occuparsi non solo di loro stesse, ma anche delle faccende domestiche e dei figli (A. Steptoe, B. Serwinski, 2016). Secondo un articolo pubblicato da Thayer e Sternberg (2006), è stata osservata una relazione tra HRV e cortisolo, il che suggerisce che una regolazione appropriata dell'asse HPA dipenda in parte da ANS, presentando per la maggior parte influenze parasimpatiche (J.F. Thayer, E. Sternberg, 2006).

Quando una persona è esposta a stress, di tipo sia fisico sia mentale, ciò che osserviamo è un aumentato rilascio del cortisolo da parte delle ghiandole surrenali, in risposta a ciò che percepisce come una minaccia. Il rilascio di quest'ormone va ad attivare il metabolismo, rendendo disponibili all'organismo riserve energetiche al fine di far fronte a tale minaccia (S. Chojnowska et al., 2021; A. Clow, N. Smyth, 2020). Ciò è sicuramente utile in una situazione in cui l'incolumità dell'individuo è a rischio, ma è una reazione spessa e spropositata nel momento in cui abbiamo a che fare con un comune stress psicologico (A. Clow, N. Smyth, 2020).

Un'esposizione prolungata al cortisolo può portare a cambiamenti strutturali nelle regioni cerebrali responsabili della modulazione di risposta allo stress. È stato inoltre dimostrato che

ansia e depressione sono spesso caratterizzate da disregolazioni dell'asse HPA (iperattività o ipoattività dell'asse), le quali sembrano svolgere un ruolo centrale nel sovraccarico allostatico e nella malattia (A. Clow, N. Smyth, 2020; A. Fiksdal et al., 2019).

Per quanto riguarda le differenze rispetto al genere e all'età, in letteratura troviamo studi contrastanti. Secondo alcuni vi è una più alta baseline nei livelli di cortisolo negli uomini, ma secondo altri studi non ci sarebbero differenze significative tra maschi e femmine (C. Kirschbaum, S. Wüst, D. Hellhammer, 1992).

In uno studio del 1996, Van Cauter et al. hanno dimostrato che i livelli di cortisolo nel plasma dei giovani adulti sono più bassi nelle donne rispetto agli uomini e questo dipenderebbe dal fatto che la risposta femminile al segnale circadiano sia più lenta e presenti una minor magnitudo, oltre a tornare a livelli di base più rapidamente. Diversamente, negli uomini è stato riscontrato che il profilo della secrezione di cortisolo è caratterizzato da periodi di stasi più brevi e da più alti e prolungati innalzamenti al mattino presto (E. Van Cauter, R. Leproult, D.J. Kupfer, 1996).

Sempre nello stesso studio, circa l'avanzamento dell'età, gli autori ci dicono che sembra essere presente un progressivo declino rispetto all'inibizione endogena delle secrezioni di cortisolo notturno in entrambi i sessi; ciò emerge dal ritardo nell'insorgenza del periodo di quiescenza, oltre che da livelli più alti di cortisolo notturno (E. Van Cauter, R. Leproult, D.J. Kupfer, 1996).

#### *1.4. HRV, genere ed età*

L'HRV decresce con l'aumentare dell'età, e indagando i parametri che la quantificano, è visibile un decremento in ognuno di essi. Si osserva un declino prematuro di parametri come RMSSD, che riflettono il decremento della modulazione parasimpatica su HR (K. Umetani et



al, 1998; J. Koenig, J.F. Thayer, 2016; M.K. Boettger et al., 2010). Tale declino sembra stabilizzarsi quando i soggetti superano i 60 anni di età (K. Umetani et al, 1998).

Nello specifico, un maggiore e rapido declino di HRV rispetto all'età viene rilevato nella 2°, 9° e 10° decade di vita (K. Umetani et al, 1998). Il parametro che sembra maggiormente correlare con l'invecchiamento è l'SDNN index, che esibisce un decremento lineare (K. Umetani et al, 1998), e potrebbe riflettere il più lento declino dell'attività simpatica rispetto a quella parasimpatica (K. Umetani et al, 1998; J. Koenig, J.F. Thayer, 2016).

Oltre a essere influenzata dall'età, l'HRV sembra essere influenzata anche dal genere del soggetto, nonostante i risultati siano controversi (K. Umetani et al, 1998). In un lavoro Zhang avrebbe dimostrato che l'età ha un maggiore impatto su HRV rispetto al genere e che il genere non influenzerebbe significativamente l'HRV stessa (J. Zhang, 2007).

Altri studi invece, come quello di Koenig e Thayer (2016), sottolineano la presenza di differenze in base al genere nei diversi parametri di HRV. Dalle meta-analisi da loro effettuate emerge una maggiore HF tra le femmine, assieme a una minor LF/HF ratio rispetto ai maschi. Tramite una meta-regressione invece, hanno trovato un più basso SDNN ma un più alto RMSSD nelle donne rispetto agli uomini. Inoltre, invecchiando le donne continuerebbero a mostrare un maggior RMSSD rispetto agli uomini, mentre tali differenze sfumano nel caso del parametro SDNN (J. Koenig, J.F. Thayer, 2016). Tali risultati indicherebbero che il controllo autonomico sul cuore delle donne è caratterizzato da una relativa dominanza dell'attività parasimpatica, nonostante presentino una maggior HR media rispetto agli uomini, che sembrano invece presentare una maggior dominanza simpatica (J. Koenig, J.F. Thayer, 2016).

Le differenze in base al genere tendono a scomparire verso i 50 anni (anche se tale età di riferimento può cambiare in base alla misura utilizzata) (K. Umetani et al, 1998).

Diversi studi suggeriscono una maggiore reattività del sistema parasimpatico nelle femmine e una maggiore reattività del sistema nervoso simpatico nei maschi (A.C. Nugent et al., 2011). Tali differenze potrebbero derivare dal diverso modo di rispondere allo stress: è stato proposto da Taylor et al (2000), che le risposte femminili allo stress seguano più probabilmente un modello "*tend-and-befriend* ", mentre le risposte maschili seguono più probabilmente un modello "*fight or flight*" correlato all'eccitazione simpatica (S.E. Taylor et al. 2000; A.C. Nugent et al., 2011; D.P. Spangler et al., 2021).

Secondo la teoria "*tend and befriend*", le femmine di mammifero esercitano un ruolo maggiore nel prendersi cura della prole rispetto ai maschi, portandole ad avere un maggior senso di protezione verso sé stesse e la propria progenie dal distress emotivo. Di fronte a una sollecitazione ambientale, le donne mostrerebbero un'attività vagale e una reattività dell'ossitocina intensificata, risposte che sono "programmate" per compensare un maggiore disagio e promuovere l'affiliazione. Diversamente, i maschi risponderebbero allo stress con una risposta di tipo "lotta o fuga", che comporta un ritiro sociale e una soppressione vagale (D.P. Spangler et al., 2021).

La teoria "*tend-and-befriend*" propone una connessione diretta tra la funzione parasimpatica (vagale) e le risposte compensatorie, in modo coerente con il modello di integrazione neuroviscerale, in cui HRV vagalmente mediata (vmHRV) rappresenterebbe uno specchio della capacità di regolazione delle emozioni.

Nel loro insieme, queste teorie prospettano una maggiore vmHRV nelle donne rispetto agli uomini, rappresentanti una risposta compensatoria, ovvero per una maggior pressione disadattiva ci sarebbero maggiori sforzi di regolazione delle emozioni. Negli uomini invece, un'alta vmHRV potrebbe riflettere un'emozione disadattiva minore (D.P. Spangler et al., 2021).

L'obiettivo del presente studio, è quello di valutare le caratteristiche psicobiologiche in una popolazione sana residente nella città di Parma. In primo luogo è stata valutata una possibile associazione tra le caratteristiche psicologiche e i parametri fisiologici; in secondo luogo si è voluto indagare quali possano essere le differenze in base alle caratteristiche autonome, ai livelli di cortisolo e ai risultati ai test psicometrici, andando a valutare da una parte le possibili influenze dettate dal genere di appartenenza, mentre dall'altra il possibile influsso derivante dall'età.

## **2. Materiali e metodi**

### *2.1. Soggetti*

L'intero studio ha previsto il reclutamento di 80 soggetti da parte del laboratorio di fisiologia dello stress facente parte del Dipartimento di scienze chimiche, della vita e della sostenibilità ambientale, e sono stati arruolati i soggetti che hanno rispettato 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.

In definitiva, in questa tesi sono riportati i risultati di un campione formato da 79 soggetti, 38 maschi e 41 femmine.

### *2.2. Protocollo*

#### 2.2.1. Materiali

Ai soggetti è stato consegnato un kit al cui interno erano presenti 4 provette per la raccolta di campioni salivari. Oltre a ciò, nel kit era presente un Holter con 2 polarità e 4 elettrodi (2 di scorta nel caso l'Holter dovesse essere rimosso).

Ai soggetti è stato poi chiesto di compilare 6 questionari psicometrici: la Scala della depressione del Centro per gli Studi Epidemiologici (CES-D), lo State-Trait Anxiety Inventory (STAI-Y),

il Questionario sull'attività fisica quotidiana (IPAQ), il Questionario di Berlino e la Scala per lo Stress Percepito (PSS)

### 2.2.2. Procedura

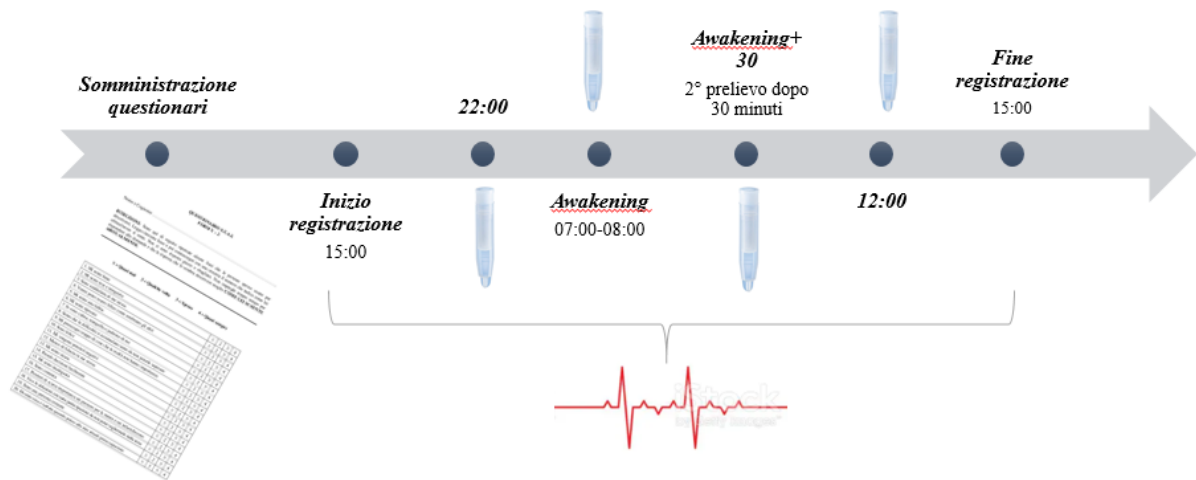


Figura 1. Linea temporale esplicativa della procedura sperimentale

Come riportato in Figura 1, ai soggetti è stato chiesto di prelevare un campione della propria saliva al momento del risveglio (circa le 08:00 del mattino), grazie a un campione di cotone posizionato sotto la lingua, senza aver precedentemente aver ingerito alcuna sostanza, al fine di mantenere inalterato il cortisolo salivare. Un secondo prelievo è stato richiesto 30 minuti dopo il primo, sempre chiedendo al soggetto di non ingerire sostanze che potessero alterare i livelli di cortisolo salivare (era compreso anche il lavarsi i denti). Un terzo prelievo è stato richiesto alle ore 12:00 (in questo caso la non ingestione di sostanze copriva tutta l'ora precedente), e infine l'ultimo è stato richiesto alle ore 22:00 (con le stesse limitazioni dell'ingestione di sostanze del terzo prelievo). Spesso il primo prelievo di cortisolo salivare è stato prelevato dai soggetti alle 22:00, il secondo al risveglio, il terzo 30 minuti dopo il risveglio e l'ultimo in

questo caso, alle 12:00 (era fondamentale che i 4 campioni di saliva fossero raccolti durante le 24h di registrazione dell'holter).

L'holter veniva applicato lo stesso giorno, prima di raccogliere il primo campione di cortisolo salivare, chiedendo al soggetto di rimanere a riposo nei primi 10 minuti, evitando l'utilizzo di strumenti tecnologici.

Anche i questionari psicometrici venivano compilati nella stessa giornata.

### *2.3. Test psicometrici*

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

Il CES-D è un breve test pubblicato per la prima volta da Radloff nel 1977, che permette di indagare la sintomatologia depressiva all'interno della popolazione generale. Questo si compone di 20 item, su scala Likert a 4 punti, le cui opzioni di risposta vanno da 0 a 3 per ciascun elemento (0 = Raramente o Nessuna volta, 1 = Qualche volta o Poco, 2 = Moderatamente o Gran parte del tempo, 3 = La maggior parte o Quasi sempre). Il punteggio ottenibile va da 0 a 60, con punteggi alti che indicano la presenza di maggiori sintomi depressivi. Nello specifico, le varie domande fanno riferimento alla presenza o meno di sintomatologia, all'interno dell'ultima settimana (L.S. Radloff, 1977; APA).

#### 2.3.2. State-Trait Anxiety Inventory

Lo STAI è un test pubblicato per la prima volta da Spielberger nel 1983, al fine di valutare l'intensità dei sentimenti d'ansia; può essere infatti utilizzato anche in contesti clinici al fine di diagnosticare l'ansia e distinguerla dalle sindromi depressive.

Il questionario si compone di 40 items, i primi venti indagano l'ansia di stato (Y1), mentre i restanti venti valutano l'ansia di tratto (Y2). Nello specifico l'ansia di stato si riferisce a sentimenti transitori di apprensione, tensione, agitazione e preoccupazione, e riflette quanto un soggetto percepisca l'ambiente intorno a sé come minaccioso; diversamente, l'ansia di tratto fa riferimento a una predisposizione della personalità che descrive la tendenza a percepire le situazioni come minacciose, e dunque a esperire uno stato d'ansia in situazioni stressanti.

Ogni item viene valutato su una scala a 4 punti, andando da un minimo di 1 (=quasi mai) a un massimo di 4 (= quasi sempre); il punteggio totale va perciò da un minimo di 20 a un massimo di 80 (C.H. Spielberger, 1968, 1977; APA), e in merito all'interpretazione è stato proposto che da un punteggio di 39-40 ad aumentare, possa essere indagata una sintomatologia ansiosa (L.J. Julian, 2011).

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

Il PSS è lo strumento psicologico maggiormente utilizzato al fine di misurare la percezione dello stress.

Questo va a indagare il grado in cui le situazioni nella vita di una persona vengono valutate come stressanti; per questa ragione i diversi item che lo compongono sono stati ideati per inferire quanto imprevedibile, incontrollabile o sovraccarica un soggetto esperisca la propria vita.

Questa scala presenta una serie di domande rispetto ai livelli attuali di stress percepito (nello specifico si focalizza su sentimenti e pensieri provati dal soggetto nell'ultimo mese). La valutazione degli items va da un minimo di 0 (= mai) a un massimo di 4 (= molto spesso) (S. Cohen, 1994).

#### *2.4 Frequenza cardiaca e variabilità della frequenza cardiaca*

Il segnale elettrocardiografico è stato ottenuto mediante l'applicazione degli holter Firstbeat Bodyguard 2 (Firstbeat Technologies Ltd, Jyväskylä, Finlandia, s.d.).

La registrazione ottenuta è poi stata processata, e con la trasformazione dei tracciati in tacogramma è stata possibile la rappresentazione nel tempo della distanza tra RR successivi; il tutto è stato poi analizzato tramite il programma KubiosHRVstandard (Varsitie, Kuopio, Finland).

Ogni tracciato ottenuto dalla registrazione dell'holter è stato poi suddiviso in intervalli di 5 minuti, in base alla tempistica del protocollo sperimentale e per ciascuno degli intervalli è stata calcolata l'HR media (bpm) insieme ai suoi indici di variabilità (HRV).

All'interno del dominio del tempo è stata quantificata la RMSSD (ms), parametro che come visto precedentemente riflette la regolazione parasimpatica di HR, assieme a SDNN (ms), che ricordiamo essere la deviazione standard tra due intervalli NN (R-R), i cui valori riflettono lo stato di equilibrio tra controllo simpatico e parasimpatico di HR.

All'interno del dominio delle frequenze invece, è stata eseguita un'analisi spettrale e grazie alla trasformata di Fourier sono state ottenute le diverse componenti sinusoidali dello spettro, che ricordiamo essere HF, LF, VLF e ULF, assieme alla LF/HF ratio. Nello specifico, tra questi parametri abbiamo utilizzato HF, che ricordiamo riflettere l'attività vagale, e la LF/HF ratio, che come già visto è un indice che fornisce informazioni rispetto all'equilibrio simpato-vagale.

#### *2.5 Campioni salivari e determinazione del cortisolo*

I campioni salivari sono stati prelevati in autonomia dagli stessi soggetti grazie a tamponi di cotone, i quali sono poi stati conservati all'interno delle provette (SalivaBio Oral Swab,



Salimetrics, UK; erano presenti nel kit), a una temperatura di  $-80^{\circ}\text{C}$  fino al momento dell'analisi.

La determinazione dei livelli di cortisolo all'interno dei campioni salivari è stata effettuata tramite l'ELISA test. Nello specifico, per quantificare i livelli di cortisolo salivare i campioni sono stati scongelati (raggiungendo così la temperatura ambiente), dopo di che sono stati centrifugati a 1500g per 10 minuti. Tale processo viene compiuto al fine di rimuovere mucine e altre particelle, in quanto potrebbero falsare i risultati andando a ostacolare il legame antigene-anticorpo.

Successivamente abbiamo prelevato il surnatante ( $25\ \mu\text{l}$ ) per poi rilasciarlo in uno dei 96 pozzetti presenti sulla piastra, secondo uno schema predefinito. In base alle istruzioni del *Kit Immunoassay* (Salimetrics, UK) poi, ogni campione è stato saggiato in doppio.

Grazie poi al lettore di piastre Biotek 800 TS Absorbance reader e al software Gen5, abbiamo determinato i valori di cortisolo salivare relativo a ogni pozzetto.

## 2.6 Analisi dei dati

In primo luogo, è stata eseguita un'analisi descrittiva delle variabili psicobiologiche in esame, per ciascuna di esse sono poi stati verificati i requisiti per l'applicazione della statistica inferenziale, ovvero sono state valutate la normalità della distribuzione (Test di Shapiro-Wilks) e la varianza dei residui (Test di Levene). Pertanto, al fine di indagare la possibile associazione tra le variabili psicologiche e fisiologiche sono state svolte correlazioni bivariate. HR1, HR2, HR\_notte, SDNN1 e SDNN2 sono parametri fisiologici che presentano una distribuzione tendente alla normale ("1" indica la registrazione delle prime 5 ore diurne; "2" indica la registrazione delle seconde 5 ore diurne; "\_notte" si riferisce all'utilizzo di 5 ore di registrazione

acquisite durante il riposo notturno), mentre per tutti gli altri parametri di HRV tale prerequisite non è stato rispettato: per questo motivo sono stati trasformati in logaritmi con base naturale.

La correlazione svolta successivamente è quella di Pearson (nelle varie tabelle sono indicati i coefficienti di Pearson). Nello specifico, la prima è la bivariata, la seconda è una correlazione parziale (qui è stato controllato l'effetto dell'età), e la terza è sempre una correlazione parziale, dove viene controllato l'effetto non solo dell'età ma anche del BMI.

Per quanto riguarda le differenze di genere, al fine di vedere le diversità nei vari parametri è stato svolto un t-test per campioni indipendenti. L'omoschedasticità è stata garantita grazie a Levene statistic (test per l'omogeneità della varianza).

L'unica distribuzione a non rispettare l'omoschedasticità è quella del cortisolo+ 30 (cortisolo dopo 30 minuti dal risveglio).

I soggetti sono stati divisi in 3 gruppi in base al parametro età (gruppo A <30 anni; gruppo B 30-49 anni; gruppo C  $\geq$  50anni). È stata poi svolta un ANOVA a una via e sono stati svolti test post hoc applicando la correzione di Bonferroni, al fine di individuare le probabilità associate ai vari confronti.

Tutte le analisi qui presenti sono state svolte tramite l'utilizzo del programma SPSS.

### 3. Risultati

Il campione complessivo si compone di 38 maschi e 41 femmine; i soggetti riferiscono condizioni di buona salute e hanno residenza in Parma e Provincia. L'età media, con relativa deviazione standard e il BMI (con relativo errore standard) sono presentati in tabella 1. Il BMI risulta significativamente diverso nei due gruppi, con un p value= .000 e un effect size molto forte= .929

	MASCHI	FEMMINE	t	p	d
N	38	41			
ETA'	35,605 (±13,818)	37,537 (±14,584)			
BMI	25,355 (±0,614)	21,938 (±0,581)	4,095	.000	.929

Tabella 1. N, età e BMI nei gruppi di maschi e femmine

Legenda: † valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi <.01

#### 3.2. Differenza di genere nei test psicometrici

Per ognuno dei 2 gruppi sono stati calcolati media ed errore standard per i 4 test psicometrici somministrati, ovvero STAI (Y1-Y2), PSS e CES-D. Questi si trovano all'interno della tabella 2. Le differenze riportate non risultano essere significative, pertanto non abbiamo differenze tra i due generi per quanto riguarda sintomatologia ansiosa, depressiva e i livelli di stress percepito.

	MASCHI	FEMMINE	t	p	d
STAI S	37,541 (±1,884)	37,561 (±1,426)	- .009	.993	- .002
STAI T	40 (±2,013)	39,625 (±1,383)	.026	.876	- .002
PSS	17,243 (±1,174)	15,976 (±0,979)	.796	.400	.192
CES-D	14,324 (±1,822)	12,902 (±1,558)	.604	.547	.137

Tabella 2. Differenza di genere nei test psicometrici

Legenda: † valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi <.01

### 3.3. Differenze di genere nei livelli di cortisolo

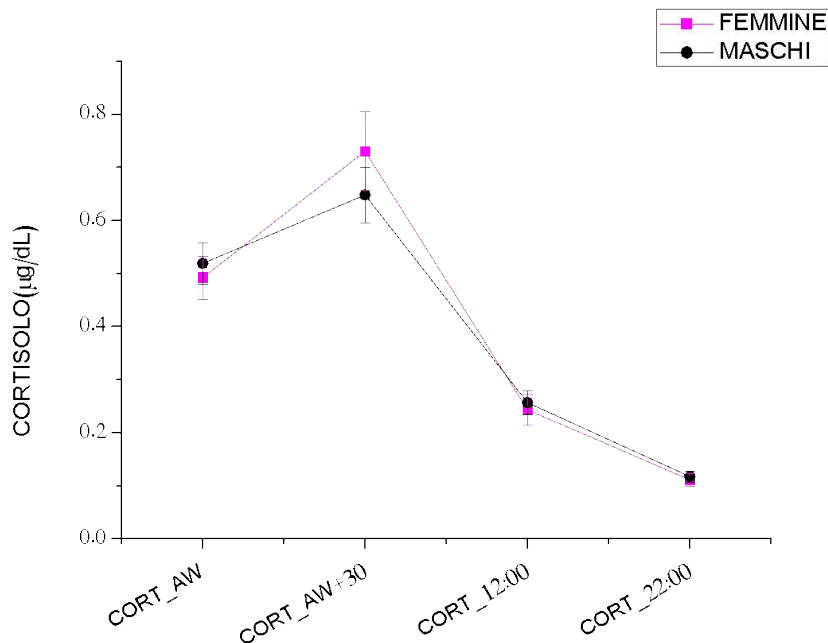


Figura 2. Differenza nei livelli di cortisolo nei 4 prelievi giornalieri tra maschi e femmine. AW= awakening; AW+30= awakening+ 30 minuti

In figura 2 troviamo l'andamento dei livelli di cortisolo nei due generi. Abbiamo una forte sovrapposizione tra i livelli di cortisolo nei due gruppi, a eccezione di una differenza maggiore tra maschi e femmine in CORT2 (livello di cortisolo salivare a 30 minuti dal risveglio), per cui le femmine presenterebbero una maggior CAR rispetto agli uomini; tale differenza non è però significativa ( $p\text{-value} = .945$ ).

### 3.4. Differenze di genere nei parametri fisiologici di HRV

All'interno della tabella sottostante (Tabella 3) sono riportati i parametri indagati di HRV per i due generi, dove le diciture "1" e "2" accanto ai diversi indici si riferiscono rispettivamente alle prime 5 ore di registrazione indagate e alle seconde 5 ore di registrazione indagate; la dicitura "notte" invece fa riferimento a 5 ore di registrazione indagate durante il riposo notturno. Le

misure qua sotto riportate si riferiscono a media ed errore standard sia dei valori registrati (HR1, HR2, HR\_notte, SDNN1, SDNN2, che ricordiamo essere tendenti alla normale), sia dei loro logaritmi su base naturale (tutti gli altri parametri).

	MASCHI	FEMMINE	t	p	d
HR1	77,608 (±1,622)	81,208 (±1,801)	-1,467	.146	- .338
HR2	80,678 (±1,912)	81,251 (±1,687)	- .225	.822	- .052
HR_notte	60,795 (±1,324)	62,725 (±1,462)	- .967	.337	- .223
SDNN1	42,228 (±2,098)	40,173 (±1,915)	.724	.471	.167
SDNN2	38,247 (±2,072)	40,163 (±2,091)	- .647	.520	- .149
SDNN_notte	45,420 (±2,963)	42,486 (±2,969)	.827	.411	.190
RMSSD1	31,090 (±2,008)	31,546 (±2,345)	.142	.887	.033
RMSSD2	27,282 (±1,884)	32,956 (±2,469)	-1,631	.107	- .375
RMSSD_notte	44,843 (±4,633)	44,526 (±4,462)	- .028	.978	- .006
HF1	428,233 (±56,496)	496,895 (±75,601)	- .272	.787	- .063
HF2	345,656 (±51,887)	521,390 (±75,605)	-1,646	.104	- .379
HF_notte	988,967 (±191,429)	986,162 (±236,699)	- .118	.906	- .027
RATIO1	5,463 (±0,425)	4,771 (±0,478)	1,617	.110	.372
RATIO2	5,728 (±0,520)	4,395 (±0,523)	2,455	.016*	.565
RATIO_notte	2,819 (±0,317)	1,953 (±0,188)	1,771	.084 <sup>+</sup>	.408

Tabella 3. Differenza di genere nei parametri autonomici di HRV

Legenda: <sup>+</sup> valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi <.01

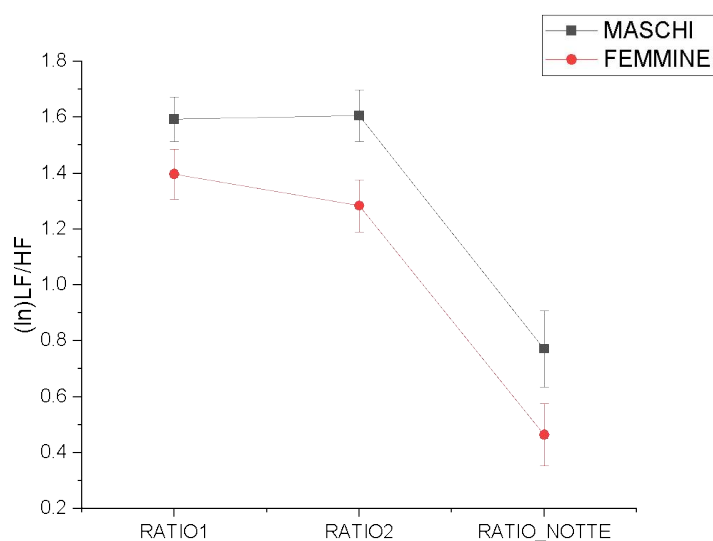


Figura 3. RATIO in maschi e femmine in una registrazione di 24h

In Figura 3 è riportata la differenza significativa tra maschi e femmine rispetto al parametro RATIO2 (ricordiamo che quando parliamo di RATIO ci riferiamo al rapporto LF/HF, e che con “2” ci riferiamo alle seconde 5 ore di registrazione), con un p-value = 0.016, e un effect size moderato = .565 (d di Cohen). Risulta invece a soglia di significatività la RATIO\_notte, con un p-value = 0.081, e un effect size basso-moderato = .408. Essendo tale RATIO un indice indiretto della bilancia simpatovagale, questi dati ci dicono che le femmine presentano un maggior apporto della branca parasimpatica rispetto ai maschi, che presentano un apporto prevalentemente simpatico.

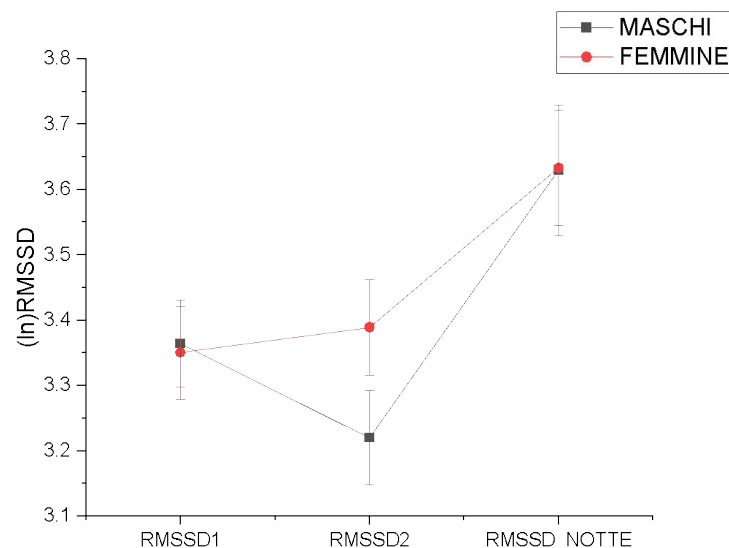


Figura 4. RMSSD in maschi e femmine in una registrazione di 24h

In figura 4 abbiamo invece il grafico dell’andamento del parametro RMSSD (che ricordiamo essere un indice dell’attività di PNS), e il suo andamento in maschi e femmine. La differenza tra i due gruppi è visibile in RMSSD2, nonostante tale differenza non sia significativa (p-value= .107). Le femmine sembrano quindi mostrare una più ampia variabilità della frequenza cardiaca rispetto ai maschi (coerentemente con quanto visto per il parametro RATIO).

In figura 5 infine, troviamo rappresentato l’andamento di HF (ms<sup>2</sup>; è in valore assoluto) per i due generi (ricordiamo che questo parametro è un indice dell’attività vagale, ed è strettamente correlato con il parametro RMSSD). Anche in questo caso la differenza è maggiormente visibile

nel parametro HF2, e coerentemente con gli altri due indici tale parametro risulta maggiormente espresso nelle femmine rispetto ai maschi, indicando una maggiore attività vagale (PNS) rispetto a quella simpatica, per quanto anche questa differenza non risulti statisticamente significativa (p-value= .104).

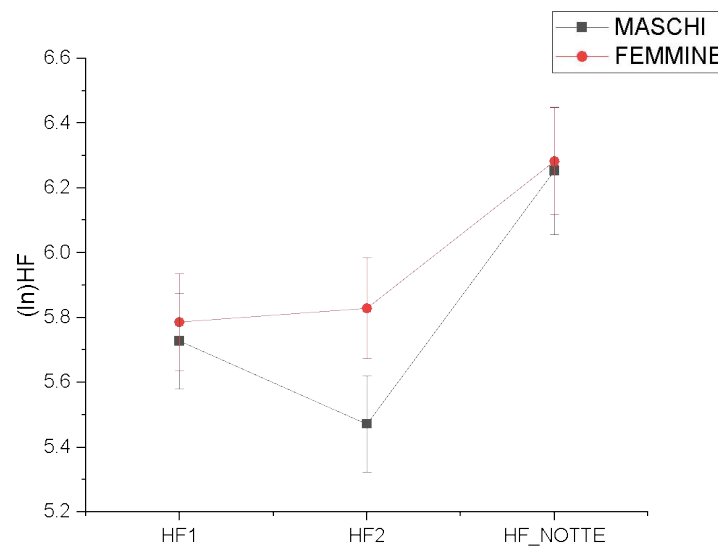


Figura 5. HF in maschi e femmine in una registrazione di 24h

### 3.5. Correlazioni bivariate per il parametro età

I soggetti sono stati divisi in base all'età in 3 diversi gruppi. I soggetti con età < 30 anni sono stati etichettati come gruppo A, i soggetti tra 30-49 anni sono stati etichettati come gruppo B, e infine i soggetti con età  $\geq 50$  anni sono stati inseriti nel gruppo etichettato come C.

Nella tabella 4 troviamo le correlazioni tra test psicometrici e i parametri neurofisiologici. Risultano significative le correlazioni tra i vari test: lo STAI T (livelli di ansia di tratto) ha una forte correlazione con lo STAI S (livelli di ansia di stato;  $r = .790$ ; p-value= .000); il PSS presenta una forte correlazione con lo STAI T ( $r = .782$ , p-value= .000), e una correlazione moderato-forte con lo STAI S ( $r = .680$ , p-value= .000); il CES-D ha una forte correlazione con lo STAI S ( $r = .759$ , p-value= .000), con lo STAI T ( $r = .781$ , p-value= .000), e con il PSS ( $r =$

.769, p-value= .000). Abbiamo inoltre una tendenza alla significatività nelle correlazioni del PSS sia con HR2 ( $r = .204$ , p-value= .079), che con la RATIO1 ( $r = -.219$ , p-value= .059). Abbiamo infine una correlazione significativa tra HR2 e RATIO1 ( $r = .228$ , p-value= .022).

	1.	2.	3.	4.	5.	6.
1. STAI S	-					
2. STAI T	.790*	-				
3. PSS	.680**	.782**	-			
4. CES-D	.759**	.781**	.769**	-		
5. HR2	.183	.185	.204 <sup>†</sup>	0.089	-	
6. RATIO1	-.114	-.151	-.219 <sup>†</sup>	-.169	.228*	-

Tabella 4. Correlazione tra test psicometrici ed HRV

Legenda: <sup>†</sup> valori tendenti a significativo  
 \* valori significativi < .05  
 \*\* valori significativi < .01

Nella tabella 5 sono invece riportate le correlazioni tra i test psicometrici e i livelli di cortisolo. Esattamente come nella tabella precedente, troviamo i test psicometrici (e le forti correlazioni tra di loro). Possiamo poi osservare una correlazione significativa tra i livelli di cortisolo al risveglio e lo STAI T ( $r = -.247$ , p-value= .033), e anche con il PSS ( $r = -.244$ , p-value= .034); inoltre, abbiamo una tendenza alla significatività tra CORT1 (livello di cortisolo salivare al risveglio) e lo STAI S ( $r = -.210$ , p-value= .069). Sempre per questo parametro abbiamo una tendenza a significativo con lo STAI S ( $r = -.210$ , p-value= .069).

Rispetto invece ai livelli di cortisolo dopo 30 minuti dal primo prelievo, troviamo una tendenza alla significatività per le correlazioni tra CORT2 e il PSS ( $r = -.206$ , p-value= .073), e tra CORT2 e il CES-D ( $r = -.224$ , p-value= .05). Risulta invece significativa la relazione tra CORT1 e CORT2 ( $r = .405$ , p-value= .000).



	1.	2.	3.	4.	5.	6.
1. STAI S	-					
2. STAI T	.790*	-				
3. PSS	.680**	.782**	-			
4. CES-D	.759**	.781**	.769**	-		
5. CORT1	-.210 <sup>†</sup>	-.247*	-.244*	-.123	-	
6. CORT2	-.108	-.198	-.208 <sup>†</sup>	-.224 <sup>†</sup>	.405**	-

Tabella 5. Correlazioni tra test psicometrici e cortisolo

Legenda: <sup>†</sup> valori tendenti a significativo  
\* valori significativi < .05  
\*\* valori significativi <.01

Vediamo da ultima l'associazione tra parametri neurovegetativi e neuroendocrini in tabella 6. Troviamo una relazione significativa tra CORT4 (livello di cortisolo salivare alle 22:00) e i diversi parametri di HR: abbiamo un'associazione tra CORT4 e HR1 ( $r = .230$ ,  $p\text{-value} = .045$ ), tra CORT4 e HR2 ( $r = .291$ ,  $p\text{-value} = .011$ ), e tra CORT4 e HR\_notte ( $r = .323$ ,  $p\text{-value} = .004$ ). Anche i diversi parametri di HR correlano tra di loro: vediamo un'associazione moderato-forte tra HR1 e HR2 ( $r = .666$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), un'associazione moderata tra HR\_notte e HR1 ( $r = .566$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), e infine un'associazione forte tra HR\_notte e HR2 ( $r = .678$ ,  $p\text{-value} = .000$ ).

	1.	2.	3.	4.
1. CORT4	-			
2. HR1	.230*	-		
3. HR2	.291*	.666**	-	
4. HR_notte	.323**	.566**	.678**	-

Tabella 6. Correlazioni tra HR e cortisolo

Legenda: <sup>†</sup> valori tendenti a significativo  
\* valori significativi < .05  
\*\* valori significativi <.01

### 3.5.1. Correlazioni parziali con controllo parametro età

Nella tabella 7 sono riportate le correlazioni parziali controllando il fattore età. Troviamo correlazioni significative tra i vari test psicometrici: il PSS correla significativamente con lo STAI T ( $r = .790$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), e il CES-D ha un'associazione significativa sia con il PSS ( $r = .817$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), e con lo STAI T ( $r = .791$ ,  $p\text{-value} = .000$ ). Risulta poi significativa l'associazione negativa tra CORT1 e lo STAI T ( $r = -.241$ ,  $p\text{-value} = .046$ ), e tra CORT1 e PSS ( $r = -.254$ ,  $p\text{-value} = .035$ ).

Abbiamo una tendenza alla significatività per l'associazione tra CORT2 e PSS ( $r = -.233$ ,  $p\text{-value} = .054$ ), e tra CORT2 e CES-D ( $r = -.211$ ,  $p\text{-value} = .081$ ); è invece significativa la correlazione tra CORT1 e CORT2 ( $r = .452$ ,  $p\text{-value} = .000$ ).

Il CORT4 presenta un'associazione con il CES-D tendente a significativo ( $r = .211$ ,  $p\text{-value} = .083$ ). Questo parametro presenta anche una correlazione tendente a significativo con HR1 ( $r = .212$ ,  $p\text{-value} = .083$ ).

Osserviamo invece una correlazione significativa tra HR2 e CORT4 ( $r = .265$ ,  $p\text{-value} = .028$ ), e tra HR2 e HR1 ( $r = .653$ ,  $p\text{-value} = .000$ ). Anche HR\_notte presenta una correlazione significativa con CORT4 ( $r = .304$ ,  $p\text{-value} = .011$ ), oltre che con HR1 ( $r = .573$ ,  $p\text{-value} = .000$ ) e con HR2 ( $r = .692$ ,  $p\text{-value} = .000$ ).

Vediamo infine la RATIO1 in relazione con gli altri parametri. Abbiamo una correlazione significativa tra questa e HR1 ( $r = .386$ ,  $p\text{-value} = .001$ ) e tra questa e HR2 ( $r = .270$ ,  $p\text{-value} = .025$ ). RATIO1 presenta inoltre un'associazione tendente a significativo sia con il PSS ( $r = -.206$ ,  $p\text{-value} = .090$ ), che con il CES-D ( $r = -.204$ ,  $p\text{-value} = .093$ ).

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
1. STAI T	-									
2. PSS	.790**	-								
3. CES-D	.817**	.791**	-							
4. CORT1	-.241*	-.254*	-.126	-						
5. CORT2	-.189	-.233 <sup>†</sup>	-.211 <sup>†</sup>	.452**	-					
6. CORT.4	.022	.096	.211 <sup>†</sup>	.429**	.436**	-				
7. HR1	.009	.045	-.069	-.053	.029	.212 <sup>†</sup>	-			
8. HR2	.198	.182	.106	-.046	-.055	.265*	.653**	-		
9. HR_notte	.024	.066	.069	.051	.139	.304*	.573**	.692**	-	
10. RATIO1	-.117	-.206 <sup>†</sup>	-.204 <sup>†</sup>	-.010	.123	-.059	.386**	.270*	.156	-

Tabella 7. Correlazioni parziali con controllo del parametro età

Legenda: <sup>†</sup> valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi < .01

### 3.5.2. Correlazioni parziali con controllo parametri età e BMI

All'interno della tabella 8 possiamo osservare le correlazioni parziali andando a controllare i parametri di età e BMI.

Abbiamo un'associazione significativa tra il PSS e lo STAI T ( $r=.773$ ,  $p\text{-value}= .000$ ). Il CORT1 correla significativamente sia con lo STAI T ( $r= -.273$ ,  $p\text{-value}= .024$ ), sia con il PSS ( $r= -.306$ ,  $p\text{-value}= .011$ ).

Vediamo poi che il CORT2 correla significativamente con i CORT1 ( $r= .465$ ,  $p\text{-value}= .000$ ), e presenta un'associazione negativa con una tendenza a significatività con il PSS ( $r= -.211$ ,  $p\text{-value}= .085$ ).

CORT4 presenta una correlazione significativa sia con CORT1 ( $r= .423$ ,  $p\text{-value}= .000$ ) sia con CORT2 ( $p\text{-value}= .000$ ,  $r= .458$ ), oltre a una tendenza a significativo con HR1 ( $r= .230$ ,  $p\text{-value}= .059$ ).

HR2 invece correla significativamente con CORT4 ( $r = .263$ ,  $p\text{-value} = .030$ ), oltre che con HR1 ( $r = .661$ ,  $p\text{-value} = .000$ ). Infine abbiamo il parametro HR\_notte, che presenta un'associazione significativa con CORT4 ( $r = .304$ ,  $p\text{-value} = .012$ ), HR1 ( $r = .579$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), e HR2 ( $r = .692$ ,  $p\text{-value} = .000$ ).

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1. STAI T	-							
2. PSS	.773**	-						
3. CORT1	-.273*	-.306*	-					
4. CORT2	-.169	-.211†	.465**	-				
5. CORT4	-.015	-.049	.423**	.458**	-			
6. HR1	.037	.088	-.044	.019	.230†	-		
7. HR2	.195	.181	-.050	-.052	.263*	.661**	-	
8. HR_notte	.019	.062	.049	.143	.304*	.579**	.692**	-

Tabella 8. Correlazioni parziali con controllo dei parametri età e BMI

Legenda: † valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi < .01

### 3.6. ANOVA a una via e indagine delle differenze nei 3 gruppi del fattore età

A seguito dello svolgimento di ANOVA a una via sono state trovate differenze significative tra i diversi gruppi d'età per diversi parametri. Per quanto riguarda i parametri neurofisiologici di HRV, vediamo che è stata riscontrata una significatività in SDNN\_notte ( $F = 13.834$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), RMSSD1 ( $F = 11.665$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), RMSSD2 ( $F = 11.569$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), RMSSD\_notte ( $F = 12.269$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), HF1 ( $F = 16.061$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), HR2 ( $F = 13.522$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), HR\_notte ( $F = 13.352$ ,  $p\text{-value} = .000$ ), RATIO\_notte ( $F = 7.654$ ,  $p\text{-value} = .001$ ). Sempre circa le differenze riguardanti i 3 gruppi nei diversi parametri neurofisiologici, è stata individuata una tendenza a significatività per il parametro HR\_notte ( $F = 2.504$ ,  $p\text{-value} = .089$ ), e per il parametro SDNN1 ( $F = 2.604$ ,  $p\text{-value} = .081$ ).

Rispetto alle differenze emergenti nei test psicometrici è stata trovata una significatività circa il CES-D (F= 3.534, p-value= .034), mentre una tendenza a significatività è stata osservata nel PSS (F= 2.683, p-value= .075).

Infine, risulta significativamente diverso il parametro BMI tra i diversi gruppi (F= 4.435, p-value= .015).

### 3.7. Confronti post hoc nelle 3 diverse fasce d'età

#### 3.7.1. post hoc e BMI

In tabella 9 sono riportati N e genere di ogni gruppo, assieme all'età media (e deviazione standard) di ogni fascia. È inoltre riportata la differenza tra i BMI di ogni gruppo con annesso il proprio p-value: l'unica differenza qui significativa è quella tra la media del gruppo A e quella del gruppo C (p-value= .012).

	MEDIE			POST HOC		
	<30 ANNI (A)	30-49 ANNI (B)	≥50 ANNI (C)	p A vs B	p B vs C	p A vs C
N	40	20	19			
GENERE	21 F; 19 M	11 F; 9 M	10 F; 9 M			
ETA'	25,65 (±2,46)	37,75 (±6,11)	58,526 (±6,372)			
BMI	22,45 (±0,52)	23,71 (±1,13)	25,666 (±0,828)	.710	.433	.012*

Tabella 9. Differenze tra gruppo A, B e C in N, genere, età e BMI

Legenda: \* valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi < .01

### 3.7.2. post hoc e test psicometrici

Circa le differenze tra i gruppi rispetto ai test psicometrici, in tabella 10 vediamo una differenza significativa tra Gruppo B e gruppo C per il CES-D (p-value= .030), mentre possiamo vedere una tendenza alla significatività nei punteggi del PSS tra gruppo A e gruppo B (p-value= .079).

	MEDIE			POST HOC		
	<30 ANNI (A)	30-49 ANNI (B)	≥50 ANNI (C)	p A vs B	p B vs C	p A vs C
STAI S	38,45 (±1,595)	34,053 (±1,672)	39,053 (±2,728)	.232	.295	1
STAI T	41,225 (±1,545)	36,833 (±2,411)	39,947 (±2,620)	.298	.859	1
PSS	17,65 (±0,986)	14 (±1,466)	17,211 (±1,643)	.079 <sup>†</sup>	.254	1
CES-D	13,5 (±1,325)	10,474 (±2,424)	18,105 (±2,966)	.508	.030*	.267

Tabella 10. Differenze nei test psicometrici tra gruppo A, B e C con annessi post hoc e p-value

Legenda: † valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi <.01

### 3.7.3. post hoc ed HRV

All'interno della tabella 11 sono riportati i confronti post hoc tra le varie fasce d'età e le rispettive differenze neurofisiologiche. L'unico parametro con una significativa differenza tra gruppo A e gruppo B è la RATIO\_notte (p-value= .029), mentre una tendenza alla significatività è riscontrata in HR\_notte (p-value= .085), e SDNN1 (p-value= .079).

Tra gruppo A e gruppo C sono significative le differenze nei parametri di SDNN\_notte (p-value= .000), RMSSD1 (p-value= .000), RMSSD2 (p-value= .000), RMSSD\_notte (p-value= .000), HF1 (p-value= .000), HF2 (p-value= .000), HF\_notte (p-value .000) e la RATIO\_notte (p-value= .002). Nel gruppo B e gruppo C invece, risultano essere significativamente diversi i

parametri di SDNN\_notte (p-value= .001), RMSSD1 (p-value= .002), RMSSD2 (p-value= .000), RMSSD\_notte (p-value= .004), HF1 (p-value= .001), HF2 (p-value= .001) e HF\_notte (p-value= .018).

In figura 6 e 7 troviamo una rappresentazione grafica della significativa differenza tra gruppo A e B vs gruppo C, per i parametri di RMSSD e HF nell'arco di 24h.

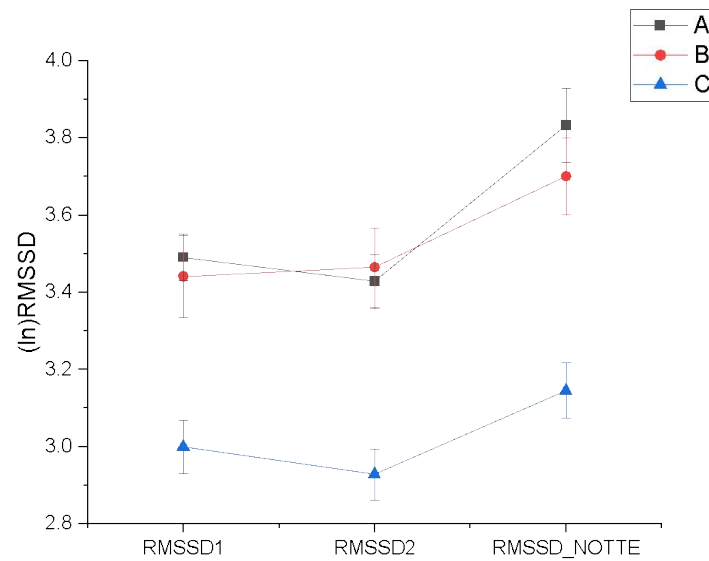


Figura 6. Differenze nei gruppi A, B e C nel parametro RMSSD

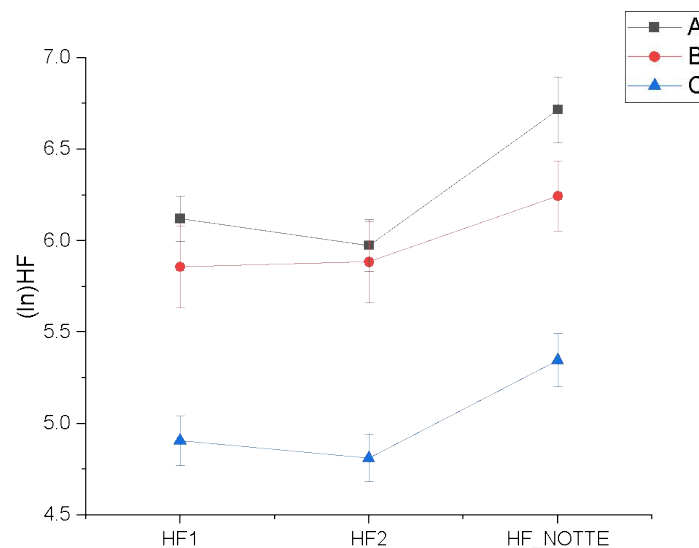


Figura 7. Differenze nei gruppi A, B e C nel parametro HF

	MEDIE			POST HOC		
	< 30 anni (A)	30-49 anni (B)	≥ 50 anni (C)	p A vs B	p B vs C	p A vs C
HR1	80,829 (±1,744)	77,245 (±2,692)	78,284 (±2,158)	.672	1	1
HR2	82,774 (±1,838)	76,024 (±2,472)	81,179 (±2,097)	.614	1	1
HR_notte	61,366 (±1,458)	58,615 (±1,680)	64,650 (±1,718)	.085 <sup>†</sup>	.469	1
SDNN1	46,053 (±1,709)	44,659 (±2,875)	29,273 (±1,349)	.078 <sup>†</sup>	.378	1
SDNN2	43,284 (±1,877)	44,865 (±2,896)	26,936 (±1,327)	.661	.127	.710
SDNN_notte	50,818 (±3,142)	46,165 (±2,971)	28,910 (±1,870)	1	.001 <sup>**</sup>	.000 <sup>**</sup>
RMSSD1	35,638 (±2,071)	35,870 (±3,795)	20,981 (±1,527)	1	.002 <sup>**</sup>	.000 <sup>**</sup>
RMSSD2	34,103 (±2,273)	35,859 (±3,436)	19,442 (±1,316)	1	.000 <sup>**</sup>	.000 <sup>**</sup>
RMSSD_notte	55,648 (±5,103)	45,064 (±4,283)	24,378 (±1,862)	1	.004 <sup>**</sup>	.000 <sup>**</sup>
HF1	605,541 (±68,035)	577,724 (±128,226)	164,087 (±28,327)	.737	.001 <sup>**</sup>	.000 <sup>**</sup>
HF2	562,021 (±70,585)	549,426 (±106,371)	145,327 (±22,757)	1	.001 <sup>**</sup>	.000 <sup>**</sup>
HF_notte	1492,795 (±268,392)	712,266 (±129,382)	257,830 (±42,831)	.273	.018 <sup>*</sup>	.000 <sup>**</sup>
RATIO1	4,430 (±0,397)	5,182 (±0,729)	6,001 (±0,695)	.838	1	.141
RATIO2	4,411 (±0,462)	4,875 (±0,905)	5,895 (±0,735)	1	.766	.264
RATIO_notte	1,864 (±0,259)	2,619 (±0,323)	3,078 (±0,352)	.029 <sup>*</sup>	1	.002 <sup>**</sup>

Tabella 11. Differenze tra gruppi A, B e C nei parametri neurofisiologici di HRV e relativi post hoc e p-value

Legenda: <sup>†</sup> valori tendenti a significativo

\* valori significativi < .05

\*\* valori significativi <.01

### 3.8. Cortisolo nelle 3 fasce d'età

In Figura 8 osserviamo una rappresentazione grafica dell'andamento circadiano dei livelli di cortisolo nei 3 diversi gruppi. Nonostante tali differenze non risultino significative possiamo vedere una leggera differenza tra gruppo A e gruppo C a livello di CORT3 (p-value= .160).



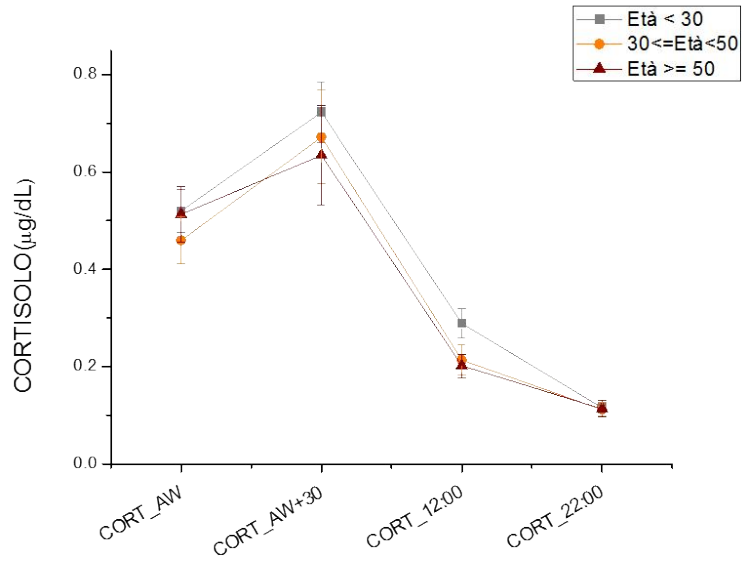


Figura 8. Differenze nei livelli di cortisolo tra gruppo A, B e C

#### ***4. Discussione***

In questo studio abbiamo analizzato i parametri autonomici cardiaci (grazie alle registrazioni con holter per 24h), neuroendocrini (grazie ai campioni di cortisolo salivare) e psicologici (grazie ai test psicometrici) di 79 soggetti.

##### *4.1. Differenze di genere*

La prima ipotesi, secondo cui esistono differenze tra maschi e femmine, non è stata confermata a livello di significatività statistica. Il campione si compone di 38 maschi e 41 femmine, e solamente il parametro della RATIO2 (RATIO è un'abbreviazione che fa riferimento al rapporto LF/HF, e che maggiore è il valore di tale rapporto, maggiore è l'apporto di SNS; "2" si riferisce alle seconde 5 ore di registrazione) è risultato significativamente diverso tra i 2 gruppi. Conformemente con quanto descritto nello studio di Koenig e Thayer (2016), le femmine presentavano una modulazione vagale maggiore rispetto ai maschi. Nonostante RATIO1 ("1" si riferisce alle prime 5 ore di registrazione) e RATIO\_notte ("\_notte" si riferisce alle 5 ore di registrazione prese durante il riposo notturno) non presentino differenze significative tra i due gruppi, è possibile rilevare una tendenza nelle femmine a una RATIO più bassa nell'arco di 24h, rispetto a quella dei maschi.

Allo stesso modo, sebbene le differenze per gli altri parametri non risultassero significative tra i due generi, si è riscontrata un HR leggermente più alta nelle femmine rispetto ai maschi (in tutte le declinazioni di HR), ma soprattutto in HR1("1" si riferisce alle prime 5 ore di registrazione).

Rispetto agli altri indici autonomici, sono emerse delle differenze, seppure non significative, per i valori di RMSSD2 e i valori di HF2 ("2" si riferisce alle seconde 5 ore di registrazione).

Anche in questo caso perciò, nonostante la non significatività di tali differenze, ritroviamo parziale conferma di quanto riportato in letteratura (J. Koenig, J.F. Thayer, 2016; M.K. Boettger et al., 2010).

Rispetto ai test psicometrici non sono state trovate differenze significative tra maschi e femmine.

#### *4.2. Differenza tra le varie fasce d'età*

La seconda ipotesi, secondo cui l'età influenzerebbe i parametri neurovegetativi e neuroendocrini è stata parzialmente confermata. Questo studio ha infatti evidenziato come diversi parametri di HRV divergano significativamente tra gruppo A vs C e tra gruppo B vs C (A= <30 anni; B= 30-49 anni; C=  $\geq$  50 anni).

I soggetti con età  $\geq$  50 anni, presentano un SDNN\_notte significativamente diversa dagli altri due gruppi, il che è parzialmente conforme con i risultati di Umetani K. et al. (1998), poiché questi riscontrano una diminuzione di SDNN in generale, mentre nel presente studio non è stata individuata una differenza significativa per SDNN diurno (SDNN1 e SDNN2) tra i 3 gruppi.

Diversamente, per i parametri RMSSD e HF abbiamo riscontrato differenze significative tra i gruppi A vs C e gruppo B vs C; non sono invece presenti differenze significative tra gruppo A e B.

Abbiamo evidenze del fatto che con l'avanzare dell'età, l'HR non sia più sotto il maggior controllo di PNS, quanto piuttosto di SNS, (J.F. Thayer, E. Sternberg, 2006; J.F. Thayer, A.L. Hansen, 2009). Coerentemente con quanto detto, uno studio condotto da Boettger et al. (2010), sostiene che già dai 30 anni in poi è possibile rilevare questo “*shift*” della bilancia simpato-vagale verso una predominanza simpatica, e che l'indicatore più sensibile di tale cambiamento

sia l'RMSSD, che all'interno di questo studio risultava significativamente diverso per le diverse fasce d'età, conformemente a quanto trovato nel nostro studio (M.K. Boettger et al., 2010).

Anche Geovanini et al (2020) hanno riportato che con l'aumentare dell'età i parametri di HRV diminuiscono, a eccezione di HF che risulta aumentare. Questi risultati sono in contrasto con quelli del nostro studio, poiché nel gruppo con soggetti con età  $\geq 50$  anni (gruppo C) si è riscontrata un HF notevolmente ridotta rispetto a quella degli altri due gruppi. Nello stesso studio (Geovanini et al., 2020), è stata descritta una diminuzione in base all'età anche per quanto riguarda i valori del rapporto LF/HF (RATIO). I risultati del nostro studio suggeriscono invece il contrario, in quanto la RATIO del gruppo con età  $\geq 50$  anni è maggiore di quella del gruppo  $< 30$  anni e del gruppo con età compresa tra 30-49 anni nell'arco di tutte le 24h di registrazione, anche se tale differenza risulta statisticamente significativa solamente nel parametro RATIO\_notte. In questo caso è poi interessante notare che non solo è significativa la differenza tra il gruppo con età  $< 30$  anni e quello con età  $\geq 50$  anni, ma lo è anche quella tra il gruppo con età  $< 30$  anni e quello con età compresa tra 30-49 anni: la differenza tra questi ultimi due gruppi citati potrebbe indicare l'inizio dello "shift" nel controllo autonomico da PNS a SNS, corroborato dall'abbassamento del parametro HF e dall'incremento della RATIO.

In merito alle differenze nei livelli di cortisolo tra i gruppi, in letteratura troviamo che esso tende ad aumentare, generando pattern irregolari e un profilo circadiano appiattito. Nello specifico si riscontra un'attenuata risposta al risveglio e un aumento nei livelli della sera (A. Yiallouris et al., 2019). Nel nostro studio tali differenze non sono state riscontrate. L'unico parametro che sembra mostrare una tendenza alla significatività è CORT3 ("3" significa cortisolo salivare prelevato alle 12:00), nel confronto tra gruppo A e gruppo C.

#### *4.3. Limiti dello studio e prospettive future*

Lo studio qui descritto presenta diverse limitazioni. In letteratura (K. Umetani et al, 1998) si ritrovano dati relativi non solo alla suddivisione in gruppi in base all'età e in base al genere, ma anche alla suddivisione per età nei due generi separatamente. Lo studio di Umetani et al. (1998) dimostra infatti che le differenze tra sessi diminuiscono con l'avanzare dell'età e tendono a scomparire dopo i 50 anni. Inoltre, nonostante la presenza di test psicometrici, il campione non è stato suddiviso in base alla presenza o meno di sintomatologia clinica. In prospettiva futura, sarebbe interessante indagare le differenze di genere nelle diverse fasce d'età, inoltre un maggior focus potrebbe essere riservato alla relazione tra punteggi nei test psicometrici e i parametri neuroendocrini e neurovegetativi, soprattutto in vista delle possibili implicazioni cliniche.

## **5. Conclusioni**

In conclusione, questo studio evidenzia differenze significative rispetto all'età nei parametri neurovegetativi cardiaci e neuroendocrini. Confacentemente a quanto presente in letteratura, si è riscontrato un decremento nei livelli di diversi parametri di HRV, come SDNN, RMSSD e HF, all'avanzare dell'età. Viceversa, nel nostro studio non sono state individuate differenze significative dovute all'età nei livelli di cortisolo salivare.

Riguardo alle differenze di genere i due sessi presentano una differenza significativa in merito ai valori della RATIO2 (RATIO è un'abbreviazione che fa riferimento al rapporto LF/HF; "2" si riferisce alle seconde 5 ore di registrazione), che è minore nelle femmine rispetto ai maschi, a supporto delle teorie di Koenig e Thayer (2016) secondo cui il "cuore femminile" sarebbe caratterizzato da una relativa dominanza vagale, mentre "quello maschile" presenterebbe una relativa dominanza simpatica.

## *Bibliografia*

- J.F. Thayer, E. Sternberg. Beyond heart rate variability: vagal regulation of allostatic systems. *Ann N Y Acad Sci.* 2006 Nov;1088:361-72. doi: 10.1196/annals.1366.014.
- F. Shaffer, R. McCraty, C.L. Zerr. A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Front Psychol.* 2014 Sep 30;5:1040. doi: 10.3389/fpsyg.2014.01040. eCollection 2014.
- Task Force (1996). Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. *European Heart Journal* (1996) 17, 354–381
- F. Shaffer, J. P. Ginsberg. An Overview of Heart Rate variability. Metrics and Norms. *Front Public Health.* 2017 Sep 28;5:258. doi: 10.3389/fpubh.2017.00258. eCollection 2017.
- J.F. Thayer, A.L. Hansen. Heart Rate Variability, Prefrontal Neural Function, and Cognitive Performance: The Neurovisceral Integration. Perspective on Self-regulation, Adaptation, and Health. *ann. behav. med.* (2009) 37:141–153. DOI 10.1007/s12160-009-9101-z
- M. Kidwell and B.A. Ellenbroek. Heart and soul: heart rate variability and major depression. *Behav Pharmacol.* 2018 Apr;29(2 and 3-Spec Issue):152-164. doi: 10.1097/FBP.0000000000000387.
- T. Pham et al. Heart Rate Variability in Psychology: A Review of HRV Indices and an Analysis Tutorial. *Sensors* 2021, 21, 3998. <https://doi.org/10.3390/s21123998>
- G.E. Billman et al.. An introduction to heart rate variability: methodological considerations and clinical applications. *Front Physiol.* 2015 Feb 25;6:55. doi: 10.3389/fphys.2015.00055. eCollection 2015.
- B. De Maria et al. Autonomic dysfunction and heart rate variability with Holter monitoring: a diagnostic look at autonomic regulation. *Herzschrittmacherther*

Elektrophysiol. 2021 Sep;32(3):315-319. doi: 10.1007/s00399-021-00780-5. Epub 2021 Jul 8.

- R. Tiwari et al. Analysis of Heart Rate Variability and Implication of Different Factors on Heart Rate Variability. *Current Cardiology Reviews*, 2021, 17, e160721189770
- J.F. Thayer, R.D. Lane. Claude Bernard and the heart–brain connection: Further elaboration of a model of neurovisceral integration. *Neurosci Biobehav Rev*. 2009 Feb;33(2):81-8. doi: 10.1016/j.neubiorev.2008.08.004. Epub 2008 Aug 13.
- L.M. Lesnewicha et al. Associations of depression severity with heart rate and heart rate variability in young adults across normative and clinical populations. Published in final edited form as: *Int J Psychophysiol*. 2019 August ; 142: 57–65. doi:10.1016/j.ijpsycho.2019.06.005.
- A. Sgoifo et al. Autonomic dysfunction and heart rate variability in depression. *Stress*. 2015;18(3):343-52. doi: 10.3109/10253890.2015.1045868. Epub 2015 May 25.
- K. Umetani et al. Twenty-Four Hour Time Domain Heart Rate Variability and Heart Rate: Relations to Age and Gender Over Nine Decades. *J Am Coll Cardiol*. 1998 Mar 1;31(3):593-601. doi: 10.1016/s0735-1097(97)00554-8.
- S.E. Taylor et al. Biobehavioral responses to stress in females: tend-and-befriend, not fight-or-flight. *Psychol Rev*. 2000 Jul;107(3):411-29. doi: 10.1037/0033-295x.107.3.411.
- A.C. Nugent et al. Sex Differences in the Neural Correlates of Autonomic Arousal: A Pilot PET Study. *Int J Psychophysiol*. 2011 Jun; 80(3): 182–191.
- D.P. Spangler et al. Gender Matters: Nonlinear Relationships Between Heart Rate Variability and Depression and Positive Affect. *Front Neurosci*. 2021 May 13;15:612566. doi: 10.3389/fnins.2021.612566. eCollection 2021.



- S. Chojnowska et al. Salivary Biomarkers of Stress, Anxiety and Depression. *J Clin Med*. 2021 Feb; 10(3): 517. Published online 2021 Feb 1. doi: 10.3390/jcm10030517
- A. Clow, N. Smyth. Salivary cortisol as a non-invasive window on the brain. *Int Rev Neurobiol*. 2020;150:1-16. doi: 10.1016/bs.irn.2019.12.003. Epub 2020 Jan 10.
- A. Steptoe, B. Serwinski. Cortisol Awakening Response. *Stress: Concepts, Cognition, Emotion, and Behavior*, 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800951-2.00034-0>
- A. Fiksdal et al. Associations Between Symptoms of Depression and Anxiety and Cortisol Responses to and Recovery from Acute Stress. *Psychoneuroendocrinology*. 2019 Apr; 102: 44–52. Published online 2018 Nov 24. doi: 10.1016/j.psyneuen.2018.11.035
- C. Kirschbaum, S. Wüst, D. Hellhammer. Consistent sex differences in cortisol responses to psychological stress. *Psychosom Med*. 1992 Nov-Dec;54(6):648-57. doi: 10.1097/00006842-199211000-00004.
- E. Van Cauter, R. Leproult, D.J. Kupfer. Effects of gender and age on the levels and circadian rhythmicity of plasma cortisol. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Jul;81(7):2468-73. doi: 10.1210/jcem.81.7.8675562.
- G.R. Geovanini et al. Age and Sex Differences in Heart Rate Variability and Vagal Specific Patterns - Baependi Heart Study. *Glob Heart*. 2020 Oct 21;15(1):71. doi: 10.5334/gh.873.
- M.K. Boettger et al. Influence of age on linear and nonlinear measures of autonomic cardiovascular modulation. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2010 Apr;15(2):165-74. doi: 10.1111/j.1542-474X.2010.00358.x.
- J. Koenig, J.F. Thayer. Sex differences in healthy human heart rate variability: A meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016 May;64:288-310. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.007. Epub 2016 Mar 7.

- A. Yiallouris et al. Adrenal Aging and Its Implications on Stress Responsiveness in Humans. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Feb 7;10:54. doi: 10.3389/fendo.2019.00054. eCollection 2019.
- J. Zhang. Effect of Aging and Sex on Heart Rate Variability in Healthy Subjects. *Journal of Manipulative and Physiological Therapeutics*. Volume 30, Issue 5, June 2007, Pages 374-379
- L.S. Radloff. The CES-D Scale: A Self-Report Depression Scale for Research in the General Population. *Applied Psychological Measurement*, 1(3), 385–401. <https://doi.org/10.1177/014662167700100306>
- C.H. Spielberger (1968, 1977). *The State-Trait Anxiety Inventory*. *Apa.org*.
- L.J. Julian. Measures of Anxiety. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011 Nov; 63(0 11): 10.1002/acr.20561.
- S. Cohen (1994). *Perceived Stress Scale*.
- *Apa.org*

## ***Ringraziamenti***

Ringrazio il Professor Andrea Sgoifo, per avermi seguito e supportato nella fase più importante del mio percorso accademico. Ringrazio inoltre la Dottoressa Sara Gambetta e il Dottor Sebastiano Ravenda per il costante sostegno e l'incoraggiamento ricevuto durante la stesura della tesi.

Ringrazio poi la mia famiglia, di sangue e non, per il sostegno, l'affetto e l'aiuto datomi durante tutto questo percorso. Senza di voi probabilmente non sarei la persona che sono oggi. A voi tutti, che ci siete stati e continuate a esserci, dedico la mia tesi.