

# Variazioni del parametro dell'alta frequenza nella variabilità della frequenza cardiaca a seguito del trattamento manipolativo osteopatico in soggetti sani rispetto al gruppo di controllo e alla terapia simulata: studio randomizzato e controllato

*Variations of high frequency parameter of heart rate variability following osteopathic manipulative treatment in healthy subjects compared to control group and sham therapy: randomized controlled trial*

**Link all'articolo originale:** <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2015.00272/full>

**Traduzione a cura di:** Silvia Clara Tuscano

## **Autori:**

*Nuria Ruffini<sup>1,2</sup>, Giandomenico D'Alessandro<sup>1,2</sup>, Nicolò Mariani<sup>1</sup>, Alberto Pollastrelli<sup>1</sup>, Lucia Cardinali<sup>1,2</sup> e Francesco Cerritelli<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Dipartimento di Ricerca, Accademia Italiana di Osteopatia Tradizionale, Pescara, Italia

<sup>2</sup>Clinical-based Human Research Department, Centre for Osteopathic Medicine Collaboration, Pescara, Italia

**Giornale:** Front Neurosci. 2015 Aug 4;9:272. | <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00272>

## **Abstract:**

**Contesto:** La variabilità della frequenza cardiaca (HRV) indica in quale modo varia la frequenza cardiaca in risposta agli stimoli interni ed esterni. La HRV è legata allo stato di salute ed è un indicatore indiretto della funzione del sistema neurovegetativo (SNA).

**Obiettivo:** Studiare l'influsso del trattamento manipolativo osteopatico (TMO) sulla modulazione neurovegetativa del cuore in soggetti sani, facendo un confronto con soggetti sottoposti a terapia simulata e con un gruppo di controllo.

**Metodi:** Sessantasei soggetti sani, maschi e femmine, sono stati inclusi nel presente studio a bracci, in singolo cieco, randomizzato e controllato con placebo, con cross-over dei soggetti. I partecipanti erano adulti asintomatici ( $26,7 \pm 8,4$  anni, il 51% di sesso maschile, BMI  $18,5 \pm 4,8$ ), fumatori e non fumatori, non in terapia farmacologica. All'arruolamento, i soggetti sono stati randomizzati in tre gruppi: A, B, C. Nella prima sessione sul gruppo A e nella seconda sessione sul gruppo B è stata effettuata una valutazione strutturale standardizzata, poi seguita da un trattamento osteopatico

basato sulle necessità del paziente. Nella seconda sessione sul gruppo A e nella prima sessione sul gruppo B è stata effettuata una valutazione standardizzata a cui faceva seguito un trattamento simulato. In entrambe le sessioni, nessun intervento veniva somministrato al gruppo C, che fungeva da gruppo di controllo. Lo studio è stato registrato su [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) con il codice: NCT01908920.

**Principali misure degli outcome:** La HRV è stata calcolata in base alle elettrocardiografie effettuate prima, durante e dopo l'intervento, per un tempo totale di 25min e utilizzando il dominio della frequenza nonché metodi lineari e non lineari per misurare gli outcome.

**Risultati:** Il TMO induceva un aumento statisticamente significativo dell'attività parasimpatica, come mostrato dalla potenza ad alta frequenza ( $p < 0.001$ ), espressa in unità normalizzate e assolute, e una possibile diminuzione dell'attività simpatica, come attestato dalla potenza a bassa frequenza ( $p < 0.01$ ); i risultati hanno anche mostrato una riduzione del rapporto Bassa Frequenza/Alta Frequenza ( $p < 0.001$ ) e del Detrended Flunctuation Scaling Exponent ( $p < 0.05$ ). Conclusioni: I risultati indicano che, in confronto alla terapia simulata e al gruppo di controllo, il TMO può influire sull'attività del SNA, aumentando la funzione parasimpatica e riducendo l'attività simpatica.

**Parole chiave:** [medicina osteopatica, variabilità della frequenza cardiaca, alta frequenza, soggetti sani, fumo, sistema nervoso autonomo, effetto parasimpaticotonico]

# Articolo

---

## Introduzione

La frequenza cardiaca, uno dei fenomeni più variabili dell'organismo, corrisponde a un certo numero di battiti cardiaci al minuto. La variabilità della frequenza cardiaca (HRV) è la variazione tra periodi di intervallo RR consecutivi (Aa.Vv., 1996; Kara et al., 2003; Freeman et al., 2006), dove R è un punto corrispondente al picco del complesso QRS dell'onda dell'elettrocardiogramma, correlato alla depolarizzazione del ventricolo sinistro. La sua variabilità, che dipende dagli stimoli metabolici (interni) e ambientali (esterni) (Caruana-Montaldo et al., 2000; Henley et al., 2008; Routledge et al., 2010), è responsabile del mantenimento dell'omeostasi. La HRV può subire l'influsso di diversi fattori, come la variabilità intrinseca del nodo seno-atriale (Ponard et al., 2007), la fluttuazione ematica neuro-ormonale (Galetta et al., 2008), il ritmo circadiano (Huikuri et al., 1990; Bonnemeier et al., 2003; Cavallari et al., 2010), e l'attività del sistema neurovegetativo (SNA).

La HRV è considerata un indice indiretto della funzione neurovegetativa (Aa.Vv., 1996; Porta et al., 2001; Malliani e Montano, 2002; Pumpirla et al., 2002; Freeman et al., 2006; Kemp et al. 2012), infatti l'attività simpatica e parasimpatica regolano la frequenza cardiaca e l'inotropismo. Queste branche nervose inducono rispettivamente la diminuzione o l'aumento della pompa cardiovascolare, modificando di conseguenza i parametri della HRV (Aubert et al., 2003; Guyton e Hall 2006). Per quantificare le attività simpatiche e parasimpatiche, vengono utilizzati diversi indici e metodi relativi alla HRV. I più diffusi sono gli indici del dominio delle frequenze - bassa frequenza (LF) e alta frequenza (HF) - e il rapporto tra LF/HF.

Tra i fattori esterni capaci di modificare i valori della HRV, è stato dimostrato che particolarmente importante è il fumo (Minami et al., 1999; Pope et al., 2001). Uno studio condotto nel 1999 da Minami et al. ha studiato l'effetto dell'interruzione del tabagismo sulla HRV e su altri indici cardiovascolari (Minami et al., 1999). I risultati hanno mostrato che smettere di fumare riduce in maniera significativa la componente ad alta frequenza (HF) per un periodo di 24 ore, indicando che il sistema nervoso parasimpatico è alterato nei fumatori abituali. I parametri della HRV sono stati inoltre associati allo stato di salute (Karemaker e Lie 2000).

Oltre alla medicina convenzionale, anche le medicine complementari e alternative (CAM) hanno cominciato ad avvalersi delle variazioni della HRV per capire in quale modo i diversi approcci terapeutici, come l'omeopatia (Mishra et al. 2011), i massaggi (Lee et al. 2011), l'agopuntura (Haker et al., 2000; Li et al., 2003; Litscher, 2009, 2010; Arai et al, 2011.; Anderson et al 2012.; Huang et al 2012.; Litscher et al. 2012) e l'agopuntura auricolare (Gao et al. 2012) possono influire sullo stato di salute.

Tra le CAM, la medicina osteopatica è una forma di medicina manuale non invasiva che non ricorre all'uso di farmaci. Si basa sul contatto manuale per formulare la diagnosi e per somministrare il trattamento. Gli osteopati ricorrono a un'ampia gamma di test per individuare la disfunzione somatica (SD) (ICD-10ICM Diagnosis Code M99.09-09). I criteri diagnostici sono focalizzati sulle anomalie e sul tonodei tessuti. Vengono valutate le aree di asimmetria, di disallineamento dei punti di repere ossei e la qualità del movimento. La terapia osteopatica avviene in due fasi: la valutazione strutturale e il trattamento. La valutazione strutturale mira a individuare le SD usando una sequenza consolidata di test strutturali. Il trattamento attualmente si avvale di più di 20 tipi di tecniche manuali e ha lo scopo di trattare la SD.

In osteopatia, uno studio di Henley (Henley et al., 2008) ha esaminato le variazioni della HRV in soggetti sani sottoposti a trattamento manipolativo osteopatico (TMO) rispetto a un gruppo di controllo e a un gruppo che riceveva una terapia simulata dopo il tilt test. Quando i soggetti si spostavano dalla posizione orizzontale a quella ortostatica, la bassa frequenza espressa in unità

normalizzate (nuLF) aumentava significativamente nel gruppo di controllo e nel gruppo della terapia simulata, rispetto al gruppo del TMO. Dopo l'applicazione del TMO, la nuLF aumentava significativamente meno nella posizione con la testa sollevata rispetto ai gruppi di controllo e di terapia simulata. Contestualmente l'alta frequenza, misurata in unità normalizzate, (nuHF) risultava significativamente inferiore nel gruppo sottoposto a TMO rispetto a quello della terapia simulata e al controllo. Inoltre, nel gruppo del TMO si è osservato un più basso rapporto LF/HF nella fase di ortostatismo dopo l'intervento, rispetto alla terapia simulata e al gruppo di controllo.

Nel 2013, un altro studio osteopatico (Giles et al. 2013) ha studiato l'effetto della decompressione sub-occipitale (una specifica tecnica cranio-sacrale) sugli indici HRV nei soggetti sani, dimostrando un incremento assoluto della HF e una riduzione del rapporto LF/HF rispetto ai gruppi sottoposti a terapia simulata e al controllo. A un'analisi più approfondita, tuttavia, emergono alcune limitazioni che non consentono di generalizzare questi risultati a livello clinico. In primo luogo, entrambi gli studi di ricerca prevedevano un'unica sessione e quindi non indagavano le variazioni a lungo termine dei parametri della HRV. In secondo luogo, lo studio di Henley aveva escluso i fumatori, mentre lo studio di Giles non forniva informazioni riguardo al fumo. In ultimo, entrambi gli studi prevedevano la somministrazione di una singola tecnica predeterminata, senza considerare le abituali procedure terapeutiche cliniche. Il presente studio si propone dunque di esaminare l'effetto del TMO sul SNA utilizzando la HRV come misura dell'outcome primario.

## Materiali e metodi

L'outcome primario di questo studio cross-over a singolo cieco, randomizzato e controllato con placebo, è la misura della variazione indotta dal TMO sul valore di nuHF, in confronto al gruppo della terapia simulata e al controllo. Gli outcome secondari sono i cambiamenti alla linea di base nella auLF, nel rapporto LF/HF e nel Detrended Fluctuation Scaling Exponent ( $DFA_{\alpha 1}$ ), e nella potenza assoluta della HF (auHF misurata in unità assolute; vale a dire, ms<sup>2</sup>).

## Popolazione

Sono stati considerati eleggibili per lo studio adulti sani, asintomatici, di entrambi i sessi. Sono stati applicati i seguenti criteri di inclusione: età compresa tra i 18 e i 45 anni; assenza di dolore cronico o sintomatologia acuta nelle ultime 72 ore precedenti alla sessione; nessuna patologia diagnosticata.

I criteri di esclusione erano: gravidanza; menopausa; flusso mestruale durante la sessione; alcolismo; abuso di alcol nelle 48 ore precedenti alla sessione; dolore cronico; diagnosi di condizione patologica; trattamento farmacologico cronico; uso di farmaci e droghe nelle 72 ore precedenti; uso di dispositivi di ortesi negli ultimi 3 mesi; anamnesi comprendente interventi chirurgici; l'ultimo TMO doveva essere stato effettuato almeno 3 mesi prima della sessione.

A partire dal 1° maggio e fino al 31 luglio 2013 sono stati reclutati volontari in diverse università, mediante e-mail, telefono, contatto diretto e depliant/poster. Questi ultimi sono stati affissi presso l'Accademia Italiana Osteopatia Tradizionale (AIOT) e in un centro clinico osteopatico, invitando le persone a chiamare un numero telefonico gestito dal supervisore del reclutamento.

All'inizio della prima sessione ciascun volontario ha letto e firmato il consenso informato. La sperimentazione è stata approvata dal Comitato Etico dell'AIOT. Lo studio è stato registrato su [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) con il codice: NCT01908920.

## Protocollo sperimentale

I soggetti sono stati divisi e randomizzati in tre gruppi utilizzando il metodo di randomizzazione a "blocco permutato" (dimensione del blocco pari a 3), generato dal software statistico R v.2.15.1 (R DevelopmentalCore Team 2010) e stratificato per il fumo. Per allocare i soggetti nei gruppi A-C è stata usata una sequenza ternaria (0, 1, 2) (Figura 1).

La prima sessione poteva essere rimandata nel caso in cui il soggetto soddisfacesse almeno uno dei seguenti criteri di esclusione: dolore acuto nelle ultime 72 ore, assunzione di qualsiasi medicinale o droga nelle 72 ore precedenti alla sessione, flusso mestruale nel giorno dell'intervento, abuso di alcol nelle 48 ore precedenti. Nel caso in cui il soggetto non si presentasse alla seconda sessione veniva inserito nel gruppo degli abbandoni (drop-out).

I soggetti assegnati ai gruppi del trattamento A e B hanno ricevuto sia il TMO che una sessione di terapia simulata, in tempi diversi secondo il disegno cross-over dello studio. Nella prima sessione il gruppo A ha ricevuto il TMO mentre il gruppo B ha ricevuto il trattamento simulato. Nella seconda sessione il gruppo A ha ricevuto il trattamento simulato, mentre il gruppo B ha ricevuto il TMO. Il gruppo C è stato utilizzato come gruppo di controllo, pertanto non ha ricevuto né il trattamento né la terapia simulata in nessuna delle due sessioni (Figura 1).

Le valutazioni e i trattamenti sono stati sempre eseguiti nello stesso ambiente, con temperatura e umidità stabili, per evitare qualsiasi influenza sull'attività del SNA. Inoltre, le 2 sedute settimanali sono state programmate alla stessa ora per evitare differenze dovute al ritmo circadiano.

L'intervento del TMO prevedeva un trattamento in base alle esigenze del paziente, quindi non è stato applicato alcun protocollo prestabilito. La seduta osteopatica durava 25 min, dei quali 10 min erano dedicati alla valutazione e 15 min al trattamento. Nel presente studio, l'operatore poteva applicare le tecniche a propria discrezione, scegliendole tra quelle di bilanciamento delle tensioni legamentose, bilanciamento delle tensioni membranose e tecniche cranio-sacrali (Magoun 1976).

In questa sperimentazione, la terapia simulata era studiata in modo da imitare la terapia osteopatica e pertanto prevedeva una valutazione strutturale e un trattamento. La valutazione simulata coincideva con la procedura di valutazione strutturale osteopatica in termini di test effettuati e tempo impiegato. Il trattamento simulato consisteva nel contattare, secondo una sequenza prestabilita, alcune regioni anatomiche per 2 minuti ciascuna: caviglia destra, ginocchio sinistro, anca destra, diaframma, spalla destra, collo, cranio. L'operatore contava mentalmente da 120 a 0 per ogni regione allo scopo di evitare un'attivazione neurovegetativa di tipo placebo (Meissner 2011). La sessione simulata durava 25 min, dei quali 10 min erano dedicati alla valutazione e 15 min al trattamento.

Tutti gli interventi sono stati eseguiti da quattro osteopati con la medesima formazione, assegnati casualmente al gruppo A o B. Ciascun osteopata era responsabile di un determinato paziente, a cominciare dall'arruolamento fino alla conclusione dello studio.

Le sessioni del gruppo di controllo venivano gestite da un operatore incaricato alla raccolta dei dati, e nessuno degli osteopati era presente.

Gli osteopati erano all'oscuro del protocollo dello studio, degli outcome e dei dati relativi alla HRV. Due operatori esterni erano incaricati della randomizzazione e della raccolta dei dati. Entrambi erano all'oscuro del protocollo di studio e degli outcome, oltre che dell'allocazione. Tutti i dati raccolti sono stati analizzati da un esperto in statistica esterno, il quale ha operato in cieco rispetto alla randomizzazione, all'allocazione e al disegno dello studio. I soggetti erano all'oscuro del disegno dello studio, degli outcome e del tipo di intervento a cui venivano sottoposti.

## Analisi dei dati

I dati sono stati raccolti mediante un modulo socio-demografico e usando il sistema Flexcomp per la

rilevazione della HRV ([http://www.righetto.biz/Biofeedback/flexcomp\\_infiniti.htm](http://www.righetto.biz/Biofeedback/flexcomp_infiniti.htm)). Questo sistema si compone di un pletismografo da collocarsi sul dito medio della mano sinistra, di due rilevatori di conduttanza cutanee posti sull'indice e sull'anulare della mano sinistra e da due fasce da posizionarsi intorno al torace e all'addome per controllare la ventilazione polmonare. Gli intervalli R-R sono stati estratti dall'ECG (frequenza di campionamento 256 Hz) utilizzando il software Physiology Suit ([www.thoughttechnology.com/physuite](http://www.thoughttechnology.com/physuite)) e importati nel software Kubios (<http://kubios.uef.fi>) per calcolare tutti i parametri della HRV considerati nel presente studio. Sono state utilizzate serie RR di 300 battiti cardiaci. Per ciascuna condizione è stata analizzata un'unica sequenza. Nel caso in cui venissero registrati più di 300 valori per RR, si procedeva a estrarre casualmente una sequenza di 300 battiti all'interno del periodo analizzato. Se venivano registrati meno di 300 valori RR, tutti i valori venivano sottoposti all'analisi.

Il metodo di analisi della HRV, basato sull'elaborazione degli intervalli RR registrati, è stato suddiviso in analisi lineare (dominio del tempo e della frequenza) e analisi non lineare (Aubert et al., 2003). Per l'analisi lineare, a partire dagli spettri di potenza (trasformata veloce di Fourier utilizzando la finestra di Blackman Harris) di tacogrammi equidistanti lineari interpolati (4Hz) (ricampionati a 2 Hz) sono stati considerati i seguenti indici standard del dominio di frequenza della HRV: la HF assoluta e la nuHF, da 0,15 a 0,4 Hz, che è un segnale di modulazione parasimpatica sulla frequenza cardiaca (Aa.Vv., 1996; Berntson et al., 1997; Taylor et al., 1998); la LF assoluta e la componente nuLF, da nella banda da 0,04 a 0,15Hz (Lane, et al., 2009). Il rapporto HF/LF si è dimostrato un indicatore affidabile dell'equilibrio del SNA (Pagani et al., 1986; Malliani et al., 1991). Per l'analisi non lineare è stato considerato il DFA $\alpha$ 1. Il DFA $\alpha$ 1 è un indice della funzione parasimpatica, considerato più sensibile (Kemp et al., 2010 2012) e in grado di catturare le correlazioni a lungo termine e le complessità delle serie di intervalli RR (Peng et al., 1993). Il metodo DFA ha permesso di trovare correlazioni a lungo termine tra gli intervalli interbattito, separati da diversi battiti, analizzando il comportamento di scala delle fluttuazioni del battito cardiaco su diverse scale temporali. Una descrizione dettagliata dell'algoritmo DFA e della teoria che ne conferma l'utilità ai fini dell'analisi delle oscillazioni neuronali è stata presentata in modo pertinente da Hardstone et al. (2012). Una struttura frattale della frequenza cardiaca è stata quantificata stimando, tramite il ridimensionamento dell'esponente dalla DFA, le fluttuazioni a breve termine (A1, fluttuazioni a breve termine, ottenute nella gamma  $4 \leq n \leq 16$ ) ed a lungo termine (a2, fluttuazioni a lungo termine, ottenute nella gamma  $16 \leq n \leq 64$ ).

Al momento dell'arruolamento, i soggetti compilavano il modulo socio-demografico. Per ogni sessione, è stato sviluppato un paradigma composto da 4 componenti: (1) 5 min senza alcun contatto manuale per la valutazione di base; (2) 10 min per la valutazione osteopatica o simulata; (3) 15 minuti per il trattamento manuale dei soggetti; e (4) 5 min finali in cui non avveniva alcun contatto manuale.

Le registrazioni della HRV sono state eseguite ai punti (1), (3) e (4).

I soggetti venivano invitati a stare fermi con gli occhi chiusi e in silenzio durante le tre fasi della registrazione.

## **Analisi statistica**

La dimensione del campione è stata calcolata considerando un coefficiente di correlazione tra le misure ripetute di 0,15, una dimensione dell'effetto dello 0,3, un errore di tipo uno pari a 0,05 e una potenza di 0,80. Il campione finale  $n = 51$  (17 per gruppo) è stato ulteriormente aumentato fino a 60 per evitare la perdita di potenza.

Nel presente studio è stata effettuata un'analisi per protocollo. Lo stazionario è stato valutato utilizzando il test RWS (Porta et al., 2004), che verifica se la media e la varianza rimangono costanti nei modelli M. Data una serie di RR, il primo passo consisteva nell'applicare il test di Kolmogorov

Smirnov sulla bontà dell'adattamento per valutare la normalità della distribuzione ( $p < 0,05$ ). Se la distribuzione non risultava normale, si applicava una trasformazione logaritmica e si procedeva a un nuovo test della normalità. Se ancora una volta i dati non presentavano una distribuzione normale, i dati venivano considerati come distribuiti non-normalmente. Il passo successivo consisteva nel verificare la normalità lungo i modelli M, che vengono selezionati a caso da un insieme di sequenze di lunghezza L (Porta et al., 2004). Per verificare la stabilità della media è stato eseguito un test ANOVA, altrimenti si è usato il test di Kruskal-Wallis. Per verificare la stabilità della varianza, si è utilizzato il test di Barlett se i dati erano distribuiti normalmente, altrimenti è stato adottato il test di Levene utilizzando la mediana.

Un'analisi descrittiva della popolazione è stata effettuata, utilizzando medie aritmetiche, mediane, deviazioni standard ed errori standard. I test statistici univariati hanno usato il test del chi quadro per stabilire le differenze tra le variabili categoriche, come il sesso, il TMO e il fumo. I risultati sono stati espressi in percentuale.

L'ANOVA a una via è stata utilizzata per analizzare le variabili continue, come l'età, l'indice di massa corporea, nuHF, auHF, nuLF, auLF, il rapporto LF / HF, e DFA $\alpha$ 1. Per evidenziare le differenze statistiche risultate da ANOVA è stata utilizzata l'analisi Tukey post-hoc.

Per determinare le differenze nelle variabili dipendenti tra i gruppi è stato utilizzato il modello di effetto misto di regressione (MER), considerando un effetto casuale per l'osteopata e un effetto fisso per il periodo. Per esplorare qualsiasi differenza statistica risultante dal MER sono state utilizzate analisi post-hoc a coppie, rettificata con la correzione di Holm-Bonferroni. Sono state effettuate le analisi di sensibilità per quanto concerne il fumo e la sessione.

La dimensione dell'effetto è stata calcolata usando la d di Cohen per evidenziare l'effetto clinico del TMO rispetto al gruppo della terapia simulata e al controllo. La significatività statistica è stata impostata a un livello di probabilità inferiore allo 0,05. Tutte le analisi sono state effettuate utilizzando R v 2.15.01.

## Risultati

Su 97 volontari, 66 sono stati inclusi nello studio e randomizzati. Nove soggetti hanno abbandonato e quindi 57 hanno completato lo studio (Figura 1). In nessuno dei soggetti arruolati si sono registrati meno di 300 cicli cardiaci in qualsiasi condizione di studio.

La RWS ha rivelato una stazionarietà della media e della varianza. Al momento dell'arruolamento, l'ANOVA a una via non ha rivelato alcuno squilibrio statisticamente significativo tra il gruppo del TMO, della terapia simulata e di controllo, in termini di età, indice di massa corporea, sesso, precedenti esperienze di TMO, fumo, nuHF, auHF, nuLF, auLF, DFA $\alpha$ 1, e valori del rapporto LF/HF (Tabella 1). Tra i 38 partecipanti sottoposti alla terapia simulata e agli interventi del TMO, la percentuale dei soggetti in grado di indovinare correttamente il trattamento che avevano ricevuto non differiva (sessione 1: 16% TMO vs. 21% terapia simulata,  $p = 0,68$ ; Sessione 2: 31% TMO vs. 26% terapia simulata,  $p = 0,72$ ).

## Outcome primario

Per quanto concerne l'outcome primario, il MER ha evidenziato una differenza statisticamente significativa tra i gruppi nuHF ( $p < 0,001$ ) (Figura 2B). L'analisi post-hoc di Tukey ha rivelato che nel gruppo del TMO i valori nuHF erano significativamente maggiori rispetto al gruppo della terapia simulata ( $p < 0,01$ ) e al gruppo di controllo ( $p < 0,001$ ). La terapia simulata non presentava alcuna modifica significativa dei valori della nuHF rispetto al gruppo di controllo ( $p = 0,44$ ). Il TMO ha sortito un effetto di medie dimensioni rispetto alla terapia simulata ( $d = 0,38$ ) e al gruppo di controllo ( $d =$

0,49).

## **Outcome secondario**

### **Bassa frequenza**

L'analisi della auLF ha evidenziato una differenza statisticamente rilevante tra i gruppi ( $p < 0.01$ ) (Figura 2D). L'analisi di Tukey ha dimostrato che il TMO riduceva significativamente i valori della auLF rispetto alla terapia simulata ( $p < 0.05$ ) e al controllo ( $p < 0.001$ ). Nessun risultato analogo è stato ottenuto per la terapia simulata e il gruppo controllo ( $p = 0.40$ ).

### **Detrended Flunctuation Scaling Exponent (DFA $\alpha$ 1)**

Il DFA $\alpha$ 1 è risultato statisticamente differente tra i gruppi ( $p < 0,05$ ) (Figura 2C). L'analisi post-hoc ha evidenziato che il TMO riduce significativamente i valori del DFA $\alpha$ 1 rispetto al gruppo di controllo ( $p < 0.001$ ), e quasi significativamente rispetto alla terapia simulata ( $p = 0,09$ ). Inoltre, la terapia simulata riduceva significativamente il DFA $\alpha$ 1 rispetto al gruppo di controllo ( $p = 0,05$ ). Le dimensioni dell'effetto erano piccole (TMO rispetto al gruppo della terapia simulata:  $d = 0,22$ ) e medie (TMO rispetto al controllo:  $d = 0,51$ ; terapia simulata rispetto al controllo:  $d = 0,30$ ).

### **Rapporto Bassa frequenza /Alta frequenza**

È stata osservata una riduzione statisticamente significativa del rapporto LF / HF tra i gruppi ( $p < 0,001$ ) (Figure2E). L'analisi post-hoc di Tukey ha evidenziato che il TMO aveva un effetto significativamente migliore rispetto alla terapia simulata ( $p < 0,001$ ) e al controllo ( $p < 0,001$ ). La terapia simulata non ha mostrato alcuna associazione statistica rispetto al gruppo di controllo ( $p = 0.40$ ).

### **Alta frequenza-Unità assoluta**

Il valore di auHF ha mostrato differenze statisticamente significative tra i gruppi ( $p < 0,01$ ) (Figura 2A). L'analisi post-hoc ha evidenziato un aumento significativo nel gruppo sottoposto a TMO rispetto alla terapia simulata e al controllo ( $p < 0,001$ ).

## **Analisi di sensibilità**

Le analisi di sensitività sono state effettuate tenendo in considerazione il fumo e le sessioni.

Stratificando in base al fumo, i risultati hanno mostrato differenze statisticamente significative alla linea di base nel gruppo del TMO per il valore di nu HF, il rapporto LF/HF, i valori di au HF e di DFA $\alpha$ 1 sia nei fumatori che nei non fumatori, come mostrato in figura 3, 4. Nel dettaglio, il TMO modificava significativamente i valori basali di tutti i parametri della HRV misurati ( $p < 0,01$ ). La terapia simulata e il gruppo di controllo non hanno manifestato alcuna variazione apprezzabile.

La prima e la seconda sessione di TMO hanno causato un aumento di nuHF e auHF nonché una diminuzione di auLF, del rapporto LF/HF e di DFA $\alpha$ 1 rispetto ai valori della linea di base (figure 5, 6), in misura statisticamente significativa a  $p < 0,01$ . Il gruppo della terapia simulata e quello di controllo non hanno evidenziato variazioni rispetto ai valori della linea di base.



## Eventi avversi

Non sono stati riportati eventi avversi durante la sperimentazione.

## Discussione

Il presente studio dimostra che il TMO modifica l'attività del SNA attraverso la modulazione del funzionamento parasimpatico in soggetti sani, confrontati con un gruppo sottoposto a terapia simulata e un gruppo di controllo. Durante il periodo di trattamento sono state evidenziate variazioni statisticamente significative. Utilizzando un campione più ampio, il presente studio clinico ha confermato precedenti risultati secondo i quali il TMO può influire a livello globale sull'attività tonica del SNA (Henley et al., 2008; Giles et al. 2013). Tuttavia, è possibile sottolineare alcune differenze tra gli studi precedenti e questa sperimentazione. Henley ha utilizzato anche un tilt test per valutare le variazioni della HRV in risposta allo stress ambientale. Inoltre, sia Henley che Giles hanno limitato l'intervento del TMO ad alcune regioni anatomiche (rachide cervicale e area sub-occipitale) direttamente connesse con il controllo parasimpatico e simpatico della frequenza cardiaca. Invece il presente studio ha utilizzato un trattamento basato sulle esigenze del paziente per migliorare la generalizzabilità dei risultati clinici.

È interessante notare che sono emerse differenze di tendenza tra fumatori e non fumatori rispetto ai valori della HRV nel gruppo del TMO. Nei non fumatori, i valori della HRV relativi alla registrazione degli ultimi 5min rimanevano invariati rispetto ai valori della HRV durante la fase del trattamento. Al contrario, i fumatori presentavano una differenza, seppure non statisticamente significativa, dei valori della HRV nei 5min finali e durante la fase del trattamento, dimostrando che il fumo influisce sulle variazioni della HRV dopo il TMO. Nel complesso, ipotizziamo che il trattamento di una disfunzione osteopatica, indipendentemente dalla sua localizzazione, potrebbe modificare l'attività neurovegetativa sia nei fumatori che nei non fumatori.

È interessante notare che, come rilevato da questo studio, ulteriori miglioramenti degli outcome clinici mediati dal TMO, come la riduzione dell'intensità e frequenza del dolore nonché il miglioramento dell'ampiezza del movimento, possono essere correlati alla riduzione dell'attività simpatica. In effetti, la branca parasimpatica del SNA ha un'azione antinfiammatoria e anti-nocicettiva. Tracey ha dimostrato che la liberazione di acetilcolina dalle terminazioni vagali si lega ai recettori nicotinici alfa 7 dei macrofagi, inibendo selettivamente la produzione di citochine pro-infiammatorie (Tracey, 2002). La branca simpatica invece ha un'azione opposta, pro-infiammatoria, e può potenzialmente aumentare l'intensità del dolore. Uno studio del 2013 ha dimostrato che la liberazione di interleuchina-6, indotta dalla noradrenalina, è mediata dai recettori  $\beta$ 2-adrenergici (Stohl et al., 2013). Gli effetti clinici conseguenti al trattamento osteopatico potrebbero anch'essi essere attribuiti alla sintonizzazione trofotropica dell'organismo del paziente, causata dall'induzione di un funzionamento più parasimpatico dell'attività tonica del SNA. Secondo Hess (1955), la sintonizzazione trofotropica è caratterizzata da una diminuzione della frequenza e da un aumento dell'ampiezza delle onde cerebrali, da una riduzione della frequenza cardiaca e respiratoria, da un aumento della temperatura cutanea e da una riduzione della tensione muscolare e dell'ansia.

Questo studio presenta diversi punti di forza e di debolezza. Dopo l'inizio della sperimentazione non è stata apportata alcuna modifica ai metodi e agli outcome. È stata applicata una metodologia rigorosa, controllando i fattori di distorsione relativi all'allocatione, alla rilevazione e alla generazione della sequenza. Si è tenuto conto dei fattori di confondimento come la temperatura e l'umidità dei locali, il fumo e i ritmi circadiani. È stato incluso un campione di grandi dimensioni e il trattamento è stato somministrato in base alle esigenze del paziente. Inoltre, il DFA $\alpha$ 1 è stato preso in considerazione come parametro non lineare per analizzare più approfonditamente l'attività del SNA.

Le limitazioni vanno ricercate nel non aver sistematicamente invitato i partecipanti a svuotare completamente la vescica, nella difficoltà a controllare le condizioni emotive dei soggetti e le loro abitudini quotidiane prima dell'inizio dello studio.

## **Conclusione**

I risultati hanno dimostrato che il TMO produce variazioni nell'attività tonica del SNA, come evidenziato dalle variazioni nei valori di HF, DFA $\alpha$ 1, auLF e nel rapporto LF/HF. Il presente studio è stato svolto su soggetti sani. Ulteriori studi sono auspicabili per quantificare ulteriormente la misura in cui il TMO può modificare l'attività del SNA in condizioni patologiche e per paragonare il suo effetto con le terapie convenzionali, partendo dal presupposto che il TMO potrebbe essere utilizzato come terapia di supporto in aggiunta ai metodi convenzionali.

# Ulteriori informazioni

---

## **Contributi degli autori**

NR, GD, NM, AP, hanno concepito l'idea, redatto la prima bozza del documento. LC ha effettuato la supervisione dello studio, ha esportato i dati e ha rivisto l'articolo, FC ha condotto l'analisi statistica, ha supervisionato la ricerca e ha rivisto l'articolo sotto l'aspetto del contenuto intellettuale. Tutti gli autori hanno approvato la versione definitiva.

## **Ringraziamenti**

Gli autori ringraziano sinceramente Luca Righetto per il suo supporto tecnico e il Dr. Michael Hicks per la revisione dell'articolo.

# Bibliografia

---

- Aa.Vv. (1996). Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task force of the European society of cardiology and the North American society of pacing and electrophysiology. *Circulation* 93, 1043-1065. doi: 10.1161/01.CIR.93.5.1043
- Anderson, B., Nielsen, A., McKee, D., Jeffres, A., and Kligler, B. (2012). Acupuncture and heart rate variability: a systems level approach to understanding mechanism. *Explore (NY)*. 8, 99-106. doi: 10.1016/j.explore.2011.12.002
- Arai, Y. C., Ushida, T., Matsubara, T., Shimo, K., Ito, H., Sato, Y., et al. (2011). The influence of acupressure at extra 1 acupuncture point on the spectral entropy of the EEG and the LF/HF ratio of heart rate variability. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2011, 503698. doi: 10.1093/ecam/nen061
- Aubert, A. E., Seps, B., and Beckers, F. (2003). Heart rate variability in athletes. *Sports Med.* 33, 889-919. doi: 10.2165/00007256-200333120-00003
- Berntson, G. G., Bigger, J. T. Jr., Eckberg, D. L., Grossman, P., Kaufmann, P. G., Malik, M., et al. (1997). Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology* 34, 623-648. doi: 10.1111/j.1469-8986.1997.tb02140.x
- Bonnemeier, H., Richardt, G., Potratz, J., Wiegand, U. K., Brandes, A., Kluge, N., et al. (2003). Circadian profile of cardiac autonomic nervous modulation in healthy subjects: differing effects of aging and gender on heart rate variability. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 14, 791-799. doi: 10.1046/j.1540-8167.2003.03078.x
- Caruana-Montaldo, B., Gleeson, K., and Zwillich, C. W. (2000). The control of breathing in clinical practice. *Chest* 117, 205-225. doi: 10.1378/chest.117.1.205
- Cavallari, J. M., Fang, S. C., Mittleman, M. A., and Christiani, D. C. (2010). Circadian variation of heart rate variability among welders. *Occup. Environ. Med.* 67, 717-719. doi: 10.1136/oem.2010.055210
- Freeman, J. V., Dewey, F. E., Hadley, D. M., Myers, J., and Froelicher, V. F. (2006). Autonomic nervous system interaction with the cardiovascular system during exercise. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 48, 342-362. doi: 10.1016/j.pcad.2005.11.003
- Galetta, F., Franzoni, F., Fallahi, P., Tocchini, L., Braccini, L., Santoro, G., et al. (2008). Changes in heart rate variability and QT dispersion in patients with overt hypothyroidism. *Eur. J. Endocrinol.* 158, 85-90. doi: 10.1530/EJE-07-0357
- Gao, X. Y., Wang, L., Gaischek, I., Michenthaler, Y., Zhu, B., and Litscher, G. (2012). Brain-modulated effects of auricular acupressure on the regulation of autonomic function in healthy volunteers. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012:714391. doi: 10.1155/2012/714391
- Giles, P. D., Hensel, K. L., Pacchia, C. F., and Smith, M. L. (2013). Suboccipital decompression enhances heart rate variability indices of cardiac control in healthy subjects. *J. Altern. Complement. Med.* 19, 92-96. doi: 10.1089/acm.2011.0031
- Guyton, A. C., and Hall, J. E. (2006). *Fisiologia Medica*. Milano: Edizione Italiana a Cura Luciano Zocchi © Elsevier S.r.l. undicesima edizione: parte XI, Capitolo 60.
- Haker, E., Egekvist, H., and Bjerring, P. (2000). Effect of sensory stimulation (acupuncture) on sympathetic and parasympathetic activities in healthy subjects. *J. Auton. Nerv. Syst.* 79, 52-59. doi: 10.1016/S0165-1838(99)00090-9
- Hardstone, R., Poil, S. S., Schiavone, G., Jansen, R., Nikulin, V. V., Mansvelder, H. D., et al. (2012). Detrended fluctuation analysis: a scale-free view on neuronal oscillations. *Front. Physiol.* 3:450. doi:10.3389/fphys.2012.00450
- Henley, C. E., Ivins, D., Mills, M., Wen, F. K., and Benjamin, B. A. (2008). Osteopathic manipulative treatment and its relationship to autonomic nervous system activity as demonstrated by heart rate variability: a repeated measures study. *Osteopath. Med. Prim. Care* 2:7. doi: 10.1186/1750-4732-2-7
- Hess, W. R. (1955). Diencephalon, autonomic and extrapyramidal functions. *Am. J. Med. Sci.* 229, 469. doi: 10.1097/00000441-195504000-00017
- Huang, T., Zhang, W., Jia, S., Tian, Y., Wang, G., Yang, L., et al. (2012). A transcontinental pilot study for acupuncture lifting-thrusting and twisting-rotating manipulations. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012:157989. doi: 10.1155/2012/157989
- Huikuri, H. V., Kessler, K. M., Terracall, E., Castellanos, A., Linnaluoto, M. K., and Myerburg, R. J. (1990). Reproducibility and circadian rhythm of heart rate variability in healthy subjects. *Am. J. Cardiol.* 65, 391-393. doi: 10.1016/0002-9149(90)90308-N
- Kara, T., Nykodym, J., and Somers, V. K. (2003). Heart rate variability: back to the beginning. *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 14, 800-802. doi: 10.1046/j.1540-8167.2003.03258.x
- Karemaker, J. M., and Lie, K. I. (2000). Heart rate variability: a telltale of health or disease. *Eur. Heart J.* 21, 435-437. doi: 10.1053/euhj.1999.1969
- Kemp, A. H., Quintana, D. S., Felmingham, K. L., Matthews, S., and Jelinek, H. F. (2012). Depression, comorbid anxiety disorders, and heart rate variability in physically healthy, unmedicated patients: implications for cardiovascular risk. *PLoS ONE* 7:e30777. doi:10.1371/journal.pone.0030777
- Kemp, A. H., Quintana, D. S., Gray, M. A., Felmingham, K. L., Brown, K., and Gatt, J. M. (2010). Impact of depression and antidepressant treatment on heart rate variability: a review and meta-analysis. *Biol. Psychiatry* 67, 1067-1074. doi:

10.1016/j.biopsycho.2009.12.012

- Lane, R. D., McRae, K., Reiman, E. M., Chen, K., Ahern, G. L., and Thayer, J. F. (2009). Neural correlates of heart rate variability during emotion. *Neuroimage* 44, 213–222. doi: 10.1016/j.neuroimage.2008.07.056
- Lee, Y. H., Park, B. N., and Kim, S. H. (2011). The effects of heat and massage application on autonomic nervous system. *Yonsei Med. J.* 52, 982–989. doi: 10.3349/ymj.2011.52.6.982
- Li, Z., Jiao, K., Chen, M., and Wang, C. (2003). Effect of magnetopuncture on sympathetic and parasympathetic nerve activities in healthy drivers— assessment by power spectrum analysis of heart rate variability. *Eur. J. Appl. Physiol.* 88, 404–410. doi: 10.1007/s00421-002-0747-5
- Litscher, G. (2009). Ten years evidence-based high-tech acupuncture—a short review of centrally measured effects (Part II). *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 6, 305–314. doi: 10.1093/ecam/nem169
- Litscher, G. (2010). Ten years evidence-based high-tech acupuncture part 3: a short review of animal experiments. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 7, 151–155. doi: 10.1093/ecam/nen034
- Litscher, G., Cheng, G., Wang, L., Cheng, W., Su, H., Niu, Q., et al. (2012). Biomedical teleacupuncture between China and Austria using heart rate variability—part 2: patients with depression. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012:145904. doi: 10.1155/2012/145904
- Magoun. (1976). *Osteopathy in the Cranial Field*, 3rd Edn. Kirksville, MO: Journal Printing Co.
- Malliani, A., and Montano, N. (2002). Heart rate variability as a clinical tool. *Ital. Heart J.* 3, 439–445.
- Malliani, A., Pagani, M., Lombardi, F., and Cerutti, S. (1991). Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation* 84, 482–492. doi: 10.1161/01.CIR.84.2.482
- Meissner, K. (2011). The placebo effect and the autonomic nervous system: evidence for an intimate relationship. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 366, 1808–1817. doi: 10.1098/rstb.2010.0403
- Minami, J., Ishimitsu, T., and Matsuoka, H. (1999). Effects of smoking cessation on blood pressure and heart rate variability in habitual smokers. *Hypertension* 33, 586–590. doi: 10.1161/01.HYP.33.1.586
- Mishra, N., Muraleedharan, K. C., Paranjpe, A. S., Munta, D. K., Singh, H., and Nayak, C. (2011). An exploratory study on scientific investigations in homeopathy using medical analyzer. *J. Altern. Complement. Med.* 17, 705–710. doi: 10.1089/acm.2010.0334
- Pagani, M., Lombardi, F., Guzzetti, S., Rimoldi, O., Furlan, R., Pizzinelli, P., et al. (1986). Power spectral analysis of heart rate and arterial pressure variabilities as a marker of sympatho-vagal interaction in man and conscious dog. *Circ. Res.* 59, 178–193. doi: 10.1161/01.RES.59.2.178
- Peng, C.-K., Mietus, J., Hausdorff, J. M., Havlin, S., Stanley, H. E., and Goldberger, A. L. (1993). Long-range anticorrelations and non-Gaussian behavior of the heartbeat. *Phys. Rev. Lett.* 70, 1343–1346. doi: 10.1103/PhysRevLett.70.1343
- Ponard, J. G., Kondratyev, A. A., and Kucera, J. P. (2007). Mechanisms of intrinsic beating variability in cardiac cell cultures and model pacemaker networks. *Biophys. J.* 92, 3734–3752. doi: 10.1529/biophysj.106.091892
- Pope, C. A. III, Eatough, D. J., Gold, D. R., Pang, Y., Nielsen, K. R., Nath, P., et al. (2001). Acute exposure to environmental tobacco smoke and heart rate variability. *Environ. Health Perspect.* 109, 711–716. doi: 10.1289/ehp.01109711
- Porta, A., D'Addio, G., Guzzetti, S., Lucini, D., and Pagani, M. (2004). Testing the presence of non stationarities in short heart rate variability. *Comput. Cardiol.* 31, 645–648. doi: 10.1109/CIC.2004.1443021
- Porta, A., Guzzetti, S., Montano, N., Furlan, R., Pagani, M., Malliani, A., et al. (2001). Entropy, entropy rate, and pattern classification as tools to typify complexity in short heart period variability series. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 48, 1282–1291. doi: 10.1109/10.959324
- Pumprla, J., Howorka, K., Groves, D., Chester, M., and Nolan, J. (2002). Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *Int. J. Cardiol.* 84, 1–14. doi: 10.1016/S.0167-5273(02)00057-8
- R Developmental Core Team. (2010). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.
- Routledge, F. S., Campbell, T. S., McFetridge-Durdle, J. A., and Bacon, S. L. (2010). Improvements in heart rate variability with exercise therapy. *Can. J. Cardiol.* 26, 303–312. doi: 10.1016/S0828-282X(10)70395-0
- Stohl, L. L., Zang, J. B., Ding, W., Manni, M., Zhou, X. K., and Granstein, R. D. (2013). Norepinephrine and adenosine-5'-triphosphate synergize in inducing IL-6 production by human dermal microvascular endothelial cells. *Cytokine* 64, 605–612. doi: 10.1016/j.cyto.2013.08.005
- Taylor, J. A., Carr, D. L., Myers, C. W., and Eckberg, D. L. (1998). Mechanisms underlying very-low-frequency RR-interval oscillations in humans. *Circulation* 98, 547–555. doi: 10.1161/01.CIR.98.6.547
- Tracey, K. J. (2002). The inflammatory reflex. *Nature* 420, 853–859. doi: 10.1038/nature01321

# Allegati

---

- [Figura 6](#)
- [figura 5](#)
- [Figura 4](#)
- [Figura 3](#)
- [Figura 2](#)
- [Figura 1](#)
- [Tabella 1](#)



Copyright © 2015 Ruffini, D'Alessandro, Mariani, Pollastrelli, Cardinali and Cerritelli. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.