

La collana ospita contributi inerenti la ricerca educativa nelle scienze motorie e le ricerche, educative e no, sulle scienze motorie.

Per quanto concerne le ricerche educative le tematiche, i problemi, gli obiettivi e i contesti di ricerca riguardano i fini dell'educazione e dell'istruzione, i metodi educativi e didattici per raggiungerli, i soggetti nei confronti dei quali tali metodologie vengono applicate.

Particolare risalto è dato all'approccio descrittivo, empirico e sperimentale, basato sull'utilizzo di metodi quantitativi, tipici della ricerca nomotetica, e qualitativi, tipici della ricerca idiografica, senza trascurare quegli studi teoretici che definiscono lo statuto epistemologico e i problemi assiologici e normativi di questo ambito del sapere, prendendo in considerazione la ricerca storica e comparativa in senso sia diacronico sia sincronico.

La collana, inoltre, ha come intento il superamento dell'attuale frammentazione del settore dedicato alle scienze motorie (EDF) in Italia, dal recente passato fino a oggi il problema maggiore è quello di tenere unite le due principali correnti della disciplina: quella umanistico-pedagogica e quella biomedica.

SARA BALDELLI
MATTEO MOSCATI

Stress ossidativo e sport di resistenza

postfazione di Sara Baldelli
nota tematica di approfondimento di Gianluca Menegazzo

UNIVERSITÀ

Indice

- p. 9 Introduzione
- 15 Capitolo 1
Specie reattive dell'ossigeno e dell'ossido nitrico
- 1.1. Introduzione, 15
 - 1.2. Antiossidanti, 20
 - 1.3. Nuove strategie per mantenere l'omeostasi muscolare, 28
 - 1.4. Fisiologia muscolare, 30
 - 1.5. Effetti dello stress ossidativo sulla fisiologia muscolare: meccanismi biochimici, 34
- 39 Capitolo 2
Sport di resistenza
- 2.1. Introduzione, 39
 - 2.2. Sport di resistenza e ROS, 41
 - 2.3. Effetti dei ROS sulla generazione di forza muscolare e atrofia muscolare, 43
 - 2.4. La risposta antiossidante dopo uno sforzo muscolare intenso, 44
 - 2.5. Alimentazione e integrazione negli sport di resistenza, 46
 - 2.6. Allenarsi fa male?, 50
 - 2.7. Allenarsi fa invecchiare?, 53
- 57 Capitolo 3
Maratona e running
- 3.1. Introduzione, 57
 - 3.2. Maratona, dagli albori ai giorni nostri, 63

- 3.3. Il fenomeno del running in Italia, alcuni numeri, 64
 - 3.4. La corsa, cenni di fisiologia, 67
 - 3.5. Maratona in Italia e nel mondo: alcuni eventi tragici, 68
 - 3.6. Stress ossidativo e ultramaratona, 72
 - 3.7. Ricerca sui runner italiani: allenamento, alimentazione e stress ossidativo, 73
- p. 91 **Capitolo 4**
Cenni generali sul ciclismo e nuoto in relazione allo stress ossidativo
- 4.1. Ciclismo, 91
 - 4.2. Nuoto, 95
- 101 **Postfazione**
- 107 **Nota tematica di approfondimento**
- 113 **Bibliografia**
- 137 **Hanno collaborato allo studio**

Introduzione

È sempre vero che l'attività fisica contribuisce a un corretto stile di vita?

In un rapporto del 2018, l'ISTAT ha stimato che oltre 20 milioni di persone in Italia praticano uno o più sport, ovvero oltre un terzo della popolazione (35,3%). Il trend è in costante crescita, tanto da far supporre che l'attività fisica sia diventata uno degli eventi quotidiani irrinunciabili per gli italiani. Basti pensare che nel 1959, primo anno di rilevazione di tali attività, poco più di un milione di cittadini, di cui il 91% di sesso maschile e solo l'1% sotto i 14 anni di età, era solito praticare attività fisica, principalmente collegata alla caccia. Successivamente la crescita è stata costante, fino al boom dei primi anni 2000, seguito da un ulteriore incremento tra il 2013 e il 2016.

Nonostante questo, l'Italia resta tra i fanalini di coda in Europa per livelli di attività fisica, complice anche una mancanza di cultura sportiva, poco diffusa nel territorio. A dimostrazione si può osservare che è altissima la correlazione tra bambini e adolescenti iscritti a un corso sportivo e la loro provenienza da una famiglia in cui almeno uno dei genitori sia praticante. Al contrario, come descritto dall'ultimo rapporto, generalmente bambini e ragazzi che non praticano nessuna attività hanno genitori sedentari.

Quello che deve far riflettere è che «lo sport è oggi un'attività meno strutturata rispetto al passato» e, soprattutto che «più di quattro persone su dieci, specialmente fra i meno giovani, fa sport in autonomia e in spazi aperti» (Rapporto ISTAT 2018). Se da

un lato la destrutturazione della pratica indica una certa libertà del soggetto che vuole iniziare a muoversi senza troppi vincoli, dall'altro si deve notare che questa autonomia ha spesso portato il neofita, che in molti casi diventa agonista, a praticare l'attività senza alcun consiglio da parte di una figura accreditata o, ancora peggio, imitando l'attività di atleti professionisti.

La domanda che oggi devono porsi gli addetti del settore, oltre che gli stessi praticanti è: l'attività che sto svolgendo, o facendo svolgere, ha un fine prestativo o salutistico?

Come verrà illustrato nel corso del libro, a partire dalla seconda metà del 1900 numerosi studi hanno dimostrato che un esercizio fisico intenso o, viceversa, sporadico, sia difficilmente considerabile utile al miglioramento della propria salute e del proprio stile di vita. Per un atleta professionista, seguito e controllato 365 giorni l'anno da un esperto del settore, è possibile e abbastanza agile seguire procedure utili a compensare il grande lavoro a cui sono sottoposte le cellule durante l'attività sportiva e rimediare a eventuali danni causati da un eccessivo esercizio. Invece, per un soggetto che pratica sport come hobby o in modo autonomo tutto questo è più difficile e rischia di non riuscire a gestire correttamente lo sforzo e il carico di lavoro a cui sottopone il suo corpo.

È quindi necessario marcare una linea ben definita tra attività sportiva e attività motoria: se la prima può rappresentare un valido motivo per porsi degli obiettivi, divertirsi ed evadere la quotidianità, non è possibile tuttavia ricondurla sempre a stili di vita corretti; viceversa, l'attività motoria è correlata a numerosi effetti di prevenzione di malattie croniche e degenerative. Nel 2016 alcuni studiosi hanno definito le cosiddette "zone blu", cinque località, tra le quali figura anche la Sardegna, dove si registra un altissimo tasso di centenari. Analizzando a fondo le loro abitudini di vita, è emerso che il centenario è un individuo che non ha mai fatto sport, ma ha fatto movimento per tutti i giorni della sua esistenza, l'esempio più frequente è una lunga camminata quotidiana. Anche a Okinawa, in Giappone, dove questo dato era in contrasto con quello di altre località, è emerso che le

attività sportive svolte dai “grandi anziani” erano esclusivamente discipline meditative e non prestantive, come il Tai Chi o movimenti imitativi delle arti marziali.

Maratone, ultramaratone, granfondo di nuoto, ciclismo e tutte le attività di lunga e lunghissima durata rimangono una grande sfida in cui cimentarsi ma non si può dire che rappresentino un’attività salutare. Anzi, in caso di un substrato clinico sfavorevole, possono rappresentare la classica “goccia che fa traboccare il vaso” e far scatenare una patologia più o meno grave.

Nella ricerca presentata si evince come lo sportivo italiano, nel nostro caso il runner, sia poco incline nel farsi seguire da uno specialista. Inoltre, nonostante percorra centinaia di chilometri ogni settimana, generalmente il runner ha una scarsissima conoscenza del fenomeno dello stress ossidativo, evento cui è impossibile sfuggire nel corso di un’attività di endurance, e non segue le basi di una corretta alimentazione. Di fatto, lo sportivo amatoriale non è detto che sia così informato e attento alla propria salute. Addirittura, il 25% degli intervistati, percentuale tutt’altro che irrisoria, ha affermato di aver sofferto di patologie, anche piuttosto serie, nei due anni precedenti la ricerca.

Questo libro si rivolge a studenti, specializzandi, dottorandi e professori in discipline afferenti alle scienze biomediche, motorie, psicobiologiche, oltre che a sportivi interessati alla tematica affrontata, con l’intento di analizzare dal punto di vista scientifico il fenomeno dello stress ossidativo, sia in modo specifico nel muscolo, ma anche più in generale nella preparazione alle discipline di lunga durata, cercando di far emergere che la giusta quantità di esercizio fisico è quella dosata e controllata, non irrisoria ma allo stesso tempo non eccessiva.

L’esistenza dei radicali liberi nelle cellule viventi fu individuata per la prima volta nel 1954 e tale scoperta contribuì a lanciare nel campo della biologia il concetto di “stato redox” (Gerschman, Gilbert, Nye, Dwyer, Fenn 1954). I radicali liberi sono prodotti durante il normale metabolismo cellulare aerobico e hanno ruoli chiave come mediatori nei processi di segnalazione. Quando si at-

tua uno squilibrio tra la produzione di specie ossidanti e la difesa antiossidante si genera quello che viene definito “stress ossidativo e/o nitrosativo” a seconda dei radicali coinvolti. Questa condizione avversa può causare danno cellulare e tissutale ai componenti intracellulari (proteine, lipidi e DNA) ed è coinvolta in diversi stati fisiopatologici, tra i quali l'invecchiamento, le malattie infiammatorie, quelle cardiovascolari, la neurodegenerazione e il cancro (Liguori *et al.* 2018).

La scoperta che l'esercizio fisico fosse associato a un aumento dei bio-marcatore dello stress ossidativo è datata 1978 (Davies, Quintanilha, Brooks, Packer 1982; Dillard, Litov, Savin, Dumelin, Tappel 1978). Seguendo tale linea di ricerca, molti studi scientifici hanno confermato che l'esercizio prolungato ad alta intensità determina un aumento della produzione di radicali a livello muscolare con conseguente danno a lipidi e proteine (Aquilano *et al.* 2016; Pal, Chaki, Chattopadhyay, Bandyopadhyay 2018).

Una conseguenza di questi primi studi descrittivi è un forte incremento dell'indagine sui radicali e sulla biologia redox relativa all'esercizio fisico e al muscolo scheletrico. La disciplina si è consolidata e l'importanza di tale ricerca nelle scienze biomediche è oggi ampiamente riconosciuta. È stato dimostrato, infatti, che la relazione tra allenamento fisico e stress ossidativo è estremamente complessa, a seconda della modalità, intensità e durata dell'esercizio (Kawamura, Muraoka 2018; Park, Kwak 2016). Un regolare allenamento moderato sembra benefico per contrastare lo stress ossidativo e migliorare la salute generale (Briones, Touyz 2009). Viceversa, l'esercizio acuto porta a un aumento dello stress ossidativo, sebbene questo stesso stimolo sia necessario a consentire un'up-regolazione delle difese antiossidanti endogene (*ormesi*) (Radak, Chung, Goto 2005; Radak, Chung, Koltai, Taylor, Goto 2008).

Gli esercizi di resistenza che verranno trattati più avanti determinano un aumento dello stress ossidativo, un cambiamento nei livelli di antiossidanti enzimatici e non enzimatici nel plasma e nelle urine degli atleti (Aguilo *et al.* 2005). A supporto di tali modificazioni redox, le difese endogene con l'integrazione orale sup-

plementare di antiossidanti possono rappresentare un adeguato strumento non invasivo per prevenire o ridurre lo stress ossidativo durante l'allenamento (Braakhuis, Hopkins 2015). Tuttavia, l'eccesso di antiossidanti esogeni può avere effetti negativi sulla salute e sulle prestazioni sportive (Braakhuis, Hopkins 2015). Pertanto, un adeguato apporto di vitamine e minerali attraverso una dieta varia ed equilibrata rimane l'approccio migliore per mantenere uno stato antiossidante ottimale.

Lo scopo di questo volume è mettere in luce le conoscenze raggiunte finora dalla ricerca scientifica nell'ambito dello stress ossidativo/nitrosativo indotto dall'esercizio fisico di resistenza e i meccanismi molecolari che vengono attivati o spenti in relazione a esso. Verranno presentati alcuni studi recenti che esaminano il metabolismo delle specie reattive dell'ossigeno e dell'ossido nitrico (ROS/RNS) in combinazione con il sistema antiossidante intracellulare a livello muscolare, ponendo l'attenzione su molecole ed enzimi che prendono parte (attivandosi o inibendosi) all'attività fisica di resistenza. In virtù di tali conoscenze, verrà presentata una ricerca empirica volta a indagare la reale conoscenza dei runner italiani del fenomeno dello stress ossidativo, dell'esistenza e dell'importanza metabolica degli antiossidanti e le loro eventuali strategie per prevenirlo e contrastarlo.

Capitolo 1

Specie reattive dell'ossigeno e dell'ossido nitrico

1.1. Introduzione

Prima di procedere all'analisi della ricerca empirica che presenteremo in questo libro, ci sembra doveroso dover contestualizzare ciò che andremo a trattare. Nei primi 2 capitoli il lettore si troverà quindi a fare i conti con dei concetti che definiremmo un po' "scientifici" che gli permetteranno però di comprendere ciò che approfondirà nella seconda parte della trattazione.

In primo luogo tratteremo il concetto di stress ossidativo: il quale può aumentare in seguito a un esercizio fisico acuto o di resistenza, è dettato da un aumento di produzione di ROS. A oggi esistono molti studi scientifici riguardanti queste molecole. Basterebbe fare una ricerca in PubMed per accorgersi che, utilizzando come parola chiave "reactive oxygen species", sono 268.019 gli articoli che vengono menzionati di cui 28.500 sono review. Il primo articolo scientifico riguardante i ROS è stato pubblicato nel 1945 e da allora numerosi studi hanno correlato il contenuto dei ROS a differenti tipi di patologie, quali il cancro, l'insulino-resistenza, il diabete mellito, le malattie neurodegenerative, le malattie cardiovascolari e le miopatie (Gamble 1945). Nonostante l'elevato contenuto intracellulare di ROS sia correlato a numerosi tipi di patologie, alcuni ricercatori hanno anche constatato il ruolo dei radicali nei meccanismi cellulari fisiologici e protettivi, indispensabili a tutti gli organismi viventi per la propria sopravvivenza (Beckhauser, Francis-Oliveira, De Pasquale 2016). Alcuni esempi potrebbero es-

sere la difesa immunitaria, le vie di trasduzione del segnale, l'autofagia e l'apoptosi, tutti pathway durante i quali i ROS hanno un ruolo fisiologico fondamentale (Covarrubias, Hernandez-Garcia, Schnabel, Salas-Vidal, Castro-Obregon 2008; Zhang *et al.* 2016).

Man mano che le ricerca scientifica avanzava si comprese che per mantenere un corretto stato di omeostasi intracellulare gli organismi viventi avrebbero dovuto controllare il contenuto di ROS attraverso un delicato sistema di antiossidanti. Infatti, sono stati fatti enormi progressi riguardo la conoscenza sul metabolismo dei ROS quando venne scoperta la superossido dismutasi (SODs) nel 1969 (McCord, Fridovich 1969), un enzima capace di dismutare il superossido ($O_2^{\cdot-}$) in ossigeno molecolare (O_2) e acqua ossigenata (H_2O_2). Questa scoperta ha incrementato il numero di studi sui radicali anche se per molti decenni si è pensato solo al loro aspetto dannoso a discapito delle macromolecole cellulari (lipidi, proteine e DNA), tralasciando il loro ruolo fisiologico.

In natura non esistono solo i ROS, ma anche specie radicaliche contenenti azoto definite RNS. Queste giocano un ruolo fondamentale nella regolazione fisiologica di tutte le cellule viventi quali cellule della muscolatura liscia e striata, cardiomiociti, piastrine e cellule nervose (Martinez, Andriantsitohaina 2009). Ovviamente anche nel caso degli RNS, elevati livelli portano a danno tissutale, danno cellulare e morte, generando quello che viene definito stress nitrosativo (Baldelli, Ciriolo 2016). Includono: l'ossido nitrico (NO), un messaggero intracellulare sintetizzato da una classe di enzimi chiamati NO-sintasi (NOSs) in grado di regolare funzioni fisiologiche come quelle neuronali e cardiovascolari (Bohlen 2015; V. Calabrese *et al.* 2007).

Sebbene i ROS e gli RNS non siano tossici a basse concentrazioni, uno squilibrio tra la produzione di questi due radicali e gli antiossidanti può essere in parte responsabile delle alterazioni dei meccanismi molecolari che regolano la vita delle cellule (Martinez, Andriantsitohaina 2009; Radi 2018).

Negli ultimi due decenni, l'NO ha ricevuto crescente attenzione da parte della comunità scientifica soprattutto nell'ambito

dell'omeostasi del muscolo scheletrico. Una ragione a questo interesse c'è. Infatti, studi recenti rivelano che il muscolo scheletrico produce continuamente NO il quale oltre a essere un modulatore fisiologico endogeno a livello tissutale e cellulare, opera direttamente sulle fibre muscolari influenzando il metabolismo, la funzione contrattile del muscolo, la vasodilatazione, l'infiammazione e l'azione antiossidante. Non a caso sembrerebbe che l'NO sia in grado di attivare una via di segnalazione antiossidante mediata dal coattivatore 1 del proliferatore gamma del perossisoma (PGC-1 α) (Baldelli, Ciriolo 2016). Attraverso tale attivazione l'NO media l'espressione di un ampio spettro di geni metabolici e/o antiossidanti diminuendo a livello muscolare lo stress ossidativo determinato da un esercizio acuto o di resistenza. Non solo. L'NO è in grado di regolare funzioni muscolo-scheletriche specifiche, quali la forza e la resistenza. Ciò è confermato da esperimenti effettuati su atleti che praticano sport di resistenza i quali assumendo L-arginina (un amminoacido coinvolto in molti processi metabolici, in particolare nella sintesi di NO) presentavano un'augmentata forza muscolare e un incremento del volume di sangue nel muscolo (Santos *et al.* 2002) ottimizzando la potenza durante lo sforzo sportivo. Questi effetti benefici sono proprio dovuti alla capacità dell'NO di agire come un vasodilatatore. Questo poliedrico radicale svolge la sua azione anche nel conservare le riserve di energia intracellulare influenzando il metabolismo dei miociti a più livelli: promuove il trasporto di glucosio, la respirazione mitocondriale e la rottura della fosfocreatina. Tutto ciò garantisce una grande efficienza nell'esercizio, una maggiore tolleranza allo sforzo e un recupero più efficace. In particolare è da approfondire il ruolo dell'NO nel garantire a livello muscolare il meccanismo di rigenerazione dei mitocondri i quali durante una intensa attività sportiva si depauperano di energia (sotto forma di adenosintrifosfato, ATP) e diminuiscono il loro numero (Aquilano, Baldelli, Ciriolo, 2014a; Baldelli, Barbato, Tatulli, Aquilano, Ciriolo 2014; Schild, Jaroscakova, Lendeckel, Wolf, Keilhoff 2005). Per comprendere questo fenomeno così importante per uno sportivo bisogna neces-

sariamente comprendere cos'è un mitocondrio. I mitocondri sono organelli definiti centraline energetiche delle cellule e sono molto abbondanti a livello del muscolo scheletrico. L'NO attraverso vie di segnalazione che mediano la trascrizione di geni, di enzimi, di fattori indispensabili alla funzionalità mitocondriale, permette un aumento del numero dei mitocondri, inducendo quella che viene chiamata biogenesi mitocondriale. In questo modo l'NO migliora l'utilizzo degli acidi grassi da parte del muscolo, aumenta la quantità di enzimi mitocondriali essenziali per le vie metaboliche come la fosforilazione ossidativa e il ciclo di Krebs, garantendo una maggior produzione di ATP: Non a caso diversi gruppi di ricerca hanno evidenziato che il trattamento di cellule muscolari con donatori di NO incrementa i livelli di marcatori mitocondriali, dimostrando che l'NO induce la sintesi di nuovi organelli in grado di generare ATP durante la fosforilazione ossidativa (Lira *et al.* 2010; Lira *et al.* 2007; McConell, Kingwell 2006; Nisoli, Carruba 2006; Nisoli *et al.* 2004). Infine, la stimolazione della biogenesi mitocondriale mediata dall'NO richiede anche l'intervento di un altro fattore di trascrizione molto importante a livello muscolare noto come CREB (cAMP response element-binding protein) (Ventura-Clapier, Garnier, Veksler 2008). Questo fattore quando viene legato dall'NO riconosce specifici geni, tra i quali ricordiamo quello di PGC-1 α , stimolando il processo di biogenesi mitocondriale a livello muscolare (Aquilano *et al.* 2014a).

Proprio alla luce di queste conoscenze che negli ultimi anni sono nati integratori detti di *recupero* a base di aminoacidi, antiossidanti e precursori di NO che si basano sulla correlazione tra NO e miglioramento della prestazione sportiva e di recupero.

In secondo luogo tratteremo un altro concetto importante: quello di sport di resistenza contrapponendolo a un esercizio di tipo moderato (figura 1.1). Qualsiasi tipo di esercizio fisico (soprattutto quello di tipo intenso e vigoroso) provoca un certo grado di stress che può essere di tipo metabolico, meccanico, infiammatorio e ossidativo. Ciò è principalmente dovuto al fatto che durante uno sport prolungato e molto intenso, il consumo di ossigeno soprat-

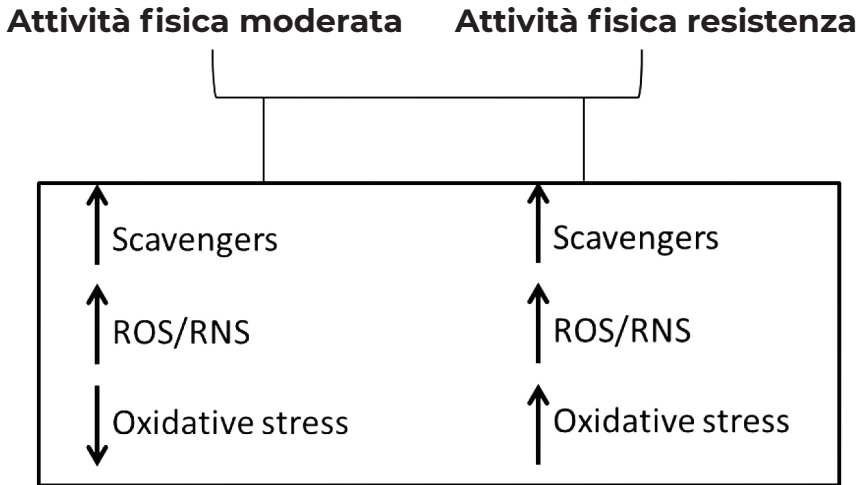


Figura 1.1. Rappresentazione grafica delle molecole segnale attivate in seguito ad attività fisica moderata o di resistenza.

tutto a livello muscolare aumenta moltissimo. Tale consumo porta alla formazione di picchi nel flusso elettronico a livello mitocondriale (fosforilazione ossidativa), determinando la dispersione di una grande percentuale di elettroni i quali diventeranno in ultima analisi ROS/RNS. Questo aumento nel numero di radicali si traduce in stress ossidativo: danno alle proteine, lipidi e DNA. Tuttavia bisogna essere precisi nel descrivere questo aspetto perché se da un lato l'esercizio fisico influenza lo stress ossidativo, l'effetto di quest'ultimo dipende comunque da vari fattori, quali: il tipo di esercizio, la durata e l'intensità (Bloomer, Goldfarb, McKenzie 2006).