



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "FORO ITALICO"

Nome: LAURA SIRENO

Dottorato di ricerca: SCIENZE DEL MOVIMENTO UMANO E DELLO SPORT

Ciclo/Anno: 38° CICLO – A.A. 2024/2025

## ABSTRACT (INGLESE)

### EXERCISE-INDUCED ADAPTATIONS: ROLE OF THE MOLECULAR CROSS-TALK MEDIATED BY EXTRACELLULAR VESICLES (EVs)

Regular physical activity is a potent physiological stimulus that promotes beneficial adaptations across multiple tissues. Central to these effects is the redox signaling, whereby reactive oxygen species (ROS), particularly hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), act as tightly regulated second messengers rather than merely harmful metabolic by-products. Within a physiological range, exercise-induced ROS link muscle contraction to the activation of transcriptional programs governing antioxidant defense, mitochondrial biogenesis, metabolic remodeling, and cell survival. Increasing evidence also identifies extracellular vesicles (EVs) as critical mediators of exercise-induced intercellular communication, enabling the transfer of bioactive cargo, such as proteins, lipids, and microRNAs (miRNAs), to coordinate local and systemic adaptations. This PhD thesis investigates the interplay between physical activity, redox signaling, and EV-mediated communication related to systemic adaptations, with a primary focus on skeletal muscle tissue. Through original experimental studies combined with narrative and systematic reviews and meta-analytical approaches, this work examines how controlled exercise-induced redox perturbations regulate EV biogenesis, molecular cargo, and biological function, and how these processes contribute to cellular resilience and whole-body homeostasis. Experimental findings demonstrate that physiologically relevant  $H_2O_2$ -mediated redox changes differentially modulate EV biogenesis according to muscle cell differentiation status. Differentiated myotubes respond to controlled oxidative stimuli with enhanced EV release and activation of vesiculation pathways, supporting the concept that mature muscle fibers are a principal source of exercise-induced EVs. In contrast, proliferating myoblasts show display an attenuated EV secretory response due to heightened sensitivity to oxidative stress, prioritizing redox protection and survival over intercellular signaling. Consistently, excessive oxidative stress severely compromises myoblast redox balance, viability, and proliferative capacity; however, treatment with *Moringa oleifera* leaf extract effectively counteracts these effects by enhancing antioxidant defenses, and preserving regenerative potential, thereby highlighting the relevance of nutritional strategies in supporting redox homeostasis and muscle adaptation. At the systemic level, exercise-induced redox signaling contributes to the regulation of whole-body homeostasis, with ROS exerting a dual and context-dependent role across multiple tissues. While excessive oxidative stress is associated with cellular dysfunction, appropriately dosed physical activity enhances endogenous antioxidant defenses and supports physiological function. This balance is particularly critical in redox-sensitive systems, such as the male reproductive axis, where controlled ROS signaling is required for spermatogenesis, whereas redox imbalance promotes testicular dysfunction and impaired sperm quality. Finally, a systematic review and meta-analysis reveal that EV-derived miRNAs significantly reduce intracellular ROS and lipid peroxidation in recipient tissues while increasing antioxidant enzyme activity, identifying EV-associated miRNAs as epigenetic regulators of redox balance that support healthy aging and mitigate the onset and progression of several diseases. Overall, this thesis presents a comprehensive model in which exercise-induced redox signaling links intracellular adaptation to EV-mediated intercellular communication. By showing that ROS modulate EV biogenesis and cargo composition, this work identifies EVs as central conveyors of redox information from muscle and other organs to distant tissues. Notably, the redox sensitivity of EV content highlights their potential as accessible biomarkers of oxidative stress-related conditions, supporting the development of personalized, exercise-based strategies aimed at preserving and promoting human health and well-being.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "FORO ITALICO"

## ABSTRACT (ITALIANO)

### ADATTAMENTI INDOTTI DALL'ESERCIZIO FISICO: RUOLO DEL CROSS-TALK MOLECOLARE MEDIATO DALLE VESICOLE EXTRACELLULARI (EV)

L'attività fisica regolare rappresenta un potente stimolo fisiologico capace di indurre adattamenti benefici in numerosi tessuti e organi. Alla base di tali effetti vi è la segnalazione redox, attraverso la quale le specie reattive dell'ossigeno (ROS), in particolare il perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), svolgono il ruolo di secondi messaggeri finemente regolati, piuttosto che di semplici sottoprodotti dannosi del metabolismo. Entro un intervallo fisiologico, i ROS generati durante l'esercizio fisico collegano la contrazione muscolare all'attivazione di programmi trascrizionali coinvolti nel potenziamento delle difese antiossidanti, nella biogenesi mitocondriale, nel rimodellamento metabolico e nella sopravvivenza cellulare. Parallelamente, un numero crescente di evidenze identifica le vescicole extracellulari (EVs) come mediatori chiave della comunicazione intercellulare indotta dall'esercizio, grazie alla loro capacità di veicolare molecole bioattive, tra cui proteine, lipidi e microRNA (miRNA), coordinando risposte adattative a livello locale e sistemico. Questa tesi di dottorato analizza l'interazione tra attività fisica, segnalazione redox e comunicazione mediata dalle EV in relazione agli adattamenti sistemici, con particolare attenzione al tessuto muscolare scheletrico. Attraverso studi sperimentali originali, affiancati da revisioni narrative e sistematiche e da approcci meta-analitici, il lavoro indaga come perturbazioni redox controllate indotte dall'esercizio regolino la biogenesi delle EV, la composizione del loro carico molecolare e la loro funzione biologica, contribuendo alla resilienza cellulare e al mantenimento dell'omeostasi dell'intero organismo. I risultati sperimentali mostrano che variazioni redox fisiologicamente rilevanti, mediate da  $H_2O_2$ , modulano in modo differenziale la biogenesi e il rilascio delle EV in funzione dello stato di differenziamento delle cellule muscolari. I miotubi differenziati rispondono a stimoli ossidativi controllati con un aumento della secrezione di EVs e con l'attivazione di pathways di rilascio, a sostegno dell'ipotesi che le fibre muscolari mature rappresentino una delle principali fonti di EV indotte dall'esercizio fisico. Al contrario, i mioblasti proliferanti mostrano una risposta secretoria attenuata, riconducibile a una maggiore sensibilità allo stress ossidativo, che li porta a privilegiare la protezione dell'equilibrio redox e la sopravvivenza cellulare rispetto alla comunicazione intercellulare. Coerentemente, condizioni di stress ossidativo eccessivo compromettono in modo significativo l'omeostasi redox, la vitalità e la capacità proliferativa dei mioblasti; tuttavia, il trattamento con estratto di foglie di *Moringa oleifera* risulta efficace nel contrastare tali effetti, potenziando le difese antiossidanti e preservando il potenziale rigenerativo. Questi risultati evidenziano il ruolo rilevante delle strategie nutrizionali nel supportare l'omeostasi redox e l'adattamento muscolare. A livello sistemico, la segnalazione redox indotta dall'esercizio contribuisce in maniera determinante alla regolazione dell'omeostasi dell'organismo, con i ROS che esercitano un ruolo duplice e dipendente dal contesto in diversi tessuti. Se uno stress ossidativo eccessivo è associato a disfunzioni cellulari, un'attività fisica adeguatamente dosata rafforza le difese antiossidanti endogene e sostiene la funzione fisiologica. Questo equilibrio risulta particolarmente critico nei sistemi sensibili al redox, come l'asse riproduttivo maschile, in cui una segnalazione ROS finemente controllata è essenziale per la spermatogenesi, mentre uno squilibrio redox favorisce disfunzioni testicolari e una riduzione della qualità spermatica. In tale contesto, una revisione sistematica con meta-analisi dimostra che i miRNA derivati dalle EV riducono significativamente i livelli intracellulari di ROS e la perossidazione lipidica nei tessuti bersaglio, aumentando al contempo l'attività degli enzimi antiossidanti. Ciò identifica i miRNA associati alle EV come regolatori epigenetici dell'equilibrio redox, in grado di sostenere un invecchiamento sano e di contrastare l'insorgenza e la progressione di diverse patologie legate allo stress ossidativo. Nel complesso, questa tesi propone un modello integrato in cui la segnalazione redox indotta dall'esercizio fisico connette gli adattamenti intracellulari alla comunicazione intercellulare mediata dalle EV. Dimostrando che i ROS modulano la biogenesi delle EV e la composizione del loro contenuto molecolare, questo lavoro identifica le EV come vettori centrali dell'informazione redox proveniente dal muscolo e da altri organi verso tessuti distanti. In particolare, la sensibilità del contenuto delle EV allo stato redox cellulare ne evidenzia il potenziale come biomarcatori di condizioni associate allo stress ossidativo, aprendo la strada allo sviluppo di strategie personalizzate basate sull'esercizio fisico finalizzate a preservare e promuovere la salute e il benessere umano.



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI ROMA "FORO ITALICO"