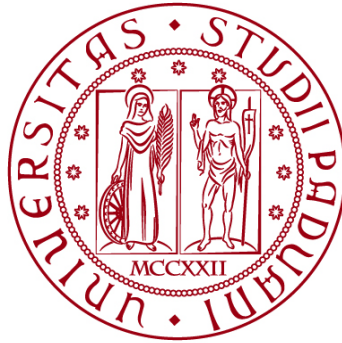


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea in Biologia



ELABORATO DI LAUREA

***Withania somnifera*: possibili utilizzi
nell'incremento delle performance sportive**

**Tutor: Prof.ssa Elide Formentin
Dipartimento di Biologia**

Laureando: Federico Pellegrini

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

1. Introduzione	4
1.1 Classificazione e descrizione di <i>Withania somnifera</i>	4
1.2 Molecole di interesse	5
1.3 Attività biologica	6
1.3.1 Attività antitumorale	6
1.3.2 Attività antinfiammatoria e antiossidante	6
1.3.3 Attività immunomodulatoria	7
1.3.4 Attività antimicrobica	7
1.3.5 Attività neuroprotettiva	8
1.3.6 Attività cardio-protettiva	8
2. Parametri fisiologici di analisi della performance sportiva	9
2.1 VO ₂ max	10
2.2 Carico massimale	10
3. Scopo della tesi	10
4. Studi e risultati sull'efficacia di <i>Withania somnifera</i> nell'incremento della performance sportiva	10
4.1 VO ₂ max e resistenza cardiorespiratoria	10
4.2 Forza	12
4.3 Recupero	13
5. Modalità di somministrazione	14
6. Criticità e punti di forza	14
7. Conclusioni	14
8. Bibliografia	17

1. Introduzione

1.1 Classificazione e descrizione di *Withania somnifera*

Withania somnifera (WS) è una pianta appartenente alla famiglia delle Solanaceae, talvolta chiamata anche Ashwagandha, Ginseng Indiano o Ciliegio d'inverno. Il termine "somniafero", in latino "sonnifero/ che provoca il sonno", fa riferimento alle sue caratteristiche anti-stress. WS è originaria dell'India e territori limitrofi (regioni subtropicali), ma si può riconoscere anche in alcune parti del Mediterraneo e dell'Africa. Si tratta di un arbusto che cresce per circa 2 metri di altezza, con rami ricoperti di peli corti e fini che conferiscono un colore argenteo. Caratterizzata da foglie alterne, verdi nella pagina superiore e densamente pelose nella parte inferiore (Figura 1A). I fiori sono piccoli e campanulati di colore giallo. Il frutto è una bacca sferica racchiusa in un calice persistente di colore da rosso-arancio a rosso (Figura 1B). Le radici sono robuste e carnose con un forte odore e sapore amaro (Bashir et al., 2023). Oltre 50 molecole costituenti della pianta (in particolar modo witanolidi) possiedono attività biologiche quali: antitumorale, antinfiammatoria, antimicrobica, immunomodulatoria, neuroprotettiva e cardio-protettiva. Viene utilizzata nella medicina tradizionale indiana anche per conferire vigore, forza, resistenza e salute generale (Dar et al., 2023). Con questo ampio spettro di attività, Ashwagandha viene considerata come un ottimo candidato per il trattamento di numerose patologie, come cancro, malattie neurodegenerative e disturbi respiratori (Dar et al., 2023). È stata anche riconosciuta un'attività anti-diabetica (diabete tipo 2), probabilmente dovuta alla capacità dei suoi principi attivi di aumentare i livelli sierici di insulina e/o le attività antiossidanti di catalasi, superossido dismutasi e glutazione perossidasi. (Panda et al., 2011).

Grazie alle sue proprietà, *Withania somnifera* ha grandi potenzialità nel portare benefici alle prestazioni sportive (Bonilla et al, 2021). In qualsiasi sport si è costantemente alla ricerca del miglioramento delle performance atletiche, a partire dallo sviluppo di piani di allenamento, della gestione di un corretto recupero degli stimoli allenanti, di una dieta e integrazione adeguata. Proprio per questo, si cerca di capire che ruolo possa avere l'utilizzo di *Withania somnifera* nel miglioramento di fattori fisiologici caratterizzanti il modello prestativo di un atleta.



Figura 1. A) Foglie e radici di *Withania somnifera* (Paul et al., 2021); B) Frutti e semi di *Withania somnifera* (musèum de Tolouse)

1.2 Molecole di interesse

Withania somnifera è in grado di produrre un ampio spettro di metaboliti secondari di tipo diverso a seconda dell'organo della pianta (Tabella 1); di cui è possibile riconoscerne differenti secondo la tecnica di estrazione utilizzata. Più di 12 alcaloidi, 40 withanolidi e diversi sitoinosidi sono stati caratterizzati in diverse parti della pianta, ma solo pochi esibiscono attività biologiche di rilievo. I composti dominanti sono i withanolidi, composti steroidei a XX atomi di carbonio, con un gruppo δ -lattone tra gli atomi C-22 e C-26 e con C-1 ossidato (Figura 2). Il Withanolide D e la Withaferina A hanno mostrato attività antitumorali, antinfiammatorie, immunosoppressive e antiossidanti (Paul et al., 2021).

In generale, i composti bioattivi di *Withania somnifera* sono potenti antiossidanti in grado di bloccare radicali liberi e impedire i danni cellulari da loro provocati. Alcune molecole sono in grado di regolare l'attività di alcuni fattori di trascrizione coinvolti nella regolazione di enzimi, recettori e altre proteine che intervengono in alcune patologie (Patel et al., 2013).

Tabella 1 Elenco di withanolidi e altri composti identificati in diverse parti della pianta di *Withania somnifera* (Sharifi-Rad et al, 2021)

parts	
Roots	Withanolide A, withanolide B, 27-hydroxy withanolide B, withanolide D, withaferin A, 16 β -acetoxy-6 α , 7 α -epoxy-5 α -hydroxy-1-oxowitha-2, 17 (20), 24-trienolide, 5, 7 α -epoxy-6 α , 20 α -dihydroxy-1-oxowitha-2, 24-dienolide Withanoside I, withanoside II, withanoside III, withanoside IV, withanoside V, withanoside VI, withanoside VII, withaferin A, physagulin D, coagulin Q Withasilolide A, withasilolide B, withasilolide C, withasilolide D, withasilolide E, withasilolide F Withanolide E, withanolide F, withanolide G, withanolide H, withanolide I, withanolide J, withanolide K, withanolide L, withanolide M Withanolide Q, withanolide R Withanolide E, withanolide F, withanolide S, withanolide P Withanolide T, withanolide U Glucosomniferanolide
Stem bark	Withasomnilide, withasomniferanolide, somniferanolide, somniferawithanolide, somniwithanolide Withanolide C, 4-deoxyphysalolactone (20R, 22R)-14 α , 20 α F-dihydroxy-1-oxowitha-2, 5, 16, 24-tetraenolide Withaferin A
Leaves	24,25-Dihydrowithanolide A, withanolide A, withanone, withaferin A, 27-hydroxy withanone, and 17-hydroxy withaferin A, 27-deoxy-16-en-withaferin A, 2, 3-dihydro-3 β -hydroxywithanone, 2,3-dihydro withanone-3 β -O-sulfate
Fruits	24,25-Dihydrowithanolide VI, withanoside IV, withanoside V, withanoside VI, withanamide A, withanamide B, withanamide C, withanamide D, withanamide E, withanamide F, withanamide G, withanamide H, withanamide I

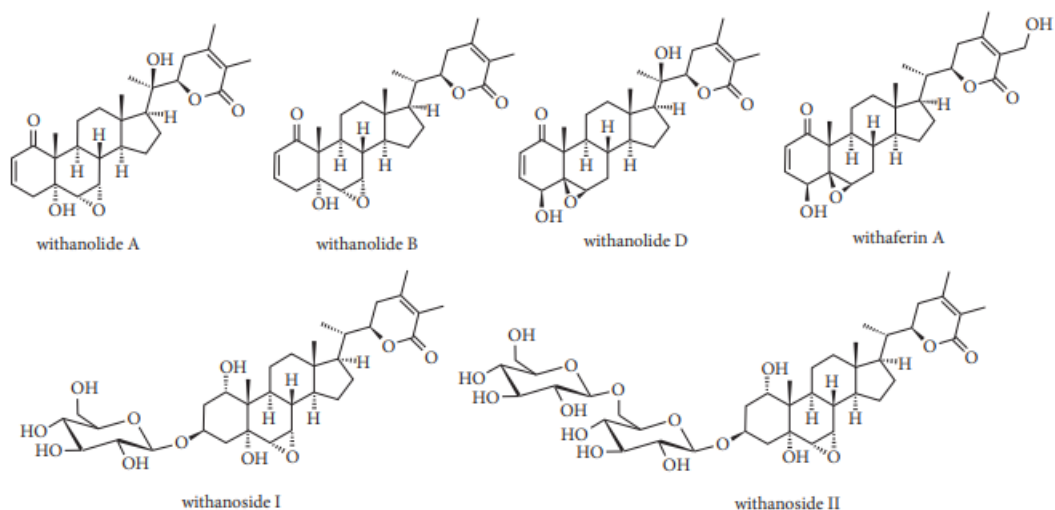


Figura 2 Struttura chimica dei principali withanolidi isolati da *Withania somnifera* (Sharifi-Rad et al., 2021)

1.3 Attività biologica

1.3.1 Attività antitumorale

Estratti alcolici di parti aeree della pianta hanno dimostrato attività citotossica nei confronti di linee cellulari di fegato e mammella umani; in particolare, l'attività citotossica svolta dall'estratto agisce a livello della fase G2/M e G0 arrestando il ciclo cellulare (Samir et al., 2018). Inoltre, l'estratto acquoso di foglie altera la via di segnalazione che coinvolge proteine pro-apoptotiche e che promuovono la crescita del tumore, dando quindi un contributo a fermarne la proliferazione. Esibisce quindi un effetto anti-glioma, sia nei sistemi in vitro che in vivo, inibendo le proteine coinvolte nella sopravvivenza cellulare (NFkB), proliferazione (ciclina D1), angiogenesi e invasione (Paul et al., 2021).

La Withaferina A è stata ampiamente studiata per sue proprietà antitumorali, in particolare le attività pro-apoptotiche che includono la generazione di specie reattive dell'ossigeno e l'induzione di stress al reticolo endoplasmatico. L'attività farmacologica della Withaferina A in combinazione con vari farmaci antitumorali fornisce prove promettenti del suo potenziale come trattamento al cancro (Atteeq et al., 2022).

1.3.2 Attività antinfiammatoria e antiossidante

La capacità antiossidante delle soluzioni ottenute dagli estratti di *Withania somnifera* dipende fortemente dal metodo di estrazione e dalla porzione di pianta utilizzata. L'estratto con metanolo-cloroformio-acqua (1:1:1) di radici di *Withania somnifera* ha capacità antiossidante maggiore rispetto ad estratti con acqua, acetone e metanolo-acqua (1:1), con valori rispettivamente di 83.354 ± 1.828 per metanolo-cloroformio-acqua (1:1:1), 76.978 ± 2.210 per metanolo-acqua (1:1) e 68.439 ± 1.000 per acqua (Ganguly et al., 2018). Inoltre, si è visto che le foglie e i tuberi (freschi e secchi) hanno un contenuto di composti antiossidanti maggiore rispetto a radici e fusticini (Sumathi et al., 2008).

Le proprietà antiossidanti (scavenging di NO, scavenging di H₂O₂, inibizione della perossidazione lipidica) sono paragonabili a quelle dell'acido ascorbico (Vitamina C) e della curcumina (Paul et al., 2021).

Le proprietà antinfiammatorie fanno riferimento alla riduzione di citochine pro-infiammatorie (IL-6), fattori tumorali (TNF), specie reattive dell'ossigeno (ROS) e ossido nitrico (NO) in modelli di topo (Melo et al., 2021). La Withaferina A si è dimostrata efficace nel trattamento di varie condizioni infiammatorie in malattie, come l'infiammazione associata ad artrite, fibrosi cistica e malattia infiammatoria intestinale LRE, mediante diversi meccanismi come l'inibizione dell'attivazione del fattore nucleare NF-κB, e l'inibizione della generazione di ciclo-ossigenasi-2 (COX-2, enzima coinvolto nel processo infiammatorio) (Bashir et al., 2023).

1.3.3 Attività immunomodulatoria

L'attività immunomodulatoria viene svolta grazie a sostanze che agiscono stimolando la risposta immunitaria aspecifica e regolando l'attività della componente linfocitaria T. Le cellule che vengono in contatto con agenti esterni producono molecole segnale che richiamano macrofagi e globuli bianchi che eliminano antagonisti tramite fagocitosi, produzione di anticorpi e produzione di specie reattive dell'ossigeno. In uno studio su topi, l'estratto di radice di *Withania somnifera* ha aumentato il numero totale di globuli bianchi presenti nel sangue; inoltre, questo estratto avrebbe inibito le reazioni di ipersensibilità di tipo ritardato e avrebbe migliorato l'attività fagocitica dei macrofagi rispetto ad un gruppo di controllo (Davis et al., 2002). Uno studio ha cercato di dimostrare il possibile meccanismo alla base dell'aumento della citotossicità dei macrofagi esposti agli estratti di WS: è stato determinato che l'ossido nitrico NO ha un effetto significativo sull'effetto citotossico dei macrofagi contro i microrganismi e le cellule tumorali. Si è notato che l'estratto di WS aumenta la produzione di NO (in particolare attraverso l'aumento della produzione di ossido nitrico sintasi inducibile, un enzima generato in risposta a mediatori infiammatori e noto per inibire la crescita di molti agenti patogeni) nei macrofagi di topo in modo dipendente alla concentrazione dell'estratto (Iuvone et al., 2003).

Sono stati anche trovati significativi aumenti di concentrazione di emoglobina, numero di globuli rossi, numero di globuli bianchi, numero delle piastrine e peso corporeo in topi trattati con WS rispetto ad un gruppo di controllo; inoltre, ci sono stati aumenti significativi delle risposte degli anticorpi emolitici verso gli eritrociti umani, il che indica un'attività immunostimolante (Gupta et al., 2007).

1.3.4 Attività antimicrobica

La capacità antimicrobica corrisponde alla capacità di eliminare microrganismi o fermarne la crescita e proliferazione. L'attività antimicrobica di *Withania somnifera* dipende dal metodo di estrazione: per esempio, estratti con etanolo e metanolo della radice non esibiscono attività antibatterica nei confronti di *K. pneumoniae* e *S. aureus* meticillina-resistente; invece gli stessi microrganismi sono inibiti da estratti con cloroformio di fusto e foglie (Rizwana et al., 2012). Un altro esempio riguarda *E. coli*: l'attività antimicrobica di estratti con acqua si è dimostrata maggiore rispetto all'estrazione con alcol (Kumar et al., 2009).

Si è visto inoltre che i possibili meccanismi che conferiscono capacità antimicrobica sono i withanolidi estratti con etanolo (Chandrasekaran et al., 2013), i quali possono indurre morte cellulare simile ad apoptosi in *Leishmania donovani* (in vitro) tramite tagli del

DNA, apoptosi e arresto del ciclo cellulare in maniera tempo e dose dipendente aumentando la produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS).

1.3.5 Attività neuroprotettiva

Le modalità attraverso le quali *Withania somnifera* svolge le sue capacità neuroprotettive sono diverse. In uno studio su topi, è stato indotto uno stress ossidativo tramite la generazione di ROS e ridotto le difese cellulari antiossidanti. La somministrazione dell'estratto acqua-alcol di radice di WS (a dosi di 200mg/kg/giorno e 500mg/kg/giorno per 6 settimane) ha aumentato il numero di enzimi antiossidanti come superossido dismutasi, cloramfenicolo amminoacetiltransferasi, glutatione s-transferasi eliminando i ROS, quindi contribuendo agli effetti protettivi di *W. somnifera* (Sharma et al., 2011). Il witanone contenuto nell'estratto di foglie può proteggere dalla tossicità indotta dalla scopolamina sia nelle cellule gliali che in quelle neuronali negli animali utilizzati negli esperimenti. Numerosi marcatori neurali, neurofilamenti, marcatori di stress ossidativo del DNA sono significativamente ridotti dagli estratti di WS (Konar et al., 2011). Inoltre si è visto come il Withanolide A riesca ad estendere gli assoni e i dendriti, mentre il Withanolide IV e VI estendono solamente i dendriti; il Withanolide IV, poi, è in grado di riparare sinapsi in neuroni corticali danneggiati da β -amiloidi (Kuboyama et al., 2002). In particolare, WS ha mostrato la capacità di invertire la neuropatogenesi indotta da β -amiloidi: i withanosidi e i withanolidi presenti nell'estratto vegetale potrebbero indurre al minimo l'accumulo di peptidi e oligomeri di β -amiloidi nel cervello e trasportarli alla periferia (Kurapati et al., 2013).

1.3.6 Attività cardio-protettiva

Gli estratti di *Withania somnifera* possiedono proprietà cardiovascolo-protettive in numerosi studi svolti su animali. Il trattamento con WS (50mg/kg per 30 giorni) su topi ha ristabilito l'equilibrio tra ossidanti e antiossidanti del miocardio (Ashour et al., 2012), effetti antiapoptotici e proapoptotici e ha ulteriormente ridotto il deterioramento istopatologico del miocardio (Mohanty et al., 2008). Inoltre, in un ulteriore studio svolto su topi con diabete tipo 2, quando WS viene somministrata oralmente a dosaggi di 200mg/kg e 400mg/kg, tende a ridurre significativamente i livelli ematici di colesterolo totale, trigliceridi, colesterolo LDL e VLDL, mentre aumenta quelli di colesterolo HDL rispetto ad un gruppo di controllo (Shukla et al., 2014). L'attività cardio-protettiva sembra quindi essere dovuta all'aumento di antiossidanti endogeni, il mantenimento dello stato degli antiossidanti nel miocardio e un significativo ripristino di valori ematici alterati (Bashir et al., 2023).

Lo studio sugli effetti di WS sui sistemi cardiovascolare e respiratorio è stato effettuato anche su cane e rana (Malhotra et al., 1981). Gli alcaloidi presenti hanno una prolungata azione ipotensiva, bradicardica e stimolante nei cani. Lo studio ha rivelato che l'effetto ipotensivo era dovuto principalmente all'azione di blocco del ganglio autonomo e che anche un'azione depressiva sui centri cerebrali superiori contribuiva all'ipotensione. Gli alcaloidi hanno stimolato i centri vasomotori e respiratori nel tronco encefalico dei cani. Gli alcaloidi hanno anche prodotto effetti cardiodepressivi predominanti immediati ma di breve durata, e un effetto cardiotonico debole ma prolungato in cuori di rana isolati.

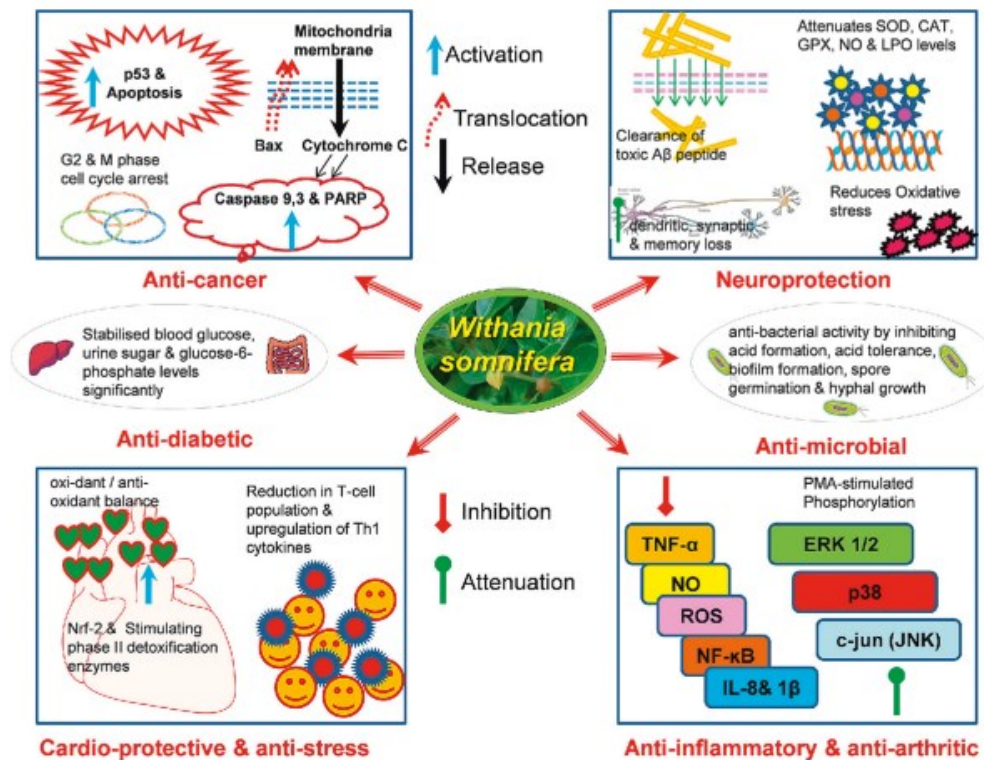


Figura 3 Le maggiori attività biologiche di *Withania somnifera* (Sharifi-Rad et al., 2021)

Withania somnifera, inoltre, è considerata un potente agente anti-stress e adattogeno. Con il termine adattogeno (Brekham e Dardymov, 1969) si intende un agente innocuo che aumenta in una maniera aspecifico la resistenza nei confronti di fattori nocivi o stress fisici, chimici, biologici e psicologici, normalizzando l'omeostasi dell'individuo.

2. Parametri fisiologici di analisi della performance sportiva

Quali sono i parametri che consentono la presa in esame dello stato di forma di un atleta e che permettono di valutarne il modello prestativo? I fattori che influenzano tutto ciò riguardano vari aspetti, differenti per ogni tipologia di sport praticato, a partire dalle caratteristiche metaboliche, biomeccaniche, tecniche e tattiche.

Provando a riassumere, esistono tre capacità condizionali che rappresentano le abilità di un'atleta: forza, velocità e resistenza (Bompa e Buzzichelli 2015). Queste possono essere poste agli angoli di un triangolo equilatero e, a seconda dello sport praticato e alla predisposizione genetica, ogni individuo si posiziona all'interno di questo triangolo, più o meno vicino ad uno dei tre angoli.

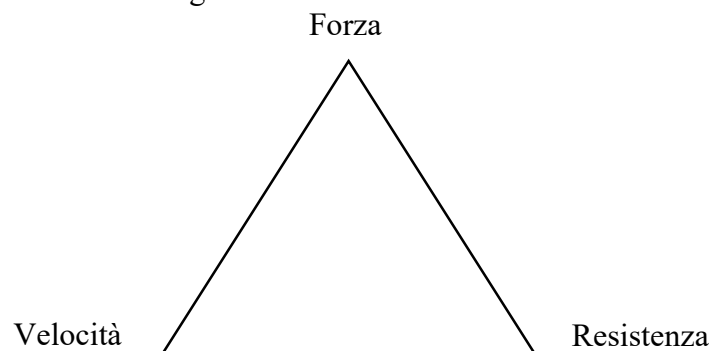


Figura 4 Triangolo delle capacità condizionali Forza-Resistenza-Velocità (Bompa e Buzzichelli 2015)

I parametri utilizzati negli studi che verranno riportati faranno riferimento al $VO_2\max$ come indice di resistenza cardiorespiratoria, e il massimo carico sollevato in specifici movimenti parametrabili come indice di forza. Nessuno studio preso in esame ha invece considerato il parametro velocità.

2.1 $VO_2\max$

Man mano che l'intensità nello svolgimento di un esercizio aumenta, aumenta linearmente anche il tasso di consumo di ossigeno da parte del nostro organismo. Il cervello riconosce lo stimolo, il che permette di reclutare un maggior numero di fibre muscolari per produrre contrazioni più forti da parte del muscolo interessato. Questo, richiede un aumento dell'energia richiesta e quindi un aumentato bisogno di ossigeno. Come detto precedentemente, il tasso di consumo di ossigeno cresce linearmente all'aumentare dell'intensità dell'esercizio, ma, poco prima che una persona raggiunga la massima intensità sostenibile, questo si stabilizza ad un valore massimo e non aumenta maggiormente. Nonostante la persona possa raggiungere un'intensità leggermente superiore, il tasso di consumo di ossigeno arriva ad un plateau. A questo punto si dice che la persona ha raggiunto il proprio massimo tasso di consumo di ossigeno o $VO_2\max$ (Noakes 2001). Si tratta quindi di un parametro fisiologico che permette di valutare il volume massimo di ossigeno che un individuo può utilizzare nel tempo, viene infatti espresso in ml/kg/min.

2.2 Carico massimale

Come indice di forza è possibile utilizzare il massimo carico sollevato per una ripetizione (protocollo 1RM – one repetition maximum) in specifici esercizi parametrabili. Come parametri di riferimento nei movimenti vengono utilizzati angoli e posizioni di ossa e articolazioni. In particolare, i due maggiori movimenti presi in esame sono lo squat con bilanciere e la distensione su panca piana con bilanciere, per determinare, rispettivamente, la forza massimale della porzione inferiore e superiore del corpo (Ziegenfuss et al., 2018). Nello squat con bilanciere, la ripetizione viene considerata valida se nella massima profondità del movimento il femore arriva al parallelo rispetto al terreno. Nella distensione su panca, la ripetizione viene considerata valida se per il movimento completo (discesa e salita del bilanciere) si mantengono cinque punti di contatto (entrambi i piedi a terra, glutei, spalle e testa su panca) e il bilanciere deve toccare il petto del soggetto prima di estendere completamente i gomiti.

3. Scopo della tesi

Con questo elaborato si intende portare alla luce ricerche scientifiche i cui dati dimostrino significativamente il ruolo svolto dai composti bioattivi di *Withania somnifera* sul miglioramento delle prestazioni sportive.

4. Studi e risultati sull'efficacia di *Withania somnifera* nell'incremento della performance sportiva

4.1 $VO_2\max$ e resistenza cardiorespiratoria

Nello studio di Tiwari et al. (2021) sono stati selezionati cinquanta individui adulti atletici sani e divisi casualmente in due gruppi: nel primo con assunzione di *Withania somnifera* (capsule da 300mg di estratto di radice, due volte al giorno per 8 settimane), il secondo

gruppo come controllo e assunzione di un placebo. Sono stati effettuati tre controlli in tempi diversi sui rispettivi gruppi: un primo controllo precedente all'inizio delle otto settimane di trattamento, un secondo controllo dopo quattro settimane di trattamento, e infine un terzo controllo dopo otto settimane di trattamento. Per la misurazione della fitness cardiorespiratoria e VO₂max è stato utilizzato il test di corsa di Cooper di 12 minuti (Cooper 1968). Il valore di VO₂max di ogni soggetto è stato calcolato in base all'equazione proposta da Cooper:

$$VO_2max \approx \frac{d12 - 504.9}{44.73},$$

d12 rappresenta la distanza in metri percorsa dal soggetto

Nel primo controllo il VO₂max medio del gruppo con trattamento con *Withania somnifera* è stato registrato come 40,22±5,34 ml/kg/min, il quale è aumentato ad un valore medio di 46,82±5,01 ml/kg/min alla fine dello studio. Inoltre, sono stati osservati miglioramenti significativi del gruppo con assunzione di WS rispetto al gruppo di controllo con placebo.

Tabella 2 Valori di VO₂max osservati al primo, secondo e terzo controllo dei due gruppi (con *Withania somnifera* e placebo) nella ricerca di Tiwari et al. (2021)

Parameters	Ashwagandha		Placebo		P values between group (ANOVA)	P-values within group	
	Mean (SD)	95% CI	Mean (SD)	95% CI		Ashwagandha	Placebo
VO ₂ Max (ml/kg/min)							
Visit 1 (Baseline)	40.22 (5.34)	(38.12, 42.31)	40.63 (3.43)	39.28, 41.97)	P 0.7483		
Visit 2 (4 week)	43.72 (5.52)	(41.56, 45.89)	42.45 (4.13)	(40.83, 44.07)	P 0.3625	P<0.0002	P 0.362
Visit 3 (8 week)	46.82 (5.01)	(44.86, 48.79)	42.66 (5.51)	(40.49, 44.82)	P 0.0074	P<0.0001	P 0.787

Un ulteriore studio (Ziegenfuss et al., 2018) ha analizzato i cambiamenti in relazione alla resistenza muscolare con un diverso parametro: il tempo impiegato per completare 7,5km su un cicloergometro computerizzato (7.5km time trial test – TT test). In questo caso sono stati presi in analisi 40 partecipanti maschi di età tra i 18 e 45 anni (26.3 ± 6.7 anni, 1.80 ± 0.07 m, 87.0 ± 12.8 kg). Questi sono stati divisi in un primo gruppo con assunzione di 500mg di *Withania somnifera* al giorno (estratto di radici e foglie) e un secondo gruppo con assunzione di placebo come controllo. Prima che cominciasse il trattamento è stato accertato che ogni partecipante fosse sano e fisicamente attivo (allenandosi per non più di 2-3 giorni/settimana da 6-12 mesi), e che non facesse uso di integratori alimentari o altri prodotti considerati ergogenici (creatina, HMB, beta-alanina, etc.). Lo studio ha proseguito per 12 settimane con un programma di allenamento contro resistenza (verrà spiegato in seguito) e i test sono stati effettuati prima e dopo il periodo di assunzione. Cambiamenti statisticamente significativi sono stati trovati nel TT test del gruppo trattato con WS (21% più veloci) rispetto al gruppo di controllo con placebo (14% più veloce).

Tabella 3 Risultati sul tempo impiegato nel completare 7.5km – S500= gruppo trattato con 500mg di WS al giorno; PLA= placebo (Ziegenfuss et al., 2018)

Variables	N	Baseline (Week 0)	Post (Week 12)	Within p-Value	Between-Group Comparison		
					Mean Difference	95% CI	p-Value
7.5 km Time Trial (seconds)							
S500	19	1241 ± 268	977 ± 119	<0.001 †	-95.5 ± 133	(-366, 174)	0.48
PLA	19	1189 ± 389	1020 ± 189	0.18			

4.2 Forza

Nello studio precedentemente menzionato (Ziegenfuss et al., 2018) è stata svolta un'attività di analisi anche nei confronti di miglioramenti nei carichi massimali sollevati nei movimenti di squat con bilanciere e distensione su panca con bilanciere. I partecipanti prima citati, nell'arco delle 12 settimane di trattamento (500mg di *Withania somnifera* e controllo con placebo), hanno svolto un uguale programma di allenamento. Questo è stato disegnato per allenare la parte superiore e inferiore del corpo due volte alla settimana ciascuna per un totale di 4 giorni (parte superiore, parte inferiore, parte superiore, parte inferiore) con volume e intensità gradualmente crescenti. L'allenamento consisteva in 10-12 esercizi ed è stata seguita una periodizzazione lineare in base alla quale i partecipanti si sono allenati con tre serie con un carico da 12-15RM, e hanno completato l'allenamento facendo 4-6 serie con un carico pari ad 8RM. Per l'esercizio di distensione su panca è stato assegnato il carico da utilizzare in base all'1RM, mentre per tutti gli altri carichi sono stati assegnati in base alle massime ripetizioni, intervalli di ripetizioni pre-determinati e seguendo la regola del carico "2x2": i partecipanti sono stati istruiti ad aumentare il peso utilizzato quando riuscivano ad eseguire due ripetizioni in più, rispetto a quanto prescritto, su due serie consecutive. In questo modo man mano che si presentavano miglioramenti nella forza, l'aumento del carico permetteva di entrare comunque nel range stabilito. Il tempo di recupero utilizzato tra i diversi esercizi è stato di 1-3 minuti, mentre quello tra le serie di 1-2 minuti. Ogni allenamento non è stato supervisionato dai ricercatori, ma ai partecipanti è stato fornito un registro di allenamento da completare.

Significativi aumenti sono stati riscontrati nell'1RM di squat con bilanciere (+18.2% nel gruppo trattato con WS contro +9,7% nel gruppo di controllo) e nell'1RM di distensione su panca con bilanciere (+13.7% nel gruppo trattato con WS contro +8,2% nel gruppo di controllo).

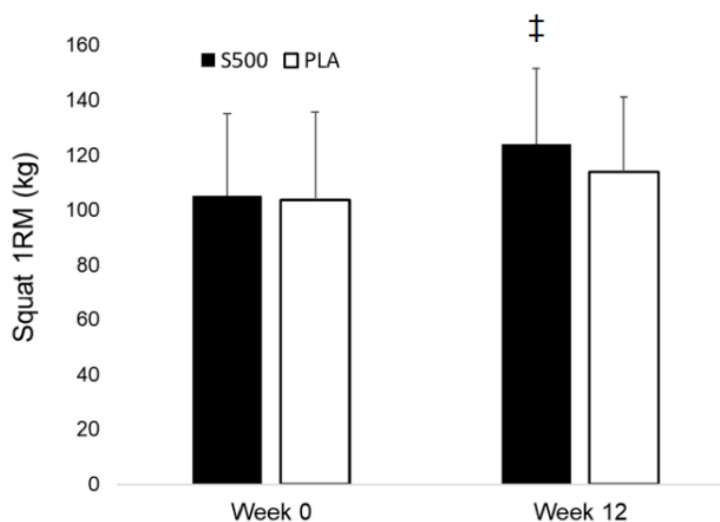


Figura 5 1RM di squat in chilogrammi per S500 e PLA alla settimana 0 e settimana 12. S500= gruppo *Withania somnifera*; PLA= placebo (Ziegenfuss et al., 2018)

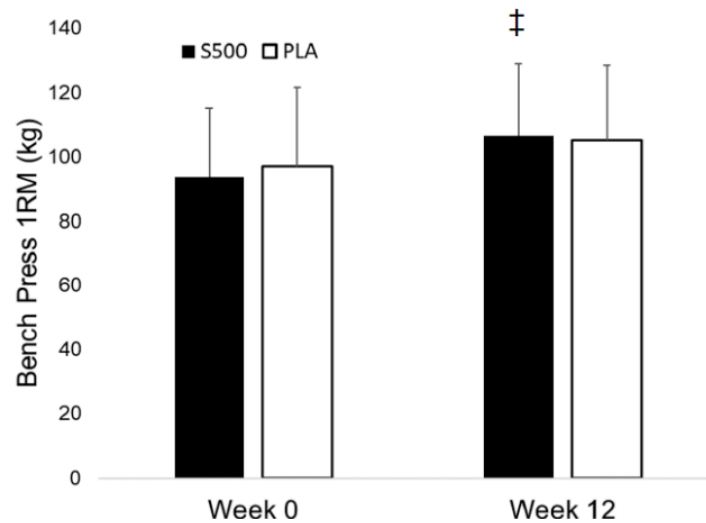


Figura 6 1RM di distensione su panca con bilanciere per S500 e PLA alla settimana 0 e alla settimana 12 (Ziegenfuss et al., 2018)

4.3 Recupero

È importante approfondire anche l'aspetto legato al recupero quando si vogliono studiare gli effetti della somministrazione di *Withania somnifera* per l'incremento delle performance sportive. Un adeguato recupero, infatti, secondo la teoria della supercompensazione, è proprio uno dei fattori chiave per ottenere miglioramenti nello stato di forma dell'atleta (Yakovlev 1955). Nello studio condotto da Tiwari et al. (2021) è stato eseguito anche un metodo di valutazione regolarmente utilizzato per stimare il tasso di recupero negli atleti (Total Recovery Scores TQR). Questo protocollo è stato utilizzato per valutare il recupero dalla fatica sia nei soggetti appartenenti al gruppo con WS, sia al gruppo con placebo. Il confronto statistico ha suggerito un miglioramento significativo nel gruppo con WS.

Tabella 4 Valori di TQR osservati al primo, secondo e terzo controllo dei due gruppi (con *Withania somnifera* e placebo) nella ricerca di Tiwari et al. (2021)

Parameters	Ashwagandha		Placebo		P values between group (ANOVA)	P-values within group	
	Mean (SD)	95% CI	Mean (SD)	95% CI		Ashwagandha	Placebo
Total Quality Recovery (TQR) Score							
Visit 1 (Baseline)	16.04 (0.69)	(15.77, 16.31)	15.35 (1.05)	(14.94, 15.76)	P 0.0089		
Visit 2 (4 week)	16.61 (0.81)	(16.30, 16.93)	15.30 (1.04)	(14.89, 15.70)	P<0.0001	P 0.0011	P 0.7746
Visit 3 (8 week)	17.11 (1.02)	(16.72, 17.52)	15.15 (1.14)	(14.71, 15.59)	P<0.0001	P 0.0002	P 0.3490

La meta-analisi svolta da Bonilla et al. (2021), su ricerche pubblicate fino al 2020 trovate su PubMed, ScienceDirect e Google Scholar sugli effetti di utilizzo di *Withania somnifera* sulla performance sportiva, ha individuato un gran numero di effetti sulle variabili legate alla fatica e recupero, che favoriscono la somministrazione di WS. Anche il sonno ha un'elevata importanza nei processi di recupero, e quindi di adattamento agli stimoli allenanti. Ci sono studi che supportano il fatto che WS può ottimizzare la qualità del sonno. Infatti, l'estratto di radice di WS (300mg due volte al giorno per 10 settimane) ha dimostrato avere potenziali effetti nell'indurre il sonno e migliorare la qualità del sonno in pazienti con insonnia, senza presentare effetti collaterali (Langade et al., 2019).

5. Modalità di somministrazione

La modalità di somministrazione di *Withania somnifera* negli studi precedentemente citati è stata sottoforma di capsule. Il quantitativo varia a seconda della ricerca, e Raut et al. (2012) hanno dimostrato come alti dosaggi di WS (da 750 a 1250 mg/giorno) non sono solo sicuri, ma hanno anche effetti positivi sulla forza muscolare di individui sani e attivi. Nella meta-analisi di Bonilla et al. (2021), comunque, il trattamento con maggior efficacia sembra essere quello con l'assunzione di 300-500 mg due volte al giorno (alla mattina e prima di dormire), con le dosi maggiori preferite per soggetti allenati e atleti. Per quanto riguarda la tipologia di estrazione, degli autori hanno dimostrato come l'estrazione con acqua subcritica ha consentito maggiore resa nella solubilizzazione dei composti principalmente negli estratti di radice, mantenendo le proprietà biologiche, rispetto ad altri metodi come la macerazione, l'estrazione Soxhlet e l'estrazione assistita da microonde, che richiedono lunghi periodi di tempo e l'uso di solventi organici (Nile et al., 2019).

6. Criticità e punti di forza

Gli aspetti che possono influire sulla performance sportiva di un soggetto sono svariati e averne il pieno controllo risulta essere complicato. Un aspetto non tenuto in considerazione nello studio di Tiwari et al. (2021) è il piano di allenamento. La misurazione del $VO_2\max$ è stata fatta prima e dopo le 8 settimane di trattamento con *Withania somnifera*; ma durante questo arco di tempo non è stata fornita alcuna indicazione sulla tipologia di allenamenti da svolgere. Ora, nonostante ci siano ancora delle controversie su quale possa essere la migliore intensità per incrementare il $VO_2\max$ (Midgley et al., 2006), un adeguato o meno, per via volontaria o involontaria, metodo di allenamento svolto dai soggetti, può aver contribuito nel cambiamento di valore misurato. Al contrario, il già precedentemente citato studio di Ziegenfuss et al. (2018) oltre ad aver assegnato un piano di allenamento standardizzato per le settimane durante le quali si è svolto lo studio (12 settimane), si è preoccupato anche di informare i soggetti di non fare cambiamenti alla propria dieta (altro fattore che può essere determinante nello sviluppo di adattamenti sportivi). Ciò nonostante, i risultati possono essere stati più o meno effettivi in base alla compliance alle direttive fornite; inoltre ogni allenamento svolto non è stato supervisionato, il che ha potuto avere impatto sui miglioramenti osservati. Va considerato anche che, seppur venisse chiesto di non modificare la dieta dei soggetti, un apporto più o meno importante di proteine ha potuto massimizzare o meno l'ipertrofia muscolare, collegata anche allo sviluppo di forza.

7. Conclusioni

Il $VO_2\max$, considerato come parametro di analisi per la performance sportiva, è prevalentemente associato agli sport di endurance. Molti fattori possono contribuire al valore di $VO_2\max$ di un soggetto, quali predisposizione genetica, enzimi coinvolti, tipologia di fibre muscolari e allenamento (Pérez-Gómez et al., 2020). È ampio quindi lo spettro in cui *Withania somnifera* può agire per migliorare questo parametro. Le prestazioni di endurance sono determinate dallo stato dei mitocondri, alcuni motivi per cui WS migliora la forma cardiorespiratoria possono essere proprio legati a livello mitocondriale ed energetico (Lee et al., 2020). Ci sono studi che dimostrano anche come WS aumenti significativamente la concentrazione di emoglobina e globuli rossi negli animali (Ziauddin et al., 1996) e negli esseri umani (Malik et al., 2013), con il conseguente aumento delle capacità di trasportare ossigeno ai muscoli. Nello sviluppo

della forza, i miglioramenti osservati durante l'integrazione con WS non sono ben compresi, infatti a diversi livelli possono verificarsi cambiamenti (intramuscolari, nervosi centrali, all'interno del tendine) che possono portare ad un miglioramento della performance (Figura 9). Nonostante non ci siano prove che descrivano i meccanismi associati all'aumento della forza muscolare dopo l'integrazione con l'estratto di radice di WS, la Withaferina A, tra i suoi metaboliti secondari, è stata identificata come regolatore in diversi contesti cellulari che possono favorire miogenesi e metabolismo ossidativo nell'uomo (Bonilla et al., 2021). Oltre al fatto che numerose vie di segnalazione anabolica e catabolica che regolano la sintesi di proteine muscolari e del metabolismo energetico possono essere influenzate dalla somministrazione di WS (Bonilla et al., 2021). Una di queste è la via di segnalazione del fattore NF- κ B, coinvolto nella regolazione della miogenesi nella muscolatura scheletrica umana e in modelli animali.

In conclusione, l'integrazione di *Withania somnifera* (da 300 a 1000mg/giorno per un tempo da 8 a 12 settimane) ha dimostrato essere efficace nel miglioramento di parametri come VO_2 max e forza massimale rispetto ad un gruppo di controllo trattato con placebo. Ciò nonostante, sono necessari ulteriori studi in futuro per poter interpretare i meccanismi d'azione e le molecole coinvolte nei guadagni ottenuti.

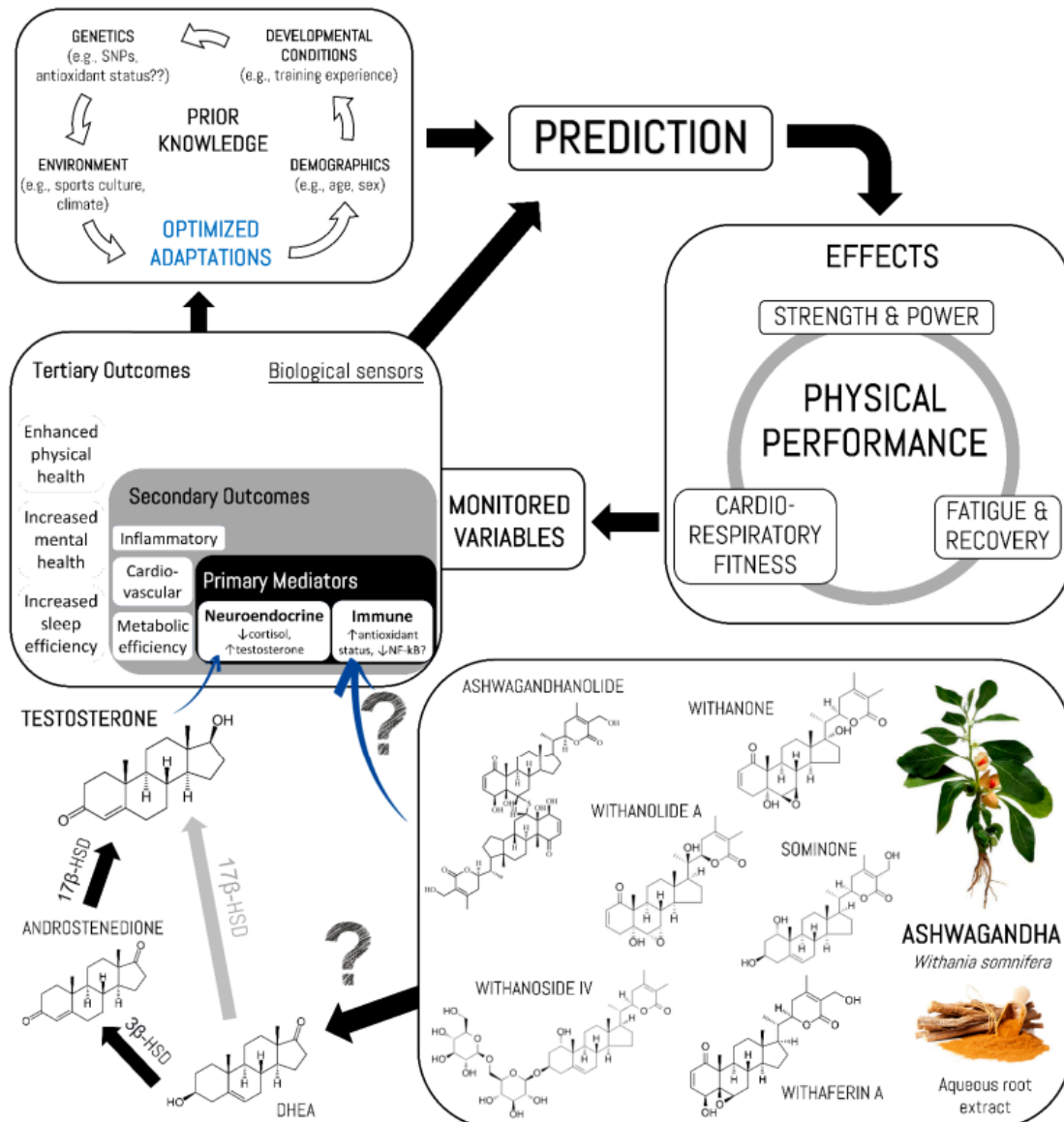


Figura 9 Potenziali meccanismi di azione con controllo a feedback degli effetti di *Withania somnifera* sulle variabili delle performance sportive (Bonilla et al., 2021)

8. Bibliografia

- Ashour O.M., Abdel-Naim A.B., Abdallah H.M., Nagy A.A., Mohamadin A.M., Abdel-Sattar E.A., Evaluation of the potential cardioprotective activity of some Saudi plants against soxorubicin toxicity, *A. Nat. C.* 67 (2012) 297-307.
- Atteeq, Maushma. «Evaluating Anticancer Properties of Withaferin A—a Potent Phytochemical». *Frontiers in Pharmacology* 13 (19 ottobre 2022): 975320.
- Bashir, Arsalan, Masarat Nabi, Nahida Tabassum, Suhaib Afzal, e Mehrose Ayoub. «An Updated Review on Phytochemistry and Molecular Targets of Withania Somnifera (L.) Dunal (Ashwagandha)». *Frontiers in Pharmacology* 14 (29 marzo 2023): 1049334.
- Bompa T., Buzzichelli C. (2015) Periodization training for sports, *Human Kinetics*, pp. 22-23
- Bonilla, Diego A., Yurany Moreno, Camila Gho, Jorge L. Petro, Adrián Odriozola-Martínez, e Richard B. Kreider. «Effects of Ashwagandha (Withania Somnifera) on Physical Performance: Systematic Review and Bayesian Meta-Analysis». *Journal of Functional Morphology and Kinesiology* 6, fasc. 1 (11 febbraio 2021): 20.
- Brekhman, I.I.; Dardymov, I.V. New Substances of Plant Origin which Increase Nonspecific Resistance. *Annu. Rev. Pharmacol.* 1969, 9, 419–430
- Chandrasekhar S., Dayakar A., Veronica J., Sundar S., Maurya R., An in vitro study of apoptotic like death in *Leishmania donovani* promastigotes by withanolides, *Parasitol. Int* 62 (2013) 253-261.
- Cooper, K.H., 1968. A means of assessing maximal oxygen intake. *J. Am. Med. Assoc.* 203, 135–138.
- Dar, Nawab John, Shahnawaz Ali Bhat, Muneeb U. Rehman, e Anthony Booker. «Editorial: Investigating the Molecular Targets and Therapeutic Potential of Withania Somnifera (Ashwagandha) in Various Pathophysiological Conditions». *Frontiers in Pharmacology* 14 (2 maggio 2023): 1187334.
- Davis L., Kuttan G.. Effect of Withania somnifera on cell mediated immune responses in mice. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 21(4): 585-590 (2002)
- Ganguly B., Kumar N., Ahmad A. H., and Rastogi S. K., “Influence of phytochemical composition on in vitro antioxidant and reducing activities of Indian ginseng [Withania somnifera (L.) dunal] root extracts,” *Journal of Ginseng Research*, vol. 42, no. 4, pp. 463–469, 2018.
- Gupta, Girdhari Lal, e A C Rana. «PHCOG MAG.: Plant Review Withania Somnifera (Ashwagandha): A Review». *Pharmacognosy Reviews* 1, fasc. 1 (2007).

- Humaira Rizwana H., Al Hazzani A. A., Shehata A. I., and Moubayed N. M. S., "Antibacterial potential of *Withania somnifera* L. against human pathogenic bacteria," *African Journal of Microbiology Research*, vol. 6, no. 22, pp. 4810–4815, 2012.
- Iuvone T., Esposito G., Capasso F., Izzo A. Induction of nitric oxide synthase expression by *Withania somnifera* in macrophages. *Life Sci.* 72(14): 1617-1625 (2003)
- Konar A., Shah N., Singh R., Saxena N., Kaul S. C., Wadhwa R., Thakur M. K., Protective role of Ashwagandha leaf extract and its component withanone on scopolamine-induced changes in the brain and brain-derived cells, *PLoS One* 6 (2011) 27265.
- Kuboyama T., Tohda C., Zhao J., Nakamura N., Hattori M., Komatsu K., Axon- or dendrite-predominant outgrowth induced by constituents from Ashwagandha, *NeuroReport* 13 (2002) 1715-1720.
- Kumar D., Kashyap S. K., and Maherchandani S., "Antibacterial activity of some plant extracts," *Veterinary Practitioner Bikaner*, vol. 10, pp. 148–151, 2009.
- Kurapati K.R.V., Atluri V.S.R., Samikkannu T., Nair M.P.N., Ashwagandha (*Withania Somnifera*) Reverse β -amyloid 1-42 INDuced Toxicity in Human Neuronal Cells: Implications in HIV-Associated Neurocognitive Disorders (HAND), *PLoS One* 8 (2013) 77624.
- Langade, D.; Kanchi, S.; Salve, J.; Debnath, K.; Ambegaokar, D. Efficacy and Safety of Ashwagandha (*Withania somnifera*) Root Extract in Insomnia and Anxiety: A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Study. *Cureus* 2019, 11
- Lee, Da-Hye, Jiyun Ahn, Young-Jin Jang, Hyo-Deok Seo, Tae-Youl Ha, Min Jung Kim, Yang Hoon Huh, e Chang Hwa Jung. «*Withania Somnifera* Extract Enhances Energy Expenditure via Improving Mitochondrial Function in Adipose Tissue and Skeletal Muscle». *Nutrients* 12, fasc. 2 (7 febbraio 2020): 431.
- Malhotra C.L., Das P.K., Dhalla N.S., Prasad K.. Studies on *Withania ashwagandha*, Kaul. III. The effect of total alkaloids on the cardiovascular system and respiration. *Indian J. Med. Res.* 49: 448-460 (1981).
- Malik, A.; Mehta, V.; Dahiya, V. Effect of ashwagandha (*withania somnifera*) root powder supplementation on the vo2 max. and hemoglobin in hockey players. *Int. J. Behav. Soc. Mov. Sci.* 2013, 2, 91–99.
- Melo, De Adriana, De Melo André Luiz, Marcucci Maria Cristina, De Carvalho Claudemir, e Passarelli Gonçalves Carolina. «Immunomodulatory Activity in Tumor-Bearing Mice Treated with *Withania Somnifera* Extract». *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research* 10, fasc. 2 (12 aprile 2021): 82–91.

- Midgley, A.W.; McNaughton, L.R.; Wilkinson, M. Is there an optimal training intensity for enhancing the maximal oxygen uptake of distance runners? Empirical research findings, current opinions, physiological rationale and practical recommendations. *Sports Med.* 2006, 36, 117–132
- Mohanty I., Arya D.S., Gupta S.K., Withania Somnifera provides cardioprotection and attenuates ischemia-reperfusion induced apoptosis, *Clin. Nutr.* 27 (2008) 635-642.
- Nile, S.H.; Nile, A.; Gansukh, E.; Baskar, V.; Kai, G. Subcritical water extraction of withanosides and withanolides from ashwagandha (*Withania somnifera* L) and their biological activities. *Food Chem. Toxicol.* 2019, 132, 1106592
- Noakes T. (2001) Lore of running, *Human Kinetics* (Cape Town), pp. 25-27
- Panda S. and Kar A., “Changes in thyroid hormone concentrations after administration of ashwagandha root extract to adult male mice,” *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 50, no. 9, pp. 1065–1068, 2011
- Patel, K., Singh, R. B., and Patel, D. K. (2013). Pharmacological and analytical aspects of withaferin A: A concise report of current scientific literature. *Asian Pac. J. Reproduction* 2 (3), 238–243. doi:10.1016/S2305-0500(13)60154-2
- Paul, Subhabrata, Shreya Chakraborty, Utpal Anand, Swarnali Dey, Samapika Nandy, Mimosa Ghorai, Suchismita Chatterjee Saha, et al. «*Withania Somnifera* (L.) Dunal (Ashwagandha): A Comprehensive Review on Ethnopharmacology, Pharmacotherapeutics, Biomedicinal and Toxicological Aspects». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 143 (novembre 2021): 112175.
- Pérez-Gómez, Jorge, Santos Villafaina, José Carmelo Adsuar, Eugenio Merellano-Navarro, e Daniel Collado-Mateo. «Effects of Ashwagandha (*Withania Somnifera*) on VO₂max: A Systematic Review and Meta-Analysis». *Nutrients* 12, fasc. 4 (17 aprile 2020): 1119.
- Raut, A.; Rege, N.; Shirolkar, S.; Pandey, S.; Tadvi, F.; Solanki, P.; Vaidya, R.; Vaidya, A.; Kene, K. Exploratory study to evaluate tolerability, safety, and activity of Ashwagandha (*Withania somnifera*) in healthy volunteers. *J. Ayurveda Integr. Med.* 2012, 3, 111.
- Samir H., Abbas M. S., Soliman A. S., and Lotfy R. A., “Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic activities of some plants species derived from the northwestern coast of Egypt,” *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, vol. 9, pp. 82–94, 2018
- Sharifi-Rad, Javad, Cristina Quispe, Seyed Abdulmajid Ayatollahi, Farzad Kobarfard, Mariola Staniak, Anna Stępień, Katarzyna Czopek, et al. «Chemical Composition, Biological Activity, and Health-Promoting Effects of *Withania Somnifera* for Pharma-Food Industry Applications». A cura di Sobhy El-Sohaimy. *Journal of Food Quality* 2021 (29 dicembre 2021): 1–14.

- Sharma, S., Sharma, V. E. E. N. A., Pracheta, S. S., and Sharma, S. H. (2011).
Therapeutic potential of hydromethanolic root extract of *Withania somnifera* on neurological parameters in Swiss albino mice subjected to lead nitrate. *Int. J. Curr. Pharm. Res.* 3 (2), 52–56.
- Shukla K., Dikshit P., Shukla R., Sharma S., and Gambhir J. K., “Hypolipidemic and antioxidant activity of aqueous extract of fruit of *Withania coagulans* (stocks) dunal in cholesterol-fed hyperlipidemic rabbit model,” *Indian Journal of Experimental Biology*, vol. 52, pp. 870–875, 2014.
- Sumathi S. and Padma P. R., “Antioxidant status of different parts of *Withania somnifera*,” *Plant Archives*, vol. 8, pp. 69–72, 2008
- Tiwari, Shashank, Sandeep Kumar Gupta, e Anklesh Kumar Pathak. «A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial on the Effect of Ashwagandha (*Withania Somnifera* Dunal.) Root Extract in Improving Cardiorespiratory Endurance and Recovery in Healthy Athletic Adults». *Journal of Ethnopharmacology* 272 (maggio 2021): 113929.
- Yakovlev NN. Survey on sport biochemistry [in Russian]. Moscow: FiS Publisher, 1955
- Ziauddin, M.; Phansalkar, N.; Patki, P.; Diwanay, S.; Patwardhan, B. Studies on the immunomodulatory effects of Ashwagandha. *J. Ethnopharmacol.* 1996, 50, 69–76.2
- Ziegenfuss, Tim, Anurag Kedia, Jennifer Sandrock, Betsy Raub, Chad Kerksick, e Hector Lopez. «Effects of an Aqueous Extract of *Withania Somnifera* on Strength Training Adaptations and Recovery: The STAR Trial». *Nutrients* 10, fasc. 11 (20 novembre 2018): 1807.