POLITECNICO DI TORINO

Collegio di Ingegneria Chimica e dei Materiali

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica

Tesi di Laurea Magistrale

Effetto della durata di una sessione di stretching sulle performance di forza muscolare: meccanismi centrali vs periferici



Relatore

prof. Taian Martins

Candidato

Martina Schembri s277414

Indice

Ał	ostrac	t		V	
Gl	ossari	io		. IX	
1.	Int	roduz	ione	1	
2.	Sta	Stato dell'arte			
	2.1 Stretching			5	
	2.1.	1	Definizione	5	
	2.1.2		Tipologie	5	
	2.1.	.3	Benefici e rischi	6	
	2.2	II sis	stema nervoso	8	
	2.2.	1	Potenziali elettrici	. 10	
	2.2.	2	Conduzione nervosa	. 11	
	2.3	Il m	uscolo scheletrico	. 12	
	2.3.	1	Struttura del muscolo scheletrico	. 13	
	2.3.	2	Tipologie di contrazione muscolare	. 15	
	2.4	Il se	gnale elettromiografico	. 16	
	2.4.	1	Elettromiografia	. 16	
	2.4.	2	Applicazioni	. 17	
	2.4.3		Genesi, acquisizione e morfologia del segnale elettromiografico	. 17	
	2.5	L'el	ettrostimolazione	. 18	
	2.5.	1	Elettrodi di stimolazione	. 19	
	2.5.	2	Tecniche di stimolazione	. 20	
	2.5.3		Contrazioni volontarie vs contrazioni elettricamente indotte	. 20	
	2.5.	4	Onda M e riflesso H	. 21	
	2.5.	.5	Onde V	. 24	
	2.5.	6	Artefatto da stimolazione	. 25	
3.	Str	umen	tazione	. 27	
	3.1	Setu	ıp sperimentale	. 27	
	3.2	Dina	amometro isocinetico	. 27	
	3.3	Stim	iolatore elettrico	. 29	
	3.4	Siste	ema di prelievo del segnale sEMG ad alta densità	. 33	
4.	Pro	tocoll	lo sperimentale	. 37	
	4.1	Part	tecipanti	. 37	
	4.2	Mus	scolo target	. 37	
	4.3	Fam	iliarizzazione	. 38	
	4.3.1		Ricerca punto motore ed elettrodi di stimolazione	. 38	
4.3.2		2	Protocollo di stimolazione	. 40	

4.3.3	Prelievo segnali elettromiografici					
4.3.4	Determinazione della corrente di stimolazione					
4.4 P	rotocolli di controllo e di stretching					
4.4.1	Test MVC, stimolazione elettrica e prelievo segnali sEMG					
4.4.2	Estrazione parametri					
4.5 A	nalisi dei dati					
5. Ris	ultati e discussione					
6. Cor	ıclusioni					
Bibliografia						

Abstract

Per una performance sportiva, la forza e la flessibilità muscolare sono due elementi fondamentali e per questo gli atleti solitamente svolgono esercizi di allungamento muscolare prima di una competizione. Studi recenti hanno dimostrato che per migliorare la flessibilità e diminuire il rischio di infortuni senza incorrere in deficit di forza e affaticamento muscolare, il periodo massimo di allungamento muscolare consigliato è di circa un minuto. Tuttavia, non è del tutto chiaro quali meccanismi spieghino la differenza attesa nelle prestazioni successive a sedute di stretching di durata inferiore ai 60 secondi.

L'obbiettivo del presente studio è quello di confrontare gli effetti che sessioni di stretching muscolare di durata differente (30s vs 60s per ripetizione) hanno sulle performance di forza e ricercare il contributo dei meccanismi centrali e/o periferici.

Sono stati reclutati 12 partecipanti, 6 maschi e 6 femmine, che hanno eseguito in ordine casuale 2 protocolli di stretching dei muscoli planta-flessori su un dinamometro isocinetico ed un protocollo di controllo in due giornate differenti.

L'attività del muscolo gastrocnemio mediale è stata registrata nel corso di tutto l'esperimento. Per la quantificazione del coinvolgimento centrale e periferico è stata sfruttata la stimolazione elettrica, che permette di isolare gli aspetti periferici, talvolta combinata alla contrazione volontaria massimale del soggetto. L'"Interpolated Twitch Tecnique" (ITT) per la stima dell'attivazione volontaria, la coppia massima sviluppata, il valore RMS del segnale elettromiografico e l'ampiezza dell'onda V normalizzati rispetto alla massima ampiezza dell'onda M sono le variabili estratte per la misura del contributo centrale; l'ampiezza dell'onda M, la coppia massima indotta a riposo ed infine parametri che caratterizzano il twitch di forza (tempo per raggiungere il picco e per tornare alla linea di base) sono invece quelle estratte per la misura del contributo periferico. Raccolti tutti i dati, acquisiti prima, subito dopo e dopo 15 minuti dai protocolli di stretching o controllo eseguiti, è stata eseguita un'indagine statistica per testare l'ipotesi che sia meccanismi centrali che periferici contribuiscano al calo prestazionale atteso.

In particolare, è stato eseguito un test di normalità dei dati, un test di omogeneità per verificarne la variabilità ed infine, a seguito di un esito positivo, un test parametrico ANOVA a due vie (condizione x tempo della sessione, con misure ripetute). Un'analisi post hoc è stata eseguita applicando il test di correzione di Bonferroni. Il coefficiente di correlazione di Pearson è stato calcolato per verificare la dipendenza della perdita di forza dalle variabili presumibilmente associate ai meccanismi centrali e periferici.

Glossario

- EMG = elettromiografia
- ENG = elettroneurografia
- GM = gastrocnemio mediale
- ITT = Interpolated Twitch Tecnique
- MTU = unità muscolo-tendinea (Muscle Tendon Unit)
- MUAP = Motor Unit Action Potential
- MUAPT = Motor Unit Action Potential Train
- MVC = Massima Contrazione Volontaria
- NMES = Neuromuscular Electric Stimulation
- ROM = range di movimento (Range of Motion)
- sEMG = elettromiografia di superficie
- SNC = Sistema Nervoso Centrale
- SNP = Sistema Nervoso Periferico
- SS = Stretching Statico

1. Introduzione

Eseguire una sessione di stretching prima di una pratica sportiva di qualunque genere, che si tratti di un allenamento o di una competizione agonistica, è una pratica comune ormai da decenni. Diversi studi hanno di fatto evidenziato molteplici effetti positivi derivanti dallo svolgimento di una seduta di allungamento muscolare: tra questi, l'aumento del "range of Motion" (ROM) [1] [2] [3] [4], risultato della maggiore tolleranza alla tensione di stiramento imposta durante gli esercizi di flessibilità eseguiti [5] [6], e l'aumento della compliance muscolare in vivo [7] [8] sono i principali. È quindi sulla base di questi risultati che l'allungamento muscolare viene fortemente raccomandato dai clinici ad allenatori e atleti al fine di limitare la rigidità del muscolo, in favore di una maggior flessibilità, e di prevenire dolori ed infortuni a livello dell'unità muscolo-tendinea [9] [10] [11] [1] [12] [13] [2].

Tuttavia, recentemente l'effetto di una seduta di stretching sulle performance di forza e potenza muscolari che l'atleta è in grado di sviluppare nel corso di attività sportive svolte successivamente è stata messa fortemente in discussione. Una sua esecuzione non conforme a specifici criteri può infatti indurre ad un calo prestazionale, traducibile in una riduzione della forza massimale isometrica generata, del relativo rate di sviluppo, della coppia e della potenza sviluppati dal muscolo durante la performance sportiva [14] [15] [16] [13]. Un simile calo di prestazioni può dipendere dalla durata della sessione di stretching eseguita dall'atleta, intesa in termini di tempo dedicato al singolo esercizio di allungamento muscolare svolto. Nella letteratura scientifica diversi sono gli studi volti alla valutazione degli effetti acuti dello stretching, eseguito per 15s, 30s, 45s o 60s per ripetizione, sulla conseguente capacità del muscolo di generare forza e dell'atleta di rispondere a task specifici legati ai singoli sport (come, ad esempio, altezza massima raggiunta nel salto in alto, distanza massima percorsa nel salto in lungo, ecc.). I risultati di tali studi sono stati esaminati e messi a confronto da Kay e Blazevich

(2012) [17] e Simic, Sarabon e Markovic (2013) [16], i quali hanno concluso che gli effetti dello stretching sulle performance sono dose-dipendenti e diminuiscono al diminuire della durata della sessione di stretching (Figura 1). In particolare, a 60s è stato osservato un decremento delle performance significativamente maggiore rispetto a quanto si verifica a 30s [18].



Figura 1. Relazione **sigmoidale** tra la durata del singolo esercizio e la probabilità che si manifesti un calo prestazionale (immagine ripubblicata da Kay and Blazevich, 2012 [16])

I meccanismi che chiariscono la dipendenza dal tempo di una simile diminuzione delle performance di forza non sono ancora del tutto chiari. Nonostante non siano stati condotti studi che spieghino in modo sistematico l'origine di tale effetto del tempo, è stato suggerito che meccanismi centrali e periferici siano alla base di tale fenomeno. L'osservata riduzione dell'ampiezza del segnale elettromiografico in contrazioni volontarie [19] [20] [21] conferma infatti un coinvolgimento centrale che limita le capacità del muscolo di generare forza nel caso in cui esso sia stato precedentemente allungato. Inoltre, l'aumento delle tensioni di trazione sull'unità muscolo-tendinea riscontrato a seguito di una sessione di stretching statico e l'influenza di quest'ultimo sulla sua rigidezza ha portato a pensare che a contribuire alla perdita di forza dopo lo stretching, causati dalla riduzione dell'attivazione delle unità motorie, della capacità contrattile e quindi della forza sviluppata [4], fossero anche fattori periferici. Nonostante alcuni studi non concordino con tale conclusione, affermando invece che la diminuzione della rigidezza dell'unità muscolo tendinea riscontrata è talmente ridotta da non

compromettere la capacità del muscolo di sviluppare forza [22], soprattutto in caso di precondizionamento muscolare (riscaldamento eseguito prima dello stretching) [23], un'eventuale componente periferica non è da escludere a priori. Ricerche risalenti ai primi anni 2000 e che coinvolgevano lo stretching statico fino al punto di massimo disagio hanno infatti mostrato una riduzione della forza muscolare sviluppata successivamente alla sessione di allungamento muscolare [9], [24] [25], [26]. Tra questi, Fowles et al. [25] e Behm et al. [24] hanno imposto lunghi periodi di stiramento (60 minuti e 20 minuti, rispettivamente), mentre studi successivi hanno valutato l'influenza sulle performance di sedute di stretching di durata inferiore. La review di Behm e Chaouachi (2011) [15], che racchiude e confronta studi che hanno analizzato durate comprese tra i 45s e i 135s complessivi, ha concluso che una durata <90s di stretching non induca effetti negativi significativi. Successivamente, Kay e Blazevich (2012) [17] e Behm et al. (2016) [27] sono arrivati a concludere che mentre esercizi di durata inferiore a 60s non impattano sulle prestazioni di forza, d'altro canto durate maggiori aumentano il rischio di indurre danni consistenti. Tuttavia, Fowles et al. (2000) [25] e Ryan et al. (2008) [28], che hanno riscontrato una diminuzione sia della forza massimale sviluppata in condizioni volontarie sia della forza massimale elettricamente indotta a seguito di stimolazione, ne hanno anche evidenziato un recupero quasi totale (~90%) già nei 10 minuti seguenti la sessione di stretching eseguita.

Per questi motivi, prove di forza massimale in contrazioni volontarie talvolta combinate alla stimolazione elettrica sono state impiegate per indagare il contributo centrale e periferico di sessioni di stretching di durate differente (30s vs 60s) su performance di forza. Combinando misure di coppia della caviglia, elettromiogrammi di superficie, onde M e V, chiediamo specificamente se, per le durate più lunghe stretching, il contributo mediato centralmente alla coppia di flessione plantare diminuisce.

2. Stato dell'arte

2.1 Stretching

2.1.1 Definizione

Intesa come l'insieme degli esercizi volti all'allungamento dei muscoli (dall'inglese "to stretch" che significa stirare, allungare, espandere) ed eseguiti a supporto di discipline sportive, prima e/o dopo un allenamento o una competizione, oppure come attività fisica autonoma, la pratica dello stretching è ormai ampiamente diffusa. L'allungamento muscolare viene infatti sfruttato sia in ambito sportivo che in quello fisioterapeutico e riabilitativo con lo scopo di migliorare la flessibilità dei muscoli e prevenire infortuni [29].

2.1.2 Tipologie

In letteratura esistono diversi modi per classificare le varie tipologie di stretching. Sulla base della dinamica utilizzata durante lo svolgimento degli esercizi, si distinguono:

- Stretching *balistico*: consiste in una serie di slanci ripetuti con movimenti oscillatori e "a scatti", seguiti di molleggio o rimbalzo. Se non eseguito correttamente può indurre strappi muscolari e per questo il suo impiego è fortemente sconsigliato;
- Stretching *dinamico*: simile a quello balistico, prevede oscillazioni più lente e con movimenti controllati che sfruttino tutta l'ampiezza del movimento dell'articolazione in maniera graduale. Quando il muscolo raggiunge la massima estensione, il soggetto ritorna nella posizione di partenza per ripetere l'esercizio o passare al successivo;
- Stretching *statico*: prevede la graduale e lenta assunzione ed il mantenimento di una determinata posizione per tutta la durata dell'esercizio durante cui il muscolo arriva in tensione. È il metodo maggiormente adoperato e può essere svolto in due modalità. Esso, infatti, si divide in:

- *Passivo*: il soggetto raggiunge la posizione con l'aiuto di un partner in modo che i muscoli agonisti rimangano inattivi;
- Attivo: il soggetto raggiunge la posizione in maniera autonoma, rilassando il muscolo di interesse e attivando gli antagonisti;
- Stretching *isometrico* in *pre-contrazione*: prevede che il soggetto esegua una contrazione sub-massimale del muscolo di interesse una volta raggiunta passivamente la posizione desiderata. Comprende il PNF (stretching *propriocettivo*), molto utilizzato in ambito medico e durante il quale il soggetto cerca di contrarre il muscolo precedentemente allungato mentre una seconda persona applica una resistenza per impedire il movimento dell'articolazione. Il PNF è a sua volta suddiviso in CRS (*Contract Relax Stretch*) e il CRAC (*Contract Relax Agonist Contract*), in cui alla contrazione sub-massimale eseguita contro la resistenza del partner segue il rilassamento del muscolo che infine ritorna nella sua condizione di massimo stiramento, in maniera attiva (CRS) o mediante la contrazione volontaria del muscolo antagonista (CRAC).

2.1.3 Benefici e rischi

Per decenni l'utilità dello stretching non è stata messa in discussione: gli allenatori raccomandavano agli atleti di eseguire una sessione di allungamento muscolare così da "scaldare" i muscoli in modo da poter sostenere l'attività sportiva successiva nel migliore delle condizioni muscolari possibili. I due principali motivi che hanno da sempre spinto a ritenere lo stretching di grande aiuto per gli atleti riguardano l'aumento della flessibilità, favorita da un ampiamento del range articolare disponibile all'articolazione durante il movimento, altresì detto ROM, e la conseguente riduzione del rischio di dolori e lesioni muscolari e/o articolari. A questa conclusione è giunto nel 2007 il gruppo di ricerca di Kokkonen *et al.* [29] che ha riscontrato un evidente miglioramento del ROM, della flessibilità e delle performance relative a salto in lungo,

salto verticale e sprint di corsa, confermando ciò che fino a quel momento è sempre stato considerato indubbio.

Tuttavia, negli ultimi anni, i benefici che fino a quel momento sono stati associati all'esecuzione di una sessione di stretching sono stati grande oggetto di dibattito e le conclusioni emerse dalla letteratura circa la sua influenza sulle prestazioni di forza sono risultate contrastanti. Da un lato, secondo alcuni studi eseguire esercizi di allungamento non comporta rischi né tantomeno benefici sulle performance di forza testate, osservando di fatto performance simili prima e dopo la sessione eseguita e quindi considerando gli effetti riscontrati inconsistenti [9] [30] [31] [22]; dall'altro, di diversa natura sono i risultati a cui sono giunti diversi studi che sono seguiti nel tempo: diminuzioni relativamente consistenti della forza muscolare sviluppata in condizioni massimali, della potenza muscolare e della performance muscolare esplosiva, rispettivamente del -5.4% (C.I: -6.6% - -4.2%), del -1.9% (C.I: -4% - -0.2%) e del-2% (C.I: -2.8% - -1.3%), hanno fatto vacillare le convinzioni di clinici e studiosi in merito ai benefici indotti dallo stretching [16]. Simili risultati confermano anche quanto riscontrato in precedenza da Wilson, Hornbuckle, Ugrinowitsch e Kim [32] che hanno posto anche la propria attenzione sul calcolo del dispendio energetico, osservandone un aumento a seguito dello stretching eseguito.

Nonostante in ciascuno dei lavori sopra citati lo stretching e i relativi effetti fossero il principale oggetto di studio, mettere a paragone tali risultati è piuttosto avventato. I protocolli sperimentali adottati nel corso dei diversi studi non sono infatti confrontabili: la tipologia di stretching eseguito dai partecipanti, ma soprattutto la durata della sessione di stretching svolta e i parametri analizzati sono molteplici e ciascun gruppo di ricerca ha intrapreso una strada differente. Data la disomogeneità dei metodi utilizzati e dei risultati presenti in letteratura, non si è ancora in grado di definire quali siano effettivamente gli effetti di una sessione di stretching sulle performance [30]. È proprio in questa osservazione che il presente studio trova il suo fondamento.

2.2 Il sistema nervoso

Prima di passare alla descrizione della strumentazione impiegata e del protocollo adottato per definire l'eventuale coinvolgimento centrale e/o periferico dovuto a sessioni di stretching di differente durata valutati su performance di forza, di seguito sono state riportate informazioni anatomiche e fisiologiche riguardanti il sistema nervoso e il muscolo scheletrico, nonché accenni della tecnica elettromiografica e della stimolazione elettrica.

Il sistema nervoso è suddiviso in sistema nervoso centrale (SNC), costituito da encefalo e midollo spinale, e periferico (SNP), formato dalle fibre nervose esterne al SNC. Gli elementi principali del sistema nervoso sono i neuroni e le cellule gliali. Il *neurone*, unità funzionale altamente specializzata, è una cellula nucleata costituita da organuli, che ne regolano l'attività, e un citoscheletro, che collega il nucleo, avvolto da un soma, ai dendriti e all'assone (Figura 2). Sul soma di ciascun neurone giungono le terminazioni sinaptiche, eccitatorie o inibitorie, dei neuroni vicini. Il contatto tra questi in realtà non è fisico, ma tra le due superfici vi è il cosiddetto spazio sinaptico attraverso il quale avvengono gli scambi di segnali: dalla membrana presinaptica il segnale parte, attraversa lo spazio sinaptico e arriva sulla membrana postsinaptica del neurone vicino o di qualunque altra cellula bersaglio.



Figura 2. Struttura neuronale

Dal soma, inoltre, si estendono i dendriti, strutture ramificate che ricevono segnali da recettori sensoriali o da altri neuroni a cui sono connessi mediante le terminazioni sinaptiche. La loro funzione principale è quella di trasferire al soma i segnali ricevuti dai neuroni presinaptici. Gli assoni, invece, hanno origine dalla regione somatica ad alta densità di canali del Na⁺ e del K⁺, dove cioè vengono generati i potenziali d'azione. Lungo l'assone tali segnali elettrici si propagano fino alla cellula bersaglio, sulla quale l'assone si ramifica in terminazioni in corrispondenza delle quali il segnale elettrico viene rilasciato da un neurotrasmettitore e convertito in un segnale chimico.

I neuroni possono essere distinti in base a struttura o funzione svolta. Dal punto di vista strutturale si distinguono assoni:

- Pseudounipolari: assone e dendriti sono fusi tra loro a creare un unico processo;
- *Bipolari*: sono costituiti da un assone e un dendrite;
- Multipolari: possiedono un assone e molteplici dendriti;
- Anassonici: non hanno alcun assone, ma sono formati solo da dendriti.

Dal punto di vista della funzione svolta, invece, vengono riconosciuti:

- *Neuroni afferenti* o *sensoriali*: trasportano i segnali di temperatura, pressione, dolore, ecc. dalla periferia al SNC. Possono essere pseudounipolari oppure bipolari;
- *Interneuroni*: regolano il passaggio delle informazioni provenienti da recettori periferici e diretti al SNC. Sono interamente sviluppati nel SNC;
- Neuroni efferenti o motori: conducono il messaggio neurale dal SNC agli organi effettori (tessuto muscolare). Sono costituiti da un soma molto sviluppato e numerosi dendriti.

Le *cellule gliali* o *neuroglia*, più numerose dei neuroni, non partecipano alla genesi dei potenziali d'azione bensì svolgono un ruolo prettamente strutturale, di sostegno ai neuroni, ed

uno omeostatico, eliminando l'eccesso di ioni K^+ presente nel liquido extracellulare. Le cellule gliali sono presenti sia nel SNC sia nel SNP: mentre nel primo si distinguono in oligodendrociti, astrociti, microglia e cellule ependimali, il secondo è costituito solamente da tue tipologie, le cellule di Schwann e altre cellule satelliti. Le cellule di Schwann e gli oligodendrociti fungono da sostegno meccanico dei neuroni e creano uno strato isolante lungo i loro assoni, avvolgendosi ripetutamente formando la guaina mielinica. Questa non ricopre totalmente l'assone neurale. Infatti, ad intervalli regolari lungo l'assone sono presenti interruzioni di circa 3μ sulla guaina, dette nodi di Ranvier, ricche di canali di Na⁺ e K⁺ e di particolare rilevanza per la propagazione saltatoria degli impulsi.

2.2.1 Potenziali elettrici

I segnali che propagano lungo i neuroni possono essere di due tipi, graduati o d'azione. I primi possono avere intensità variabile, che si attenua lungo il percorso di conduzione, e raggiungere distanze molto brevi. Essi rappresentano depolarizzazioni o iperpolarizzazioni, la cui ampiezza dipende in modo direttamente proporzionale dall'entità dell'evento scatenante. Quando un potenziale graduato di depolarizzazione raggiunge con intensità sufficiente la zona di integrazione del neurone, definita zona trigger, si innesca un potenziale d'azione, ovvero una depolarizzazione molto rapida e ampia in grado di raggiungere distanze più elevate (fino a oltre 1m) senza subire alcuna attenuazione. Per eccitare una cellula e generare un potenziale d'azione è necessario ci sia una depolarizzazione. Per questo, i potenziali graduati depolarizzanti sono anche definiti potenziali postsinaptici eccitatori. Al contrario, poiché con un potenziale graduato iperpolarizzante è meno probabile che si inneschi un potenziale d'azione in quanto il potenziale è lontano dal valore minimo richiesto, esso è detto potenziale postsinaptico inibitorio. Affinché si inneschi un potenziale d'azione, infatti, il potenziali postsinaptici eccitatori sottosoglia arrivino simultaneamente e si sommino tra loro generando un potenziale

graduato sopra soglia (somma spaziale dei potenziali). Tuttavia, qualora nello stesso istante arrivi nella zona trigger un potenziale postsinaptico inibitorio, il potenziale sopra soglia diminuirebbe e potrebbe non essere più sufficientemente intenso per innescare il potenziale d'azione. Potenziali graduati (eccitatori o inibitori) non simultanei ma comunque ravvicinati nel tempo potrebbero in ogni caso sommarsi (somma temporale dei potenziali) ed innescare un potenziale d'azione.



Figura 3. Potenziale di membrana

2.2.2 Conduzione nervosa

Lungo l'assone la conduzione degli impulsi elettrici è permessa dalla capacità rigenerativa del potenziale d'azione, che si propaga lungo la fibra. A riposo, il potenziale di membrana è pari a circa -70mV (Figura 3). Quando sulla fibra nervosa arriva uno stimolo in grado di innescare un potenziale d'azione, i canali del Na⁺ si aprono consentendo l'accesso aglio ioni Na⁺ e invertendo di conseguenza la polarità del potenziale di membrana. In questo modo, infatti, si crea una regione con cariche opposte da cui hanno origine correnti elettroniche che aumentano il potenziale fino al raggiungimento della soglia di attivazione dei canali Na⁺ adiacenti. Pertanto, la zona di depolarizzazione avanza lungo la fibra, allontanandosi dalla zona in cui è stato innescato il potenziale d'azione. Per questo, la propagazione dei segnali elettrici nervosi è detta

unidirezionale. Al raggiungimento del potenziale di equilibrio di ioni Na⁺, i canali del Na⁺ si inattivano mentre si aprono quelli del K⁺, il potenziale torna a diminuire e la zona di innesco del potenziale d'azione diventa refrattaria, cioè non sarà più in grado di trasmettere potenziali d'azione per un certo periodo.

2.3 Il muscolo scheletrico

Nel corpo umano i muscoli rappresentano la componente più voluminosa del peso corporeo complessivo, costituendone circa l'80%. Insieme a ossa e articolazioni, i muscoli svolgono un ruolo di difesa e sostegno dell'organismo permettendone inoltre il movimento. Il controllo del movimento di un'articolazione è adibito alla cooperazione di due muscoli o gruppi muscolari, quello agonista e quello antagonista. In generale, il movimento è permesso dalla contrazione dei muscoli agonisti, che si accorciano allungando i tendini a cui sono connessi, mentre quelli antagonisti si mantengono rilassati. Tuttavia, queste non sono gli unici compiti del muscolo. Il tessuto muscolare svolge infatti numerose altre funzioni, tra cui alcune di vitale importanza quali la respirazione, la digestione e la circolazione sanguigna ed altre apparentemente meno essenziali ma comunque estremamente rilevanti quali il mantenimento della postura, la fonazione, l'ingresso e l'espulsione dei materiali corporei, ecc.

In base alla loro struttura i muscoli sono distinti in muscoli lisci e striati, questi ultimi a loro volta distinguibili in muscoli scheletrici e muscolo cardiaco. Mentre il muscolo striato cardiaco è definito involontario in quanto il suo movimento è autonomo e non dipende dalla volontà del soggetto, in condizioni fisiologiche l'intervento dei muscoli striati scheletrici si verifica solo se è il soggetto a volerlo. È solo in questo caso, infatti, che il SNC invia input efferenti che permettono la contrazione muscolare.

2.3.1 Struttura del muscolo scheletrico

I muscoli scheletrici sono costituiti da fasci di fibre muscolari, cellule multinucleate allungate derivanti dalla fusione di cellule mononucleate dette mioblasti. Delimitate dalla membrana cellulare, il sarcolemma, e rivestite da uno strato di collagene, l'endomisio, le fibre muscolari hanno forma cilindrica e diametro compreso tra i 10 e i 100 µm. Ciascun fascio di fibre è avvolto da un ulteriore strato connettivale, il perimisio, e l'insieme dei fasci che forma il muscolo è infine circondato dallo strato più esterno di tessuto connettivo, denominato epimisio. Ciascuna fibra muscolare è costituita da miofibrille, strutture cilindriche di 1 µm di diametro, che a loro volta comprendono l'unità anatomico-funzionale che costituisce i muscoli scheletrici e che prende il nome di sarcomero. Disposti in serie all'interno delle singole miofibrille e costituiti da bande alternate che scorrono le une sulle altre, i sarcomeri sono responsabili della caratteristica contrattile dei muscoli stessi. All'interno del sarcomero, delimitato dai dischi o linee Z, si distinguono infatti bande chiare (bande I), poste alle estremità e divise a metà dalle linee Z, e bande scure (banda A), al centro della struttura e divise a metà da una zona più chiara detta zona Z a sua volta divisa in due dalla linea M. Disposti in modo ordinato nella struttura si trovano inoltre filamenti contrattili sottili di actina (nelle bande chiare) ed altri, più spessi, di miosina (nelle bande scure).



Figura 4. Struttura gerarchica muscolo scheletrico

Il meccanismo di contrazione è determinato dallo scorrimento dei filamenti sottili di actina su quelli più spessi di miosina. In questo modo, la banda I e di conseguenza l'intero sarcomero si accorciano.



Figura 5. Meccanismo di contrazione muscolare

2.3.2 Tipologie di contrazione muscolare

Durante una contrazione, il muscolo esercita una forza che dipende dal grado di attivazione delle fibre muscolari e dai vincoli a cui il muscolo è soggetto. Sulla base di questi ultimi si distinguono due tipi di contrazione:

- Contrazione *isometrica*: la tensione e l'energia variano mentre la lunghezza del muscolo rimane costante. In questa situazione, che si verifica generalmente quando si cerca di contrastare un carico immobile, non vi è alcun movimento dell'articolazione;
- Contrazione *isotonica*: contrariamente a prima, la tensione rimane costante mentre il muscolo varia la propria lunghezza e permette il movimento del giunto articolare. Tale condizione si manifesta nel caso in cui il carico da vincere è costante. Essa può essere a sua volta:
 - Concentrica: prevede l'accorciamento delle fibre muscolari nel tentativo di vincere il carico a cui il muscolo è sottoposto;
 - *Eccentrica*: il muscolo, che non è in grado di contrastare il carico con una forza maggiore e opposta, si allunga.

2.4 Il segnale elettromiografico

2.4.1 Elettromiografia

«L'elettromiografia è una musa seducente poiché fornisce facile accesso ai processi fisiologici che fanno sì che il muscolo generi forza, produca movimento e realizzi le innumerevoli funzioni che ci permettono di interagire con il mondo che ci circonda. Lo stato attuale dell'elettromiografia di superficie è enigmatico. Fornisce molteplici applicazioni importanti ed utili, ma ha altrettante limitazioni che devono essere comprese, considerate e infine rimosse in modo che la disciplina abbia maggiori basi scientifiche e sia meno dipendente all'arte del suo utilizzo. A suo discapito, l'elettromiografia è troppo facile da usare e di conseguenza troppo facile da abusare.»

C. J. De Luca, 1993 [33]

Nonostante già alla fine del 1600 nacque l'idea di una relazione tra la contrazione muscolare e il sistema nervoso centrale (SNC), è solo nel 1849 che si registrò il primo segnale elettromiografico grazie all'intuizione di Emil DuBois-Reymond, il quale per primo associò la contrazione muscolare e la produzione di forza a segnali elettrici generati dai muscoli stessi.

L'elettromiografia, o EMG, è una tecnica neurofisiologica diagnostica e funzionale che permette di registrare il segnale mioelettrico, cioè il biopotenziale che rappresenta l'attività di un muscolo durante una contrazione. La strumentazione per mezzo della quale è possibile indagare l'attività muscolare è molto varia e sulla base di questa si distinguono due tecniche elettromiografiche: l'elettromiografia *di superficie* (sEMG), che preleva il segnale mioelettrico mediante elettrodi posizionati sulla cute in corrispondenza del muscolo d'interesse, e l'elettromiografia "*ad ago*" o elettroneurografia (ENG), più invasiva, che invece utilizza aghi inseriti sottocute a diretto contatto con il muscolo di cui si vuole registrare l'attività.

2.4.2 Applicazioni

Dal punto di vista medico diagnostico, l'analisi elettromiografica è spesso utilizzata per diagnosticare patologie a carico del sistema nervoso periferico (SNP) e di quello muscolare. Tuttavia, la sua utilità non si limita a questo. Dalla seconda metà del secolo scorso, infatti, la ricerca ha manifestato un enorme interesse nello studio dei segnali mioelettrici e i risultati ottenuti hanno reso l'elettromiografia di enorme supporto alle terapie in ambito fisioterapico e riabilitativo, nonché in campo sportivo per l'analisi biomeccanica o del movimento e lo studio dei gesti atletici.

2.4.3 Genesi, acquisizione e morfologia del segnale elettromiografico

Quando il soggetto intende eseguire un movimento, il SNC invia uno stimolo verso la periferia che arriva alle fibre muscolari in corrispondenza della giunzione neuromuscolare e che si propaga in due direzioni opposte lungo il motoneurone, attivando progressivamente tutte le fibre muscolari dell'unità motoria (UM). Pertanto, il segnale elettromiografico rappresenta il campo generato dalla depolarizzazione del sarcolemma, la membrana connettivale che avvolge le fibre muscolari, che si verifica successivamente alla ricezione di impulsi efferenti. Per acquisire tale segnale è quindi sufficiente posizionare un elettrodo in prossimità di tale campo: il segnale risultante, che acquisito nel tempo prende il nome di *potenziale d'azione*, è la somma dei singoli potenziali prodotti a seguito dalle depolarizzazioni di membrana delle fibre muscolari di una UM ed è denominato MUAP (Motor Unit Action Potential). Un treno di MUAP appartenenti alla stessa unità motoria è detta MUAPT. Nella zona di rilevazione degli elettrodi ci sono i contributi di altre UM; quindi, ciò che viene rilevato è una serie di MUAPs.

Per quanto riguarda il sEMG, diversi sono i fattori che influenzano la morfologia del segnale EMG. Tra questi, ad esempio, si annoverano lo spessore dello strato sottocutaneo, la distanza della sorgente (muscolo) rispetto agli elettrodi di prelievo, le loro dimensioni e inclinazione rispetto alla direzione principale delle fibre muscolari, la distanza interelettrodica e il crosstalk tra muscoli adiacenti. L'ampiezza del segnale risultante dipende inoltre dal numero di UM reclutate e dalla loro frequenza di sparo.

2.5 L'elettrostimolazione

Fin dagli ultimi anni del XIX secolo la stimolazione elettrica, ovvero la modulazione dell'attività elettrica del sistema nervoso, veniva sfruttata come forma di terapia al dolore. Ad oggi, l'invio di stimoli elettrici viene utilizzato con lo scopo di eseguire diagnosi o valutazioni attraverso lo studio della risposta dei tessuti stimolati oppure, in ambito riabilitativo, per permettere nuovamente l'esecuzione di una funzione precedentemente compromessa da patologie e/o traumi o trattare stati patologici.

L'elettrostimolazione muscolare prevede che vengano stimolati tessuti nervosi tramite l'invio di corrente elettrica prodotta da un generatore che ne induce la depolarizzazione in maniera diretta, bypassando cioè il SNC. Per farlo vengono posizionati due elettrodi, un catodo, da cui la corrente elettrica inizia a propagarsi, e un anodo, in corrispondenza del quale si chiude il circuito in cui la corrente scorre. La risposta muscolare a tale stimolo dipende da molteplici fattori, tra cui durata, intensità e frequenza dell'impulso inviato, dimensioni degli elettrodi di stimolazione ed infine dalla distanza interelettrodica.

2.5.1 Elettrodi di stimolazione

Gli elettrodi di stimolazione rappresentano l'interfaccia tra lo stimolatore, a cui sono collegati tramite connettori e da cui vengono generati gli stimoli, e il soggetto, che riceve gli stimoli generati, ed hanno il compito di introdurre la corrente elettrica, attraverso la cute su cui poggiano, nel muscolo d'interesse. Per la stimolazione possono essere impiegati molteplici tipi di elettrodi, che differiscono tra loro per materiale, forma, dimensioni e tipologia di interfaccia con la cute (mediata o meno da gel conduttivo). Elettrodi diversi possono avere un impiego differente (vedi Figura 1 con riferimento al paragrafo 2.3.2).



Figura 6. Elettrodi di stimolazione. A) elettrodi con gel di medie dimensioni per NMES; B) elettrodi con bottoni di grandi dimensioni per NMES bipolare o come elettrodi di ritorno in configurazione monopolare;

I due elettrodi di stimolazione possono essere posizionati in una duplice configurazione: la prima, più selettiva e definita monopolare, prevede il posizionamento dell'elettrodo attivo, il catodo, sul ventre muscolare mentre quello di ritorno, l'anodo, di dimensioni maggiori, viene posto in posizione opposta e quindi in corrispondenza del muscolo antagonista (Figura 7A); la seconda, bipolare, permette di stimolare una porzione più estesa del muscolo in quanto entrambi gli elettrodi, di uguali dimensioni, sono posizionati sul muscolo d'interesse (Figura 7B).



Figura 7. Configurazione monopolare (A) e bipolare (B) degli elettrodi di stimolazione

2.5.2 Tecniche di stimolazione

La stimolazione elettrica si suddivide in stimolazione elettrica neuromuscolare (NMES) e stimolazione elettrica del nervo. Utilizzata per lo più in ambito riabilitativo e assistivo e come trattamento al dolore, la NEMS permette di stimolare il muscolo d'interesse in maniera diretta. In questo caso la corrente invade il muscolo solamente in una porzione limitata di quest'ultimo, mentre, al contrario, attraverso la stimolazione del nervo, sfruttata per lo più per indagini cliniche, posizionato il catodo sul decorso del nervo a monte del muscolo e l'anodo in corrispondenza del muscolo antagonista, è più probabile che la corrente scorra lungo tutte le fibre muscolari e quindi venga registrata l'attività dell'intero muscolo d'interesse. Sia che la stimolazione avvenga in configurazione monopolare sul ventre del muscolo sia nel caso in cui ad essere stimolato è il nervo, è importante posizionare il catodo in corrispondenza del punto motore, ovvero la regione sulla cute in corrispondenza della quale, a parità di corrente inviata, si registra la massima risposta muscolare a seguito di uno stimolo elettrico.

2.5.3 Contrazioni volontarie vs contrazioni elettricamente indotte

Nel muscolo, gli impulsi inviati dal SNC o dallo stimolatore arrivano alle fibre attraverso i motoneuroni che le innervano. Tuttavia, mentre ciascuna fibra è attivata da un singolo motoneurone, quest'ultimo innerva migliaia di fibre muscolari. Durante una contrazione volontaria, si ritiene che le UM in ciascuna fibra muscolare vengano reclutate secondo il principio di Henneman, secondo il quale le prime ad essere arruolate sono le fibre di tipo I, più piccole e meno affaticabili, e solo in un secondo momento, a seconda della forza richiesta dal soggetto, quelle di tipo II (IIa e IIb), più grandi ed affaticabili. Mediante stimolazione elettrica però il reclutamento avviene in maniera differente. Stimolando il nervo l'ordine di reclutamento delle UM è, infatti, inverso rispetto a quello descritto da Henneman: prima le UM delle fibre di tipo II e poi quelle appartenenti alle fibre di tipo I. Diversamente, nel caso di NMES, in entrambe le configurazioni, l'ordine con cui vengono attivati gli assoni e le UM da essi innervati è di tipo geometrico: quelli più prossimi all'elettrodo di stimolazione o nel percorso delle linee di corrente vengono attivati prima di quelli distanti.

2.5.4 Onda M e riflesso H

Il segnale muscolare indotto da uno stimolo elettrico può essere registrato mediante da un sistema di prelievo del segnale EMG di superficie. Ciò che si osserva sul tracciato dopo un certo periodo di latenza successivo all'impulso inviato prende il nome di onda M (Figura 8).



Figura 8. Onda M di risposta ad uno stimolo elettrico

Oltre a questa, qualora lo stimolo inviato sia di breve durata e bassa intensità sul tracciato del segnale sEMG è possibile osservare un'onda morfologicamente simile a quella dell'onda M, definita riflesso H, la cui ampiezza però, al contrario di quanto avviene per l'onda M, diminuisce all'aumentare dell'intensità della stimolazione. Noto anche come riflesso di

Hoffmann, il riflesso H rappresenta la reazione riflessa dei muscoli alla stimolazione delle fibre sensoriali.

Quando si stimola tramite una coppia di elettrodi di superficie il decorso nervoso di un muscolo iniettando una corrente a bassa intensità e di breve durata, vengono innescati dei potenziali d'azione negli assoni delle fibre muscolari afferenti di tipo Ia, cioè quelle di dimensioni maggiori (Figura 9, risposta 2). A quel punto, i potenziali d'azione evocati iniziano a propagarsi lungo il midollo spinale, dove danno origine a potenziali postsinaptici, che a loro volta generano potenziali d'azione che viaggiano verso il muscolo lungo gli assoni dei motoneuroni α (Figura 9, risposta 3).



Figura 9. Generazione onda M e onda riflessa H (immagine ripubblicata da Aagaard et al., 2012 [35])

Dopo una latenza pari a circa 30-40ms, le efferenze vengono registrate come risposta riflessa o riflesso H (Figura 8A). Aumentando l'intensità della corrente di stimolazione, si generano potenziali d'azione che arrivano anche agli assoni più sottili dei motoneuroni α (Figura 9, risposta 1), viaggiando fino al muscolo come risposta M o onda M (Figura 10B).

contemporaneamente i potenziali d'azione propagano in direzione antidromica, cioè opposta a quella che ci si aspetta, lungo gli assoni dei motoneuroni α verso il midollo spinale (Figura 9, risposta 1*), andando a collidere con quelli evocati della risposta riflessa (Figura 9, risposta 3). Da tale collisione ne risulta una parziale riduzione dell'ampiezza dell'onda riflessa evocata. Di conseguenza l'ampiezza dell'onda M pare crescere al crescere dell'intensità di stimolazione, mentre contemporaneamente, al contrario, l'onda riflessa H diminuisce gradualmente in ampiezza a causa delle collisioni antidromiche (Figura 10C).



Figura 10. Dipendenza dall'intensità della corrente di stimolazione delle onde M e H (immagine ripubblicata da Aagaard et al., 2012 [35])

Ad una determinata intensità di corrente, un'elevata risposta riflessa H indica un aumento dell'eccitabilità dei motoneuroni α e/o una diminuzione dell'inibizione presinaptica. Inviando uno stimolo sopramassimale ad elevata intensità, si propagano potenziali d'azione ortodromici e antidromici in tutti gli assoni motoneuronali, generando un'onda M di ampiezza massima e la scomparsa sul tracciato del riflesso H dovuta alle collisioni antidromiche che si verificano in tutti gli assoni (Figura 8D).

2.5.5 Onde V

Se in combinazione alla stimolazione elettrica sopramassimale viene esercitata una contrazione muscolare volontaria massimale, gli impulsi motori efferenti generati dall'attivazione dei motoneuroni lungo la via centrale discendente (Figura 11, percorso $4\rightarrow 3$) collideranno con i potenziali d'azione antidromici (Figura 11, risposta 1*). Questo permetterà che parte della risposta riflessa evocata passi nel muscolo (Figura 11, percorso $2\rightarrow 3$), che verrà registrata dal sistema di prelievo sotto forma di onda V (Figura 12), presente durante contrazioni volontarie



Figura 11. Generazione onda V (immagine ripubblicata da Aagaard et al., 2012 [35])
e assente in condizioni di riposo. In caso di un aumento dell'attività dei motoneuroni, ad esempio perché viene reclutato un numero maggiore di UM o perché ne aumenta la frequenza di sparo, la raffica di potenziali d'azione antidromici verrà elisa sempre di più a causa dell'aumento del numero di collisioni con gli impulsi volitivi lungo gli assoni dei motoneuroni α .



Figura 12. Onda M e onda V in stimolazioni elettriche combinate a contrazioni volontarie (immagine ripubblicata da Aagaard et al., 2012 [35])

2.5.6 Artefatto da stimolazione

L'analisi dell'onda M non è sempre semplice. Spesso, infatti, il segnale di risposta all'impulso è affetto da un artefatto, ovvero un segnale indesiderato che si sovrappone a quello di interesse, morfologicamente definito da un picco seguito da un decadimento esponenziale la cui ampiezza e costante di tempo dipendono dall'intensità e dalla forma dello stimolo, dallo stadio di uscita dello stimolatore, dal tipo di elettrodi di prelievo e dalle proprietà dello stadio di entrata dell'amplificatore del segnale [34]. Poiché l'artefatto da stimolazione costituisce una componente in frequenza del segnale elettromiografico di prelievo, esso ne influenza le caratteristiche temporali e spettrali. Pertanto, in sua presenza l'analisi del segnale prelevato può essere problematica.

3. Strumentazione

3.1 Setup sperimentale

Per verificare l'ipotesi di possibili effetti centrali e/o periferici dovuti allo svolgimento di una seduta di stretching è stata impiegata un'ampia strumentazione messa a disposizione dal laboratorio di Ingegneria del Sistema Neuromuscolare e della Riabilitazione Motoria (LISiN) del dipartimento di Elettronica e Telecomunicazioni (DET) del Politecnico di Torino. I metodi implementati sono stati studiati con riferimento al lavoro di Trajano et al. del Centre for Exercise and Sports Science Research, School of Exercise and Health Sciences, Edith Cowan University, Australia [21].

La strumentazione utilizzata comprende:

- un dinamometro isocinetico;
- uno stimolatore elettrico manuale;
- un sistema di acquisizione da banco del segnale sEMG ad alta densità.

Per ciascun dispositivo impiegato viene riportata di seguito una breve descrizione.

3.2 Dinamometro isocinetico

Il dispositivo principale impiegato nello studio è il Biodex System 4 PRO, un dinamometro isocinetico computerizzato multiarticolare prodotto dalla Biodex Medical Systems, NY, USA, spesso utilizzato nella medicina dello sport e in ambito neuroriabilitativo. L'apparecchio è costituito da un dinamometro, una poltrona di posizionamento, ciascuno dei quali può essere spostato lungo la propria corsa per mezzo di specifici pedali, ed infine un carrello dotato di computer e stampante.



Figura 13. Dinamometro isocinetico Biodex System 4 PRO

Provvisto di numerosi accessori per le articolazioni di spalla, gomito, polso, anca, ginocchio e caviglia, il dinamometro isocinetico può essere adoperato in molteplici modalità in funzione dell'obiettivo del suo impiego. Se si imposta la modalità isocinetica, il dinamometro agisce per controllare la velocità, permettendo al soggetto di accelerare fino e non oltre il valore di velocità massima selezionato per ogni direzione di rotazione dell'albero; nel caso in cui fosse necessario mantenere ferma l'articolazione, è possibile lavorare in modalità isometrica che permette al dinamometro di mantenere nulla la velocità. Il dispositivo può essere inoltre sfruttato in configurazione isotonica, con la quale si chiede al soggetto di vincere il carico precedentemente impostato sul dispositivo. Infine, la modalità passiva consente all'articolazione di muoversi a velocità costante cambiando direzione solamente una volta raggiunta il fine corsa del ROM.

Quest'ultima modalità verrà utilizzata nel presente studio nel corso dello svolgimento degli esercizi di allungamento muscolare.

L'utilizzo del Biodex System 4 PRO è gestito dal software "Advantage BXTM" installato sul computer in dotazione che permette la gestione dei pazienti e dei protocolli utilizzabili, oltre che la scelta della modalità di utilizzo del dispositivo, tramite i controlli "Patient Management" e "Protocol Management" presenti nella sezione "Utilities". Attraverso un connettore DB15 collegato alla porta "Accesso Remoto" del pannello posteriore del carrello è possibile acquisire i segnali analogici di coppia, velocità e posizione angolare in uscita dal dispositivo, per i quali è necessario selezionare la sensibilità per ciascuno dei soggetti di cui si intende acquisire tali informazioni, stando attenti a trovare un compromesso tra sensibilità del dispositivo e saturazione dei segnali in uscita dallo stesso (devono rientrare nel range -5V/+5V, che rappresenta la dinamica dei segnali in uscita dal dispositivo). Questo è possibile nella sezione "Application Settings" del software.

3.3 Stimolatore elettrico

Per il protocollo di stimolazione è stato utilizzato il Digitimer DS7AH, uno stimolatore in corrente prodotto da Digitimer Limited in UK. Pensato per il monitoraggio e la valutazione neurologica in ambiente clinico, lo stimolatore fornisce impulsi di corrente costante ad alta tensione e di breve durata per la stimolazione elettrica di superficie durante l'indagine dell'attività elettrica del tessuto nervoso e muscolare. Il dispositivo è montato all'interno di un contenitore non conduttivo, ignifugo, indipendente ed è alimentato dalla rete.



Figura 14. Pannello anteriore Digitimer DSA7H



Figura 15. Pannello posteriore Digitimer DSA7H

Per poter utilizzare il dispositivo è innanzitutto necessario collegarlo ad una presa della corrente e accenderlo premendo il pulsante "Power" nell'angolo in basso a sinistra del pannello frontale (Figura 14). Una volta collegati i due elettrodi di stimolazione alle prese di uscita del DSA7H (Figura 14, angolo inferiore destro) e assicurati sulla cute del paziente nella posizione desiderata, è possibile iniziare la stimolazione. L'invio dell'impulso è permesso solo nel caso in cui lo stimolatore sia armato: è quindi necessario spostare verso l'alto l'interruttore di abilitazione dell'uscita (Figura 14, angolo superiore destro); mentre, al contrario, sarà sufficiente riportare l'interruttore verso il basso per disattivarlo. La forza dello stimolo da fornire al paziente dipende da tre parametri, quali la durata dello stimolo, l'intensità e la tensione massima, che possono essere selezionati rispettivamente dai controlli "Pulse Duration", "Current max." posizionando l'interruttore su "x1" oppure "x10" e infine "Vmax". sul pannello anteriore (Figura 14). Inoltre, anche la frequenza con cui l'unità viene attivata determinerà la forza dello stimolo inviato al paziente. La corrente in uscita al dispositivo può essere impostata a partire da 0 fino ad un massimo di 1A (100mA in modalità x1 e 1000mA in modalità x10), impostando una tensione sorgente compresa tra 100V e 400V. Sul pannello frontale è presente un indicatore LED che si accende qualora la corrente selezionata non sia stata fornita per tutta o solo per parte della durata dell'impulso impostata. Questo può verificarsi quando la tensione selezionata è troppo bassa per l'impedenza del circuito degli elettrodi del paziente, per un errore del contatto elettrodo cute oppure quando il contatto presenta alta impedenza con il soggetto. La durata degli impulsi iniettati può essere variata da 50 µs a 2ms. Per ridurre il disagio del paziente, il modello DS7AH viene utilizzato soprattutto per svolgere indagini con brevi durate di impulso dello stimolo mediante elettrodi adesivi di grande superficie. Uno stadio di uscita isolato appositamente progettato permette di mantenere una forma quadrata dell'impulso di corrente e minimizzare gli artefatti dello stimolo [35]. Lo stimolatore può essere impostato in modo da registrare un impulso elettrico di trigger quando viene rilevato un fronte positivo di un segnale elettrico esterno applicato in ingresso ("trigger in", Figura 16, in alto) compreso tra +5V e +15V TTL in ampiezza e di almeno 5µs di durata oppure uno negativo da una tensione positiva maggiore di +3V a 0V. In alternativa, può anche essere utilizzato in modo che produca un impulso di trigger positivo di tipo TTL di 1ms sincrono con l'inizio di ogni impulso di stimolazione impostato in fabbrica per essere settato a +5V ("trigger out", Figura 16, in mezzo). In fase di utilizzo l'operatore può scegliere l'una o l'altra modalità collegando il cavo BNC in dotazione all'apposita presa nel pannello posteriore (Figura 15). Per il presente studio è stato scelto di impostare lo stimolatore in modalità "trigger out" in modo da poter sincronizzare gli impulsi di stimolazione ai segnali sEMG che verranno acquisiti durante le prove [35].



Figura 16. Polarità dell'impulso di trigger [35]

3.4 Sistema di prelievo del segnale sEMG ad alta densità

Per l'acquisizione dei segnali elettromiografici generati durante contrazioni volontarie o elettricamente stimolate è necessario utilizzare di un sistema di acquisizione sEMG che dovrà essere collegato tramite un cavo di trigger al DS7AH. Per questo studio è stato scelto un sistema modulare per la detezione di segnali sEMG ad alta densità. In particolare, è stato adoperato l'elettromiografo EMG-USB, un amplificatore da banco progettato da OT Bioelettronica, Torino, Italia, per la ricerca clinica per l'elettromiografia di superficie che consente la raccolta dei segnali mioelettrici in modalità monopolare o singolo differenziale attraverso schiere o matrici di elettrodi superficiali applicati sulla cute del soggetto. In questo modo i segnali vengono registrati in maniera non invasiva, digitalizzati ed infine trasferiti ad un pc tramite un'interfaccia USB per consentirne la visualizzazione ed il salvataggio. Nel dispositivo è inoltre presente un circuito necessario a sopprimete la componente di modo comune della tensione, utile soprattutto per il prelievo in modalità monopolare. In fase di acquisizione, è possibile selezionare il guadagno desiderato che, nel caso il prelievo venga eseguito contemporaneamente mediante più schiere o matrici e/o su più muscoli, può assumere un valore diverso per ciascuno in modo da ottimizzare la qualità del segnale registrato. I valori selezionabili di guadagno sono: 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000. Le impostazioni dell'elettromiografo possono essere modificate tramite il tastierino al di sotto del display a cristalli liquidi (Figura 17). I dati sEMG acquisiti vengono filtrati in banda passante compresa tra 10 e 750 Hz e digitalizzati a 2048Hz con un convertitore A/D a 12 bit e dinamica di ingresso compresa tra 0 e 5V [36].



Figura 17. Pannello anteriore amplificatore EMG USB



Figura 18. Pannello posteriore amplificatore EMG USB

Oltre a posizionare la matrice di elettrodi sul muscolo di interesse, per acquisire i segnali sEMG è necessario collegare il riferimento paziente tramite una fascetta fissata al soggetto in un punto in cui non ci si aspettano segnali elettrici, come la caviglia o il polso. Il collegamento viene effettuato all'ingresso PATIENT_REF sul pannello frontale del dispositivo (Figura 17). In modalità monopolare serve collegare una seconda fascetta, comunemente posizionata a lato della prima, all'ingresso DRL_IN che è comune all'elettrodo di massa e rappresenta il primo elemento del circuito di riduzione delle interferenze. Per evitare di creare interferenze e quindi di dover ripetere l'acquisizione, è indispensabile che le due fascette applicate non siano in contatto tra loro. Entrambe le fascette devono essere inumidite prima di essere posizionate nel punto elettricamente non attivo così da garantire un buon contatto elettrodo-cute. Infine, nel caso in cui il segnale sia fortemente disturbato da interferenze esterne, tra le due fascette già presenti se ne posiziona una terza, anch'essa precedentemente inumidita, e la si connette alla boccola DRL_OUT, che collega l'uscita del circuito di riduzione delle interferenze facuisi del circuito di riduzione delle circuito di riduzione delle interferenze esterne, tra le due fascette già presenti acquisizione dei dati è necessario cortocircuitare gli ingressi DRL_IN e DRL_OUT, collegandoli tra loro.

Per essere utilizzato, il dispositivo deve innanzitutto essere connesso tramite il cavo di alimentazione ad una presa di corrente e infine acceso spostando l'interruttore di alimentazione da O a I presente sul pannello posteriore del dispositivo (Figura 18). Il pc su cui trasferire i dati deve essere collegato al connettore USB mediante un comune cavo USB tipo A-B. L'elettromiografo EMG-USB presenta otto connettori ausiliari di tipo BNC per l'acquisizione di segnali esterni campionati a 2048Hz e convertiti in digitale con risoluzione a 12 bit. È inoltre possibile collegare il dispositivo ad uno stimolatore elettrico compatibile attraverso il connettore BNC "trigger input", che accetta in ingresso un segnale digitale di tipo TLL ($0\div5V$), per acquisire segnali sEMG durante contrazioni elettricamente indotte [36].

Per visualizzare i segnali in uscita ai dispositivi utilizzati e salvarli su pc si utilizza il software OT BioLab+ progettato, sviluppato e testato dall'azienda OT Bioelettronica.



Figura 19. Software OT BioLab+

4. Protocollo sperimentale

4.1 Partecipanti

Sono stati reclutati 12 soggetti, 6 maschi e 6 femmine di età compresa tra i 22 e i 41 anni (altezza compresa tra 1.55 m e 1.87; massa corporea compresa tra 50 kg e 104 kg) che hanno aderito volontariamente al progetto. Ciascun soggetto è stato dettagliatamente informato sulle specifiche del protocollo sperimentale ed ha firmato un consenso informato. Il solo criterio di inclusione adottato prevedeva che i soggetti non avessero subito lesioni muscoloscheletriche all'arto inferiore dominante nel corso dei sei mesi precedenti lo studio.

4.2 Muscolo target

In letteratura è stato riportato che lo svolgimento di una sessione di stretching influisce maggiormente sui flessori del ginocchio rispetto ad altri muscoli degli arti inferiori [17]. Pertanto, è stato deciso di concentrare l'analisi e valutare l'effetto della durata dello stretching sul muscolo gastrocnemio mediale (GM), flessore di caviglia e di ginocchio, in quanto:

- è spesso bersaglio delle sessioni di stretching eseguite dagli atleti ed è ampiamente esplorato negli studi riguardanti lo stretching [38] [31] [27] [39] [40] [41] [32] [42] [7] [43] [2] [13] [44];
- la sua eccitazione può distribuirsi in modo eterogeneo all'interno del muscolo, come riscontrato sia durante entrambe contrazioni volontarie [45] [46] [47] [48] [49] [50] sia contrazioni elicitate elettricamente [51].

4.3 Familiarizzazione

Ciascun soggetto si è recato in laboratorio in due occasioni. Una prima visita serviva per prendere confidenza con l'ambiente sperimentale e la strumentazione utilizzata ed eseguire il protocollo di controllo. Lo scopo della prima fase di familiarizzazione era inoltre quello di acquisire i seguenti dati, specifici per ciascun soggetto. In particolare:

- Segnali sEMG in risposta a stimolazioni elettriche ad intensità crescente, prelevati con lo scopo di individuare l'intensità dello stimolo che verrà inviato durante la seconda fase del protocollo (paragrafi 4.3.2, 4.3.3 e 4.3.4);
- Massima coppia passiva tollerabile durante l'allungamento muscolare da imporre sul dinamometro isocinetico nel corso dello stretching [22] (paragrafo 4.3.5). Essa è stata individuata impostando una velocità di allontanamento rispetto alla posizione neutra della caviglia, specifica per ciascun soggetto, pari a 0,5°/s: una volta iniziato l'allungamento, il soggetto era chiamato ad interrompere la prova nel momento in cui percepiva di essere giunto al limite sopportabile. Interrotta la prova è stata presa nota il valore di massima coppia di allontanamento raggiunta;
- Coppia MVC massima che il soggetto è in grado di sviluppare, utile per impostare la scala del grafico tempo-coppia mostrata a display durante la seconda giornata di test, quando il soggetto doveva eseguire i due protocolli di stretching.

4.3.1 Ricerca punto motore ed elettrodi di stimolazione

Per poter procedere alla stimolazione elettrica e quindi determinare l'intensità degli stimoli da inviare durante la seconda fase del protocollo sperimentale, prima di ogni altra cosa è stato necessario individuare il punto motore, ovvero la regione della cute che fornisce la massima attivazione del muscolo osservabile in risposta alla minor corrente di stimolazione iniettata. Per farlo è stato innanzitutto posizionato, nella zona anteriore della coscia in posizione prossimale rispetto alla patella, un elettrodo di grandi dimensioni (anodo: elettrodo a bottone non adesivo per la stimolazione elettrica, dimensioni: 13x9cm). Una volta assicurato quest'ultimo sul segmento coscia mediante una fascia elastica, il soggetto si è voltato prono sul lettino del laboratorio. Un elettrodo a penna (Figura 20) è stato quindi utilizzato per la ricerca del punto motore, che si è concentrata sul decorso del nervo tibiale posteriore, in prossimità della fossa poplitea. Entrambi gli elettrodi sono stati collegati tramite connettori al Digitimer DSA7H.



Figura 20. Elettrodo a penna per la ricerca del punto motore

Nel corso della prova, singoli impulsi della durata di 200µs e di intensità compresa tra i 10 e i 20mA sono stati inviati al muscolo; contemporaneamente il catodo (elettrodo a penna) veniva spostato sulla cute del soggetto alla ricerca della massima risposta del muscolo: per eseguire una simile valutazione è stato considerato il movimento di planta-flessione della caviglia e la contrazione visibile del muscolo. Una volta individuato il punto motore, esso è stato contrassegnato superficialmente con una X, in corrispondenza della quale è stato

successivamente posizionato l'elettrodo adesivo per la stimolazione (catodo: elettrodo circolare, monouso, a bottone, autoadesivo con gel conduttivo per la stimolazione elettrica, 24x24mm).

4.3.2 Protocollo di stimolazione

Assicurati entrambi gli elettrodi di stimolazione e collegato altresì il catodo allo stimolatore Digitimer, la procedura di individuazione della corrente di stimolazione da iniettare nella seconda fase del protocollo (si veda paragrafo 4.4) poteva avere inizio. Innanzitutto, è stato chiesto al soggetto di trasferirsi sulla poltrona del Biodex System 4 PRO, sulla quale l'arto inferiore di interesse è stato posizionato in modo che la caviglia fosse in posizione neutra, il malleolo laterale fosse allineato al centro di rotazione del dinamometro ed il ginocchio fosse completamente esteso (0°), così da valutare meglio la coppia di planta-flessione [52], minimizzare il rischio di crampi muscolari durante la stimolazione e permettere ai muscoli di allungarsi il più possibile in planta-flessione [22].

Il protocollo di stimolazione in questa fase dello studio prevedeva l'invio di una serie di coppie di impulsi distanziati tra loro (durata singolo stimolo: 200 μ s) e di intensità crescente a partire da 10mA fino alla massima tollerata dall'individuo, con incremento di 10mA ad ogni coppia di stimoli inviati.

4.3.3 Prelievo segnali elettromiografici

Durante la stimolazione elettrica, i segnali sEMG sono stati registrati in configurazione monopolare tramite una schiera di 16 elettrodi in AgCl, posizionata in modo che la porzione più prossimale fosse a distanza di ~2cm dalla zona centrale della fossa poplitea in direzione distale e a ~2cm in direzione mediale rispetto alla linea di separazione dei capi mediale e laterale del muscolo gastrocnemio [46], visibile a muscolo contratto (planta-flessione della caviglia). La schiera è stata inoltre allineata all'asse longitudinale del muscolo GM (figura 2). Per ridurre

l'impedenza nell'interfaccia elettrodo-cute, un foam biadesivo forato è stato applicato sulla schiera, prima che questa venisse posizionata sulla cute, facendo attenzione che tutti gli elettrodi della schiera risultassero ben visibili in corrispondenza dei fori; questi ultimi sono stati successivamente riempiti con una pasta conduttiva (Ten20, WEAVER) al fine di migliorare il contatto elettrodo-cute. Gli elettrodi di riferimento (2 fascette e un elettrodo con gel conduttivo autoadesivo) sono stati sistemati in corrispondenza della caviglia. È stato scelto di impiegare una schiera di elettrodi per l'acquisizione di segnali sEMG ad alta densità in alternativa al prelievo bipolare al fine di ottenere una stima più accurata dei cambiamenti elettrofisiologici che possono manifestarsi a seguito dello stretching: in questo modo è possibile rendere conto di eventuali differenze spaziali nell'EMG e nell'ampiezza delle onde M. In preparazione al posizionamento degli elettrodi per il prelievo dei segnali, la cute è stata precedentemente trattata con una pasta abrasiva (Nuprep, WEAVER) e inumidita con dell'acqua, tamponando con un pezzo di scottex bagnato: queste operazioni sono servite per ottimizzare ulteriormente l'interfaccia tra gli elettrodi e la cute e dunque migliorare la qualità dei segnali da acquisire.



Figura 21. Posizionamento schiera di elettrodi di prelievo del segnale sEMG

I segnali sEMG registrati sono stati amplificati tramite l'amplificatore EMG USB con guadagno 200V/V e poi digitalizzati a 2048 campioni/s con un convertitore A/D a 12 bit. Lo stesso sistema è stato utilizzato per acquisire i segnali ausiliari: gli impulsi rettangolari (0-5V) emessi in concomitanza con quelli di stimolazione dal Digitimer ed i segnali di coppia e posizione in uscita dal Biodex System 4 PRO. L'impulso di trigger esterno comune registrato con entrambi i sistemi è stato utilizzato per la sincronizzazione offline di tutti i segnali raccolti.

4.3.4 Determinazione della corrente di stimolazione

I segnali registrati in fase di familiarizzazione sono stati acquisiti con lo scopo di determinare l'intensità della corrente di stimolazione da iniettare ai partecipanti durante lo svolgimento dei protocolli di stretching e controllo. Per avere maggior sicurezza che tutte le unità motorie del GM venissero reclutate tramite stimolazione elettrica, il valore ricercato è stato considerato pari al 120% dell'intensità di corrente oltre cui non era più possibile osservare un aumento significativo dell'ampiezza delle onde M indotte. Al fine di individuare tale valore di corrente, i 16 segnali monopolari raccolti per ciascuna delle intensità di corrente somministrate in fase di familiarizzazione sono stati filtrati nella banda in frequenza tipica del segnale elettromiografico, compresa tra i 20 e i 400 Hz, e visualizzati in Matlab per individuare eventuali canali da interpolare o rimuovere. In particolare, sono stati scartati i segnali acquisiti dagli elettrodi posizionati sulla cute del soggetto in prossimità dell'elettrodo di stimolazione, prelevati cioè distalmente rispetto all'estremità distale dell'aponeurosi superficiale, ben riconoscibile dai tracciati dei segnali sEMG di un muscolo pennato in profondità come il GM in quanto rappresentata da un ritardo tra i segnali dovuto alla propagazione lungo le fibre muscolari ed un'inversione della polarità. I segnali sono stati successivamente processati in modo da eliminare la porzione di segnale contenente l'artefatto da stimolazione e considerare invece solamente quella contenente le onde M di risposta agli stimoli ricevuti. Il periodo di latenza successivo all'istante di invio del segnale di trigger, periodo in cui è stato supposto esserci l'artefatto da stimolazione, è stato valutato in maniera differente per ciascun partecipante, in quanto tale periodo di tempo è fortemente influenzata dall'anatomia del soggetto. Per quanto riguarda la porzione di segnale contenente l'onda M, invece, era necessario essere sicuri di esaminare una porzione di segnale sufficientemente lunga da comprendere la risposta all'impulso di stimolazione e per questo sono stati considerati i 30ms successivi al periodo di latenza selezionato. Lungo i diversi canali e per ciascuna intensità di corrente testata, le porzioni di segnale contenenti la prima e la seconda onda M così individuate sono state mediate. Infine, è stato calcolato il differenziale dei segnali ottenuti per valori di intensità di corrente successivi e quindi il valore incrementale, rappresentato come in Figura 22A. Tutte le procedure finora descritte sono state eseguite su segnali singolo differenziali. È stata quindi considerata la distribuzione cumulata degli incrementi trovati normalizzati rispetto al proprio valore massimo ed è stata applicata una soglia pari a 0.95, sopra la quale la variazione dell'ampiezza rappresentata è stata valutata poco significativa (Figura 22B). Infine, sono stati considerati i due valori di ampiezza a cavallo di tale soglia ed è stata calcolata la media dei corrispondenti valori sull'asse delle ascisse (intensità di corrente). Il valore di corrente ricercato (C_{max}) è stato quindi calcolato come il 120% della media appena calcolata. Nei casi in cui non fosse evidente una diminuzione dell'incremento dell'ampiezza delle onde M indotte, l'intensità della stimolazione da impiegare nel corso dei protocolli di stretching e controllo è stata assunta pari alla massima intensità di corrente tollerata dal soggetto stesso [53].

In questo modo, per ciascuno dei partecipanti è stato ottenuto un solo valore di corrente che è stato successivamente impostato come intensità della stimolazione elettrica da applicare nel corso dell'esecuzione dei protocolli di stretching o controllo, durante le prove di forza massimale richieste al soggetto.

A Ampiezze incrementali delle onde M



20 ms

B Ampiezze pp incrementali delle onde M



Figura 22. A) Incrementi ampiezze onde M per intensità di corrente crescenti B) Ampiezze picco-picco incrementali delle onde M

4.3.5 Coppia passiva di flessione plantare

Nel corso della prima giornata di visita in laboratorio era prevista una prova volta all'individuazione della massima coppia passiva di flessione plantare tollerata dal soggetto che sarebbe stata impostata successivamente sul dinamometro isocinetico durante le prove di allungamento muscolare eseguite per i due protocolli di stretching svolti nel giorno della seconda visita al laboratorio. Per determinare tale valore di coppia è stata sfruttata la modalità passiva disponibile sul Biodex System 4 PRO, impostando una velocità di allontanamento rispetto alla posizione neutra della caviglia in direzione di dorsi-flessione pari a 0,5°/s. Una volta iniziato l'allungamento, il soggetto era chiamato ad interrompere la prova mediante apposito pulsante di stop nel momento in cui percepiva di essere giunto al limite sopportabile. Interrotta la prova è stata presa nota il valore di massima coppia di allontanamento e la posizione angolare raggiunti.

4.4 Protocolli di controllo e di stretching

Nel corso della prima giornata di visita al laboratorio, terminata l'analisi dei segnali sEMG acquisiti in risposta alla stimolazione elettrica e determinata l'intensità della corrente di stimolazione ricercata, il soggetto ha eseguito il protocollo di controllo. Questo prevedeva che il soggetto mantenesse la posizione di riposo (ginocchio esteso e caviglia in posizione neutra) per un tempo complessivo pari alla durata della sessione di stretching di maggior durata, ovvero 210s.

Due protocolli di stretching sono stati invece eseguiti in ordine casuale in occasione della seconda giornata di visita al laboratorio.

Sia il protocollo di controllo sia i due protocolli di stretching sono stati applicati specificatamente al muscolo GM dell'arto dominante, in accordo con quanto detto nel paragrafo 4.2, ed eseguiti sul Biodex System 4 PRO con i muscoli inizialmente rilassati, il ginocchio

completamente esteso (0°) e la caviglia in posizione neutra. Poiché lo scopo è quello di confrontare gli effetti di sessioni di allungamento muscolare di durata differente, ciascun protocollo prevedeva 3 ripetizioni da 30s, con 15s di riposo dopo ogni ripetizione in un caso (Figura 22) e 3 ripetizioni da 60s, con 15s di riposo dopo ogni ripetizione nell'altro (Figura 23) [17].



Figura 22. Protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 23. Protocollo di stretching di lunga durata (SS60)

È stato scelto di eseguire non più di tre ripetizioni per evitare di ottenere anche per esercizi di breve durata un volume di stretching troppo elevato, che non rappresenta motivo di interesse

per lo studio in esame. Ripetere 3 volte l'esercizio di stretching permetteva, inoltre, mantenere una certa verosimiglianza con quanto gli atleti sono abituati a svolgere in campo. Per fare in modo che i risultati dello studio potessero avere un ulteriore riscontro pratico, prima di ciascun protocollo di stretching è stato eseguito un riscaldamento della durata complessiva di 5 minuti su una bicicletta ergometrica, sulla quale il soggetto era chiamato a mantenere una potenza costante di circa 60W. Terminato il warm up, il soggetto si è posizionato sul Biodex System 4 PRO, sul quale è stata eseguita la sessione di allungamento muscolare. Lo stretching è stato svolto impostando sul software "Advantage BXTM" una velocità di allontanamento dalla posizione neutra nella direzione di dorsi-flessione pari a 5°/s ed un limite di coppia nella stessa direzione pari al valore trovato nel giorno della prima visita al laboratorio corrispondente al massimo valore di coppia tollerato dal soggetto. Durante lo svolgimento degli esercizi era importante che il muscolo di interesse rimanesse rilassato. È stato quindi prelevato il segnale sEMG al solo scopo di controllare che effettivamente non vi fosse alcuna attivazione durante la durata dell'intera prova a e che quindi il muscolo fosse effettivamente stato stirato passivamente. Per farlo, è stato verificato che il valore RMS del segnale sEMG prelevato durante l'allungamento muscolare fosse inferiore al 5% di quello relativo alla prima prova MVC eseguita (Figura 24). Dalle ricerche bibliografiche condotte è stato assunto che i presunti effetti negativi dello stretching sulla produzione di forza cessino dopo 15 minuti dallo svolgimento della sessione [54]. Per questo motivo e per essere il più conservativi possibile, dopo aver applicato il primo protocollo di stretching, ciascun partecipante ha atteso circa un'ora prima di passare al successivo [4], così da minimizzare ogni potenziale effetto d'interazione tra i protocolli stessi.



Figura 24. Verifica inattività del GM durante lo stretching (figura riferita al protocollo di stretching di lunga durata, SS60)

4.4.1 Test MVC, stimolazione elettrica e prelievo segnali sEMG

Rispetto a ciascun protocollo svolto, immediatamente prima per identificare le condizioni iniziali, immediatamente dopo per valutare gli effetti acuti ed infine 15 minuti dopo per verificarne l'eventuale scomparsa, ogni partecipante ha eseguito due prove di forza massimali, la prima completamente libera e la seconda in combinazione a contrazioni muscolari elettricamente indotte tramite stimolazione neuromuscolare. Questo ha permesso di registrare segnali di coppia ed elettromiografici di superficie che sono stati successivamente analizzati con lo scopo di estrarre i parametri necessari a definire il contributo dei meccanismi centrali e/o periferici dovuti allo stretching. Per la prima prova di forza massimale, è stato chiesto al partecipante di esercitare la massima forza che fosse in grado di generare in condizioni isometriche. Successivamente tale prova è stata ripetuta in combinazione con l'invio di tre

impulsi di stimolazione in corrente ad intensità pari a quella ottenuta dalla precedente analisi per il soggetto in questione. I tre pulsi sono stati inviati 2s prima, durante e 2s dopo la prova MVC. È stato scelto di eseguire due prove MVC per evitare che la stimolazione elettrica influenzasse l'output di forza massimale richiesto al soggetto. Button e Behm hanno infatti dimostrato una diminuzione della forza e dell'attività elettromiografica prima di uno stimolo evocato quando si esegue una contrazione massima volontaria (MVC) [55]. Per questo motivo mentre la forza massima sviluppata dal soggetto è stata calcolata a seguito del primo test MVC, la seconda prova MVC è stata sfruttata in combinazione alla stimolazione del nervo tibiale posteriore per ricavare l'indice di attivazione volontaria tramite la tecnica dell'"Interpolated Twitch" (ITT) e l'ampiezza delle onde V.

Certamente, prima che le prove avessero inizio, sono stati fissati gli elettrodi di stimolazione e la schiera per il prelievo dei segnali sEMG sull'arto inferiore dominante. Per il posizionamento sono stati seguiti i medesimi criteri adottati in fase di familiarizzazione (paragrafo 4.3).

Nel corso di tutte le prove MVC eseguite è stato registrato il segnale sEMG del muscolo GM con lo scopo di ricavare il valore RMS del segnale acquisito durante la prima delle due prove e l'ampiezza delle onde M generate durante la seconda prova eseguita in combinazione alla stimolazione elettrica. La coppia di flessione plantare e gli EMG di superficie misurati prima di applicare il protocollo di controllo o di stretching e immediatamente dopo ogni prova sono stati registrati per garantire che i risultati di coppia ed EMG fossero sensibili all'effetto previsto indotto dal protocollo di stretching. Uno schema riassuntivo del protocollo sperimentale è mostrato in Figura 25.

А

в

Prima visita al laboratorio



Figura 25. Protocollo sperimentale

4.4.2 Estrazione parametri

Innanzitutto, ciascun segnale sEMG è stato valutato visivamente al fine di escludere dall'analisi i canali situati al di sotto dell'aponeurosi superficiale del muscolo e considerare, invece, esclusivamente quelli posti al di sopra, da cui possono essere tratte inferenze differenze regionali nell'eccitazione muscolare [28].

Per confrontare gli effetti della durata di una sessione di stretching e il contributo dei meccanismi centrali e periferici su di essi, diversi sono i parametri che si è scelto di indagare.

Per quanto riguarda l'analisi delle prestazioni di forza volontaria massimale, la coppia massima di flessione plantare ottenuta durante il primo dei due MVC consecutivi è stata calcolata e considerata come la capacità massima di produrre coppia. Considerata la porzione di segnale che superava il 75% della coppia massima di flessione plantare, ne sono state considerate finestre consecutive di 500 ms. Il valore medio di coppia ottenuto per la finestra associata alla più piccola deviazione standard dei dati di coppia è stato poi considerato come la coppia massima di flessione plantare.

In particolare, tra le misure adottate per quantificare cambiamenti del comando *centrale* è stato deciso di includere la normalizzazione del valore RMS del segnale sEMG prelevato nel corso delle prove MVC senza stimolazione rispetto alla massima ampiezza dell'onda M generata a seguito di una contrazione elettricamente indotta in risposta allo stimolo inviato immediatamente dopo, l'indice di attivazione volontaria calcolato implementando l'"Interpolated Twitch Technique" (ITT) [25] [26] e l'ampiezza delle onde V evocate anch'essa normalizzata per l'ampiezza media delle onde M indotte [29].

In primo luogo, è stato quantificato il valore massimo di coppia generato durante la prima delle due prove MVC eseguite prima, immediatamente dopo e dopo 15 minuti i protocolli di stretching e controllo, considerando la finestra di 500ms che presentava variabilità minore per ogni canale considerato del segnale sEMG acquisito. Successivamente, di questa stessa finestra è stato calcolato il valore RMS relativo ai segnali prelevati dai canali considerati del segnale sEMG, che è stato poi normalizzato rispetto alla mediana delle ampiezze picco-picco dell'onda M lungo i canali generate in risposta al pulso di stimolazione sovramassimale inviato prima della seconda prova MVC, quando il muscolo si trovava in una condizione di riposo. I canali che forniscono valori RMS superiore al 70% del valore massimo RMS in tutta la schiera [32] sono stati elaborati al fine di ricavare l'ampiezza media RMS, che indica il grado medio di eccitazione, ed il numero di canali segmentati, corrispondente alla dimensione della regione eccitata (Figure 26, 27 e 28).



Figura 26. sEMG e relativo valore RMS corrispondente alla finestra di 500ms meno variabile del segnale di coppia generato prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 27. sEMG e relativo valore RMS corrispondente alla finestra di 500ms meno variabile del segnale di coppia generato prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 28. sEMG e relativo valore RMS corrispondente alla finestra di 500ms meno variabile del segnale di coppia generato prima, immediatamente dopo e 15 minuti i 210 secondi di riposo (Controllo)

Per il calcolo dell'ampiezza dell'onda V generata in risposta all'impulso di stimolazione inviato durante la seconda prova MVC, qualora fosse presente, è stata considerata l'ampiezza piccopicco dell'onda osservabile nella finestra temporale compresa tra i 30 e i 40 ms successivi all'istante di invio dello stimolo [31][56]. Analogamente a prima, i canali il cui valore di ampiezza picco-picco dell'onda V fosse superiore al 70% della massima ampiezza picco-picco osservata lungo tutta la schiera [32] sono stati elaborati al fine di ricavare l'ampiezza media Vpp ed il numero di canali segmentati, corrispondente alla dimensione della regione eccitata. In entrambi i casi, il valore trovato è stato normalizzato rispetto alla mediana delle ampiezze picco-picco dell'onda M generate a seguito dell'impulso di stimolazione inviato prima della seconda prova MVC. Tale normalizzazione è stata fatta per tenere conto delle variazioni strutturali del muscolo che si possono verificare a seguito della sessione di allungamento muscolare e quindi poter confrontare i valori ottenuti. Infatti, il calcolo di ciascuna variabile è stato ripetuto per i segnali acquisiti subito prima, subito dopo e 15 minuti dopo l'esecuzione della sessione di stretching e riposo. Ciò ha permesso inoltre di evitare eventuali valori spuri.



Figura 29. Tracciato del sEMG contenente le onde M e V ed ampiezza picco-picco dell'onda V elettricamente indotte prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 30. Tracciato del sEMG contenente le onde M e V ed ampiezza picco-picco dell'onda V elettricamente indotte prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il protocollo di stretching di lunga durata (SS60)



Figura 31. Tracciato del sEMG contenente le onde M e V ed ampiezza picco-picco dell'onda V elettricamente indotte prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo i 210 secondi di riposo (Controllo)

Infine, è stato calcolato l'indice di attivazione volontaria mediante la tecnica dell'"Intepolated Twitch" [25] [26]. Per il calcolo è stata implementata l'equazione:

$$\% \text{ VA} = \left(1 - \frac{\text{ST}}{\text{PT}}\right) \cdot 100$$
[26]

dove ST ("Superimposed Twitch") indica la variazione rispetto alla linea di base della coppia misurata in risposta all'impulso di stimolazione inviato nel corso della seconda prova MVC nel momento di massima coppia sviluppata (plateau) e PT ("Potentiated Twitch") indica il picco della coppia prodotta in situazione di riposo in risposta alla stimolazione indotta immediatamente dopo la prova di forza massimale eseguita. In particolare, è stata inizialmente isolata la porzione di segnale relativa al plateau della massima coppia generata volontariamente appena prima che pulso di stimolazione venisse inviato. Di tale segmento è stato calcolato il valore medio. Successivamente, è stato calcolato il valore della coppia di picco di contrazione suscitato a seguito della stimolazione. Il valore del "Superimposed Twitch" è stato quindi ricavato per differenza dei due valori di coppia di picco così calcolati. Analogamente, identificato il valore medio della porzione relativa alla condizione di riposo successiva alla prova massimale e calcolato il massimo della coppia suscitata immediatamente dopo la prova MVC, per differenza è stato ricavato il valore del "Potentiated Twitch". A partire dall'istante di invio degli impulsi di stimolazione, per identificare la coppia di picco sono stati considerati i successivi 500 ms.

Diversamente, per valutare l'effetto dello stretching sui meccanismi periferici è stato scelto di estrarre alcuni parametri caratteristici del twitch di forza suscitato in risposta allo stimolo inviato prima della seconda prova di forza massimale. Per definire tali variabili è stato innanzitutto individuato l'istante di inizio della contrazione, ovvero l'onset di contrazione, come il primo campione del segnale di coppia superiore alla soglia impostata pari alla somma di media e deviazione standard presa cinque volte di un secondo di segnale precedente alla stimolazione elettrica. Successivamente, sono stati elaborati i seguenti parametri: la coppia massima generata in risposta allo stimolo inviato; il tempo di latenza tra l'istante di invio del pulso di stimolazione e quello di inizio della contrazione; il tempo di contrazione, ovvero l'intervallo di tempo necessario a raggiungerne il picco della coppia a partire dall'istante di inizio della contrazione; id entrazione; ed infine il tempo di semi-rilassamento, identificato come l'intervallo di tempo tra l'istante di raggiungimento del picco e quello successivo al momento in cui il segnale è diminuito del 50% [27]. Anche in questo caso, il calcolo di ciascun indice è stato ripetuto per i segnali acquisiti subito prima, subito dopo e 15 minuti dopo l'esecuzione della sessione di stretching e riposo.



Figura 32. Variabili tempo estratte dal segnale di coppi a elettricamente indotto

4.5 Analisi dei dati

Ai dati raccolti, acquisiti prima, subito dopo e dopo 15 minuti dai protocolli di stretching e controllo eseguiti, è stata applicata un'analisi statistica per testare l'ipotesi che sia meccanismi centrali che periferici contribuiscano al calo prestazionale atteso. In particolare, è stato eseguito il test di normalità di Shapiro-Wilk, per verificare che i dati fossero distribuiti secondo una distribuzione gaussiana, ed il test di omogeneità per verificarne la variabilità. A seguito di un esito positivo dei suddetti test, è stato effettuato un test parametrico ANOVA a due vie per valutare i cambiamenti in tutte le variabili calcolate tra le condizioni (controllo, SS breve e SS lungo) e il tempo (prima, subito dopo e 15 min dopo), con questi ultimi come misure ripetute. In caso di riscontrato effetto significativo, i confronti a coppie sono stati condotti dopo aver applicato la correzione di Bonferroni. La relazione tra i cambiamenti nella coppia di flessione plantare MVC e i meccanismi centrali e periferici è stata valutata con il coefficiente di correlazione di Pearson. La soglia di significativià è stata fissata al 5%.

5. Risultati e discussione

Nel corso di tutte le prove, nonostante molti soggetti non avessero mai subito stimolazione elettrica, ogni esperimento è stato ben tollerato e portato a termine. Di seguito vengono riportati i risultati ottenuti a seguito dell'elaborazione dei segnali, dell'estrazione dei parametri ed infine dell'analisi statistica. Verranno inizialmente trattati le variabili che definiscono l'effetto dello stretching sui meccanismi centrali e successivamente quelle che ne descrivono il contributo sui meccanismi periferici.

Le figure 33, 34 e 35 mostrano i segnali di coppia prelevati nel corso della prima prova delle due prove MVC eseguita prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo i protocolli di stretching e controllo. Dai grafici è evidente una diminuzione della coppia MVC prodotta immediatamente dopo entrambi i protocolli di stretching (Figure 33, 34), mentre nessuna differenza è stata riscontrata tra le prove eseguite prima e dopo 15 minuti. Inoltre, non è osservabile nessuna differenza nel protocollo di stretching.



Figura 33. Segnale di coppia MVC acquisito prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo la sessione di stretching di breve durata (SS30)



Figura 34. Segnale di coppia MVC acquisito prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo la sessione di stretching di lunga durata (SS60)



Figura 35. Segnale di coppia MVC acquisito prima, immediatamente dopo e 15 minuti il periodo di riposo di 210 secondi (Controllo)

Un simile comportamento è rappresentativo di tutto il gruppo dei partecipanti (Figura 36). È stato infatti riscontrato un effetto significativo del tempo per il valore MVC (p-value = 0.005). Tuttavia, non è stato osservato alcun effetto della condizione o dell'interazione tempo x condizione. Un'analisi post hoc eseguita applicando la correzione di Bonferroni ha rivelato una riduzione significativa immediatamente dopo lo stretching di durata maggiore, mentre non sono state osservate differenze significative dopo 15 minuti. Contrariamente a quanto atteso, le differenze osservate nel caso di stretching di breve durata non sono risultate statisticamente significative. Nessuna differenza significativa è emersa per il protocollo di controllo.



MVC [Nm]

Figura 36. Box plot del massimo valore di coppia raggiunto dai partecipanti

Uno dei parametri rappresentativi dell'effetto dello stretching sui meccanismi centrali è il valore RMS valutato nella finestra di 500ms del sEMG associata alla minor variabilità della coppia generata durante la prima delle due prove MVC eseguita prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo i protocolli svolti e normalizzato rispetto alla mediana delle ampiezze picco-picco delle onde M indotte nel corso della stimolazione precedente la seconda prova MVC,
rispettivamente. Di seguito è stata rappresentato il box plot relativo ai valori RMS/M calcolati per i canali sopra la soglia corrisponde al 70% del valore RMS massimo calcolato (Figure 26, 27 e 28, paragrafo 4.4.2).



RMS/M

Figura 37. Box plot della variabile RMS/M rappresentativo di tutti i soggetti

La Figura 37 mostra una riduzione del valore RMS/M immediatamente dopo e dopo 15 minuti rispetto al valore estratto nel corso della prova eseguita immediatamente prima del protocollo di stretching di breve durata (SS30), mentre per il protocollo di stretching di lunga durata (SS60) sembra esserci dapprima una diminuzione e successivamente un recupero del valore RMS/M, rispettivamente immediatamente dopo e dopo 15 minuti dal protocollo eseguito. Per il protocollo di controllo non sembrano esserci variazioni consistenti. A seguito del test ANOVA a due vie, tuttavia, i risultati osservati visivamente non sembrano essere statisticamente significativi. Il p value basso ma non inferiore a 0.05 (p value = 0.177), dimostra infatti una non significatività dei dati. Anche un'analisi post hoc applicata eseguendo il test di correzione di

Bonferroni ha mostrato un effetto del tempo, seppur non significativo, tra i valori RMS/M calcolati prima e immediatamente dopo il protocollo di stretching di lunga durata (SS60).

Per ogni soggetto, considerati i canali con ampiezza del valore RMS sopra la soglia considerata è stato calcolato il baricentro geometrico dell'attività elettromiografica ponderato rispetto ai valori RMS stessi. I baricentri sono stati rappresentati come percentuale della lunghezza del muscolo, considerata pari alla distanza tra la fossa poplitea e l'ultimo canale all'estremità distale dell'aponeurosi superficiale. Le figure 38, 39 e 40 mostrano come l'attività sia per la maggior parte dei soggetti concentrata nella parte centrale del muscolo in tutti e tre i protocolli svolti.



Figura 38. Baricentri ponderati dell'attività elettromiografica riferita al valore RMS della finestra di 500ms a minima variabilità del segnale di coppia sviluppato prima, immediatamente dopo e dopo 15 minuti dal protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 39. Baricentri ponderati dell'attività elettromiografica riferita al valore RMS della finestra di 500ms a minima variabilità del segnale di coppia sviluppato prima, immediatamente dopo e dopo 15 minuti dal protocollo di stretching di lunga durata (SS60)



Figura 40. Baricentri ponderati dell'attività elettromiografica riferita al valore RMS della finestra di 500ms a minima variabilità del segnale di coppia sviluppato prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il riposo di 210 secondi (Controllo)

Un ulteriore parametro considerato è il rapporto V/M dei canali al di sopra dell'aponeurosi superficiale e in corrispondenza dei quali è stata misurata un'ampiezza picco-picco dell'onda V superiore alla soglia del 70% del massimo valore di ampiezza picco-picco calcolata. In Figura 41 è mostrato il box plot rappresentativo di tutti i partecipanti allo studio. Come si può osservare, sembra esserci una diminuzione del parametro, successivamente recuperata dopo 15 minuti, immediatamente dopo il protocollo di stretching di maggior durata (SS60). Tuttavia, tale osservazione non è risultata statisticamente significativa.



Figura 41. Box plot della variabile V/M rappresentativo di tutti i partecipanti allo studio

Anche in questo caso, per ogni soggetto, considerati i canali con ampiezza dell'onda V sopra la soglia considerata (Figure 29, 30 e 31, paragrafo 4.4.2), è stato calcolato il baricentro geometrico dell'attività elettromiografica, ponderato per il valore della relativa ampiezza picco-picco dell'onda V. Essi sono stati rappresentati nelle seguenti figure (Figura 42, 43 e 44).



Figura 42. Baricentri ponderati dell'attività elettromiografica riferita all'ampiezza picco-picco onda V indotta prima, immediatamente dopo e dopo 15 minuti dal protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 43. Baricentri ponderati dell'attività elettromiografica riferita all'ampiezza picco-picco onda V indotta prima, immediatamente dopo e dopo 15 minuti dal protocollo di stretching di lunga durata (SS60)



Figura 44. Baricentri ponderati dell'attività elettromiografica riferita all'ampiezza picco-picco onda V indotta prima, immediatamente dopo e dopo 15 minuti il riposo di 210 secondi (Controllo)

Le figure 42, 43 e 44 mostrano la posizione del baricentro dell'attività elettromiografica riferita all'ampiezza picco-picco dell'onda V elettricamente indotta espressa in percentuale rispetto alla lunghezza del muscolo considerata pari alla distanza tra la fossa poplitea e l'ultimo canale considerato sopra l'aponeurosi superficiale (0 = zona in prossimità della fossa poplitea, 100 = zona in corrispondenza dell'estremità distale dell'aponeurosi superficiale). Nelle figure si può osservare che in entrambi i protocolli di stretching applicati e per la maggior parte dei partecipanti allo studio, l'attività elettromiografica riferita all'ampiezza picco-picco dell'onda V elettricamente indotta era uniformemente distribuita lungo tutto il muscolo e per questo il suo baricentro è localizzato circa a metà della schiera di elettrodi posizionata. Nel protocollo di controllo, invece, l'attività sembra maggiormente distribuita lungo il muscolo, anche in direzione prossimale.

Infine, per quanto riguarda la percentuale di attivazione volontaria, di seguito vengono rappresentati i segnali di coppia generati nel corso la seconda delle due prove MVC, durante e immediatamente dopo la quale un impulso sovramassimale è stato inviato sul decorso del nervo tibiale (Figure 45, 46, 47).



Figura 45. Seconda prova MVC eseguita prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il protocollo di stretching di breve durata (SS30)



Figura 46. Seconda prova MVC eseguita prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il protocollo di stretching di lunga durata (SS60)



Figura 47. Seconda prova MVC eseguita prima, immediatamente dopo e 15 minuti dopo il riposo di 210 secondi (Controllo)

Il box plot rappresentativo dell'intero gruppo di partecipanti (Figura 48) mostra una diminuzione dell'attivazione volontaria immediatamente dopo entrambi i protocolli di stretching rispetto alla baseline (prima), più evidente per il protocollo di lunga maggiore (SS60) rispetto a quello di durata inferiore. L'analisi statistica conferma un effetto dell'interazione tempo x condizione, anche se il p-value pari a 0.16 indica una non significatività di tali risultati.



% VA

Figura 48. Box plot della variabile %VA rappresentativo dell'intero gruppo di partecipanti

Relativamente alle variabili volte a spiegare l'effetto dello stretching sui meccanismi periferici che permettono di sviluppare forza, di seguito sono rappresentate le curve relative al picco della coppia elettricamente indotta tramite stimolazione sovramassimale riferite ad un singolo partecipante (Figura 49).



Figura 49. Coppia elettricamente indotta mediante stimolazione elettrica A) protocollo di stretching di breve durata (SS30) B) protocollo di stretching di lunga durata (SS60) C) protocollo di controllo

Dai grafici sono evidenti un aumento del picco della coppia generata immediatamente dopo lo svolgimento del protocollo di stretching di breve durata (30) ed una riduzione del valore calcolato 15 minuti dopo il protocollo di controllo. Nessun cambiamento è stato osservato nel caso del protocollo di lunga maggiore (SS60). L'andamento riportato nei grafici rappresentati in Figura 51 per un singolo soggetto rappresenta il comportamento dell'intero gruppo di partecipanti, così come riportato nel box plot sottostante. Nessun risultato si è rivelato tuttavia statisticamente significativo.



Figura 50. Box plot rappresentativo dell'intero gruppo di partecipanti riferito alla coppia di picco elettricamente indotta in condizione di riposo

Mentre per il tempo di latenza (Figura 51A) è evidente un aumento in acuto a seguito del protocollo di stretching di lunga durata (SS60), sia il tempo di contrazione (Figura 51B) che quello di semi-rilassamento (Figura 51C) subiscono una diminuzione immediatamente dopo entrambi i protocolli di stretching, la quale viene recuperata entro i successivi 15 minuti solamente nel caso del protocollo di breve durata (SS30).

Tuttavia, dal punto di vista statistico, l'analisi ANOVA a due vie ha mostrato risultati poco significativi sia per quanto riguarda i valori di twitch torque, ovvero di coppia di picco indotta elettricamente in condizione di riposo, che quelli relativi al tempo di latenza, contrazione e semi-rilassamento.



Figura 51. Box plot delle variabili di tempo rappresentativo dell'intero gruppo di partecipanti

6. Conclusioni

Diversi studi presenti nella letteratura scientifica hanno asserito che lo svolgimento di esercizi di allungamento muscolare mantenuti per un tempo superiore a 60 secondi inducono un calo prestazionale in termini di forza muscolare prodotta.

Lo scopo del presente studio era quello di indagare il contributo centrale e periferico di sessioni di stretching di durate differente (30s vs 60s) su performance di forza tramite la combinazione di prove di forza massimale in contrazioni volontarie e stimolazione elettrica del nervo, durante i quali sono stati acquisiti segnali di coppia della caviglia, elettromiogrammi di superficie e onde M e V. L'ipotesi di partenza assumeva che a seguito di una sessione di lunga durata (SS60) il contributo mediato centralmente alla coppia di flessione plantare diminuisse rispetto a quanto si verificasse per la sessione di stretching di durata inferiore (SS30).

I risultati confermano quanto atteso circa la riduzione della produzione di forza. Durante la prima delle due prove MVC eseguita prima, immediatamente e 15 minuti dopo entrambi i protocolli di stretching (SS30, SS60) è stata infatti riscontrata dapprima un'evidente depressione della coppia calcolata immediatamente dopo e successivamente un recupero di tale riduzione dopo un'attesa di 15 minuti. Inoltre, il fatto che tale riduzione sia emersa essere più significativa nel caso del protocollo di stretching di lunga durata (SS60) rispetto a quello di durata inferiore (SS30) conferma l'ipotesi di un effetto della durata dello stretching sulle prestazioni di forza prodotta ed in particolare che maggiore è la durata della sessione di allungamento e maggiore ne sono gli effetti negativi osservabili in acuto. Inoltre, l'ipotesi della scomparsa degli effetti negativi registrati immediatamente dopo lo svolgimento di esercizi di allungamento muscolare sulla capacità del muscolo di sviluppare forza entro i 10-15 minuti è stata confermata dal fatto che il valore osservato dopo 15 minuti fosse paragonabile a quello misurato precedentemente al protocollo di stretching eseguito.

Nessuna differenza significativa che riguarda l'effetto del tempo, della condizione e dell'interazione tempo x condizione è stata invece riscontrata per quanto riguarda le variabili mirate a definire l'effetto dello stretching sul contributo dei meccanismi centrali o periferici.

Pertanto, si può concludere che mentre è chiara la presenza di effetti negativi più evidenti sulla produzione di coppia massimale volontaria MVC a seguito dello svolgimento di una sessione di stretching di lunga durata (SS60) rispetto ad una sessione di durata inferiore (SS30), nessuna affermazione può essere asserita circa l'effetto della durata dello stretching sul contributo dei meccanismi centrali o periferici. Questo rende inoltre difficile spiegare quale sia l'origine del recupero della forza muscolare alla linea di base 15 minuti dopo la sessione di allungamento. La ricerca di tale spiegazione è lasciata a studi futuri.

Bibliografia

- [1] G. S. Trajano, K. Nosaka, L. B. Seitz, and A. J. Blazevich, "Intermittent stretch reduces force and central drive more than continuous Stretch," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 46, no. 5, pp. 902–910, 2014, doi: 10.1249/MSS.000000000000185.
- [2] A. Konrad, M. M. Reiner, S. Thaller, and M. Tilp, "The time course of muscle-tendon properties and function responses of a five-minute static stretching exercise," *European Journal of Sport Science*, vol. 19, no. 9, pp. 1195–1203, 2019, doi: 10.1080/17461391.2019.1580319.
- [3] G. C. Bogdanis, O. Donti, C. Tsolakis, I. Smilios, and D. J. Bishop, "Intermittent but Not Continuous Static Stretching Improves Subsequent Vertical Jump Performance in Flexibility-Trained Athletes," *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 33, no. 1, pp. 203–210, 2019, doi: 10.1519/JSC.00000000001870.
- [4] P. H. Marchetti *et al.*, "Different volumes and intensities of static stretching affect the range of motion and muscle force output in well-trained subjects," *Sports Biomechanics*, vol. 00, no. 00, pp. 1–10, 2019, doi: 10.1080/14763141.2019.1648540.
- [5] S. P. Magnusson, P. Aagard, E. Simonsen, and F. Bojsen-Møller, "A biomechanical evaluation of cyclic and static stretch in human skeletal muscle," *International Journal of Sports Medicine*, vol. 19, no. 5, pp. 310–316, 1998, doi: 10.1055/s-2007-971923.
- [6] J. P. K. Halbertsma, L. N. H. Göeken, A. L. Hof, J. W. Groothoff, and W. H. Eisma, "Extensibility and stiffness of the hamstrings in patients with nonspecific low back pain," *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 82, no. 2, pp. 232–238, 2001, doi: 10.1053/apmr.2001.19786.
- [7] M. Nakamura, T. Ikezoe, T. Tokugawa, and N. Ichihashi, "Acute effects of stretching on passive properties of human gastrocnemius muscle-tendon unit: Analysis of differences between hold-relax and static stretching," *Journal of Sport Rehabilitation*, vol. 24, no. 3, pp. 286–292, 2015, doi: 10.1123/jsr.2014-0164.
- [8] K. Kubo, H. Kanehisa, and T. Fukunaga, "Effect of stretching training on the viscoelastic properties of human tendon structures in vivo," pp. 595–601, 2021.
- [9] D. G. Behm, A. Bambury, F. Cahill, and K. Power, "Effect of acute static stretching on force, balance, reaction time, and movement time," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 36, no. 8, pp. 1397–1402, 2004, doi: 10.1249/01.MSS.0000135788.23012.5F.
- [10] I. Shrier, "Does stretching improve performance? A systematic and critical review of the literature," *Clinical Journal of Sport Medicine*, vol. 14, no. 5, pp. 267–273, 2004, doi: 10.1097/00042752-200409000-00004.
- [11] E. C. Rubini, A. L. L. Costa, and P. S. C. Gomes, "The effects of stretching on performance," *Current Sports Medicine Reports*, vol. 13, no. 3, pp. 179–185, 2014, doi: 10.1249/JSR.00000000000052.
- [12] A. Avloniti *et al.*, "The acute effects of static stretching on speed and agility performance depend on stretch duration and conditioning level," *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 30, no. 10, pp. 2767–2773, 2016, doi: 10.1519/JSC.00000000000568.

- [13] H. Chaabene, D. G. Behm, Y. Negra, and U. Granacher, "Acute Effects of Static Stretching on Muscle Strength and Power: An Attempt to Clarify Previous Caveats," *Frontiers in Physiology*, vol. 10, 2019, doi: 10.3389/fphys.2019.01468.
- [14] I. Shrier, "Does stretching improve performance? A systematic and critical review of the literature," *Clinical Journal of Sport Medicine*, vol. 14, no. 5, pp. 267–273, 2004, doi: 10.1097/00042752-200409000-00004.
- [15] D. G. Behm and A. Chaouachi, "A review of the acute effects of static and dynamic stretching on performance," pp. 2633–2651, 2011, doi: 10.1007/s00421-011-1879-2.
- [16] L. Simic, N. Sarabon, and G. Markovic, "Does pre-exercise static stretching inhibit maximal muscular performance? A meta-analytical review," *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, vol. 23, no. 2, pp. 131–148, 2013, doi: 10.1111/j.1600-0838.2012.01444.x.
- [17] A. D. Kay and A. J. Blazevich, "Effect of acute static stretch on maximal muscle performance: A systematic review," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 44, no. 1, pp. 154– 164, 2012, doi: 10.1249/MSS.0b013e318225cb27.
- [18] M. D. Pinto, E. N. Wilhelm, V. Tricoli, R. S. Pinto, and A. J. Blazevich, "Differential effects of 30-vs. 60-second static muscle stretching on vertical jump performance," *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 28, no. 12, pp. 3440–3446, 2014, doi: 10.1519/JSC.00000000000569.
- [19] G. C. Bogdanis, "Effects of physical activity and inactivity on muscle fatigue," *Frontiers in Physiology*, vol. 3 MAY. 2012. doi: 10.3389/fphys.2012.00142.
- [20] D. Allen, "SKELETAL MUSCLE FUNCTION: ROLE OF IONIC CHANGES IN FATIGUE, DAMAGE AND DISEASE," 2004.
- [21] A. D. Kay and A. J. Blazevich, "Reductions in active plantarflexor moment are significantly correlated with static stretch duration," *European Journal of Sport Science*, vol. 8, no. 1, pp. 41–46, Jan. 2008, doi: 10.1080/17461390701855505.
- [22] G. S. Trajano, L. Seitz, K. Nosaka, A. J. Blazevich, and A. J. Blazevich, "Contribution of central vs. peripheral factors to the force loss induced by passive stretch of the human plantar flexors," *J Appl Physiol*, vol. 115, pp. 212–218, 2013, doi: 10.1152/japplphysiol.00333.2013.-The.
- [23] T. B. Palmer and R. M. Thiele, "Passive stiffness and maximal and explosive strength responses after an acute bout of constant-tension stretching," *Journal of Athletic Training*, vol. 54, no. 5, pp. 519–526, 2019, doi: 10.4085/1062-6050-62-18.
- [24] G. S. Trajano and A. J. Blazevich, "Static stretching reduces motoneuron excitability -Potential role of neuromodulation," *Exercise and sport sciences reviews*, vol. 49, no. 2, pp. 126–132, Apr. 2021, doi: 10.1249/JES.00000000000243.
- [25] P. A. Merton, "ITT," Journal of Physiology, vol. 123, pp. 553–564, 1954.
- [26] S. C. Gandevia, "Spinal and Supraspinal Factors in Human Muscle Fatigue," vol. 81, no. 4, 2011.
- [27] E. Cè, E. Paracchino, and F. Esposito, "Electrical and mechanical response of skeletal muscle to electrical stimulation after acute passive stretching in humans: A combined electromyographic and mechanomyographic approach," *Journal of Sports Sciences*, vol. 26, no. 14, pp. 1567–1577, 2008, doi: 10.1080/02640410802277429.

- [28] T. I. Arabadzhiev, V. G. Dimitrov, N. A. Dimitrova, and G. V. Dimitrov, "Interpretation of EMG integral or RMS and estimates of 'neuromuscular efficiency' can be misleading in fatiguing contraction," *Journal of Electromyography and Kinesiology*, vol. 20, no. 2, pp. 223– 232, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.jelekin.2009.01.008.
- [29] A. R. M. Upton, A. J. Mccomas, and R. E. P. Sica, "Potentiation of 'late' responses evoked in muscles during effort," 1971.
- [30] J. Kokkonen, A. G. Nelson, C. Eldredge, and J. B. Winchester, "Chronic static stretching improves exercise performance," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 39, no. 10, pp. 1825–1831, 2007, doi: 10.1249/mss.0b013e3181238a2b.
- [31] E. C. Rubini, A. L. L. Costa, and P. S. C. Gomes, "The Effects of Stretching on Strength Performance," 2007.
- [32] A. Konrad and M. Tilp, "Increased range of motion after static stretching is not due to changes in muscle and tendon structures," *Clinical Biomechanics*, vol. 29, no. 6, pp. 636–642, 2014, doi: 10.1016/j.clinbiomech.2014.04.013.
- [33] J. M. Wilson, L. M. Hornbuckle, C. Ugrinowitsch, and J.-S. Kim, "EFFECTS OF STATIC STRETCHING ON ENERGY COSTAND RUNNING ENDURANCE PERFORMANCE," *Journal of Strength and Conditioning Research*, vol. 24, no. 9, pp. 2274–2279, 2010.
- [34] C. J. De Luca, "the Use of Surface Electromyography," *Journal of Applied Biomechanics*, vol. 3, no. July 1993, pp. 1–38, 1997.
- [35] R. Merletti, M. Knaflitz, and C. J. Deluca, "Electrically Evoked Myoelectric Signals," 1992.
- [36] Digitimer Limited, "Digitimer model DSA7H User Manual".
- [37] OTBioelettronica, "EMG-USB USer Manual," pp. 1–44.
- [38] J. Brandenburg, W. A. Pitney, P. E. Luebbers, A. Veera, and A. Czajka, "Time course of changes in vertical-jumping ability after static stretching.," *International journal of sports physiology and performance*, vol. 2, no. 2, pp. 170–181, 2007, doi: 10.1123/ijspp.2.2.170.
- [39] F. Esposito, E. Cè, S. Rampichini, and A. Veicsteinas, "Acute passive stretching in a previously fatigued muscle: Electrical and mechanical response during tetanic stimulation," *Journal of Sports Sciences*, vol. 27, no. 12, pp. 1347–1357, Oct. 2009, doi: 10.1080/02640410903165093.
- [40] P. B. Costa, E. D. Ryan, T. J. Herda, A. A. Walter, K. M. Hoge, and J. T. Cramer, "Acute effects of passive stretching on the electromechanical delay and evoked twitch properties," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 108, no. 2, pp. 301–310, Jan. 2010, doi: 10.1007/s00421-009-1214-3.
- [41] G. S. Trajano, K. Nosaka, L. B. Seitz, and A. J. Blazevich, "Intermittent stretch reduces force and central drive more than continuous Stretch," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 46, no. 5, pp. 902–910, 2014, doi: 10.1249/MSS.000000000000185.
- [42] A. D. Kay, J. Husbands-Beasley, and A. J. Blazevich, "Effects of Contract-Relax, Static Stretching, and Isometric Contractions on Muscle-Tendon Mechanics," *Medicine and Science in Sports and Exercise*, vol. 47, no. 10, pp. 2181–2190, 2015, doi: 10.1249/MSS.0000000000632.

- [43] A. Konrad, S. Stafilidis, and M. Tilp, "Effects of acute static, ballistic, and PNF stretching exercise on the muscle and tendon tissue properties," *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, vol. 27, no. 10, pp. 1070–1080, 2017, doi: 10.1111/sms.12725.
- [44] S. Williamson, A. A. Sanni, and K. K. McCully, "The influence of muscle length on gastrocnemius and vastus lateralis muscle oxygen saturation and endurance," *Journal of Electromyography and Kinesiology*, vol. 49, no. September, p. 102358, 2019, doi: 10.1016/j.jelekin.2019.102358.
- [45] L. McLean and N. Goudy, "Neuromuscular response to sustained low-level muscle activation: Within- and between-synergist substitution in the triceps surae muscles," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 91, no. 2–3, pp. 204–216, 2004, doi: 10.1007/s00421-003-0967-3.
- [46] A. Gallina, R. Merletti, and T. M. M. Vieira, "Are the myoelectric manifestations of fatigue distributed regionally in the human medial gastrocnemius muscle?," *Journal of Electromyography and Kinesiology*, vol. 21, no. 6, pp. 929–938, Dec. 2011, doi: 10.1016/j.jelekin.2011.08.006.
- [47] R. Kinugasa, Y. Kawakami, S. Sinha, and T. Fukunaga, "Unique spatial distribution of in vivo human muscle activation," *Experimental Physiology*, vol. 96, no. 9, pp. 938–948, 2011, doi: 10.1113/expphysiol.2011.057562.
- [48] T. M. M. Vieira, I. D. Loram, S. Muceli, R. Merletti, and D. Farina, "Postural activation of the human medial gastrocnemius muscle: Are the muscle units spatially localised?," *Journal of Physiology*, vol. 589, no. 2, pp. 431–443, 2011, doi: 10.1113/jphysiol.2010.201806.
- [49] C. Avancini, L. F. De Oliveira, L. L. Menegaldo, and T. M. Vieira, "Variations in the spatial distribution of the amplitude of surface electromyograms are unlikely explained by changes in the length of medial gastrocnemius fibres with knee joint angle," *PLoS ONE*, vol. 10, no. 5, pp. 1–16, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0126888.
- [50] F. V. dos Anjos, T. P. Pinto, M. Gazzoni, and T. M. Vieira, "The spatial distribution of ankle muscles activity discriminates aged from young subjects during standing," *Frontiers in Human Neuroscience*, vol. 11, no. April, pp. 1–12, 2017, doi: 10.3389/fnhum.2017.00190.
- [51] E. F. Hodson-Tole, I. D. Loram, and T. M. M. Vieira, "Myoelectric activity along human gastrocnemius medialis: Different spatial distributions of postural and electrically elicited surface potentials," *Journal of Electromyography and Kinesiology*, vol. 23, no. 1, pp. 43–50, 2013, doi: 10.1016/j.jelekin.2012.08.003.
- [52] A. G. Cresswell, W. N. Löscher, and A. Thorstensson, "Influence of gastrocnemius muscle length on triceps surae torque development and electromyographic activity in man," *Experimental Brain Research*, vol. 105, no. 2, pp. 283–290, 1995, doi: 10.1007/BF00240964.
- [53] F. Mandrile, D. Farina, M. Pozzo, and R. Merletti, "Stimulation Artifact in Surface EMG Signal: Effect of the Stimulation Waveform, Detection System, and Current Amplitude Using Hybrid Stimulation Technique," *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, vol. 11, no. 4, pp. 407–415, Dec. 2003, doi: 10.1109/TNSRE.2003.819791.
- [54] A. L. Bertolaccini, A. Alves Da Silva, E. L. Teixeira, B. J. Schoenfeld, V. De, and S. Painelli, "Does the Expectancy on the Static Stretching Effect Interfere With Strength-Endurance Performance?," 2019. [Online]. Available: www.nsca.com
- [55] D. C. Button and D. G. Behm, "The effect of stimulus anticipation on the interpolated twitch technique," *Journal of Sports Science and Medicine*, vol. 7, no. 4, pp. 520–524, 2008.

[56] P. Aagaard, E. B. Simonsen, J. L. Andersen, P. Magnusson, P. Dyhre-poulsen, and P. Dyhre-Poulsen, "Neural adaptation to resistance training: changes in evoked V-wave and H-reflex responses," *J Appl Physiol*, vol. 92, pp. 2309–2318, 2002, doi: 10.1152/japplphysiol.01185.