UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche L-13

Gli effetti dei campi elettromagnetici a bassa frequenza (ELF-EMF) sul muscolo scheletrico

The effects of low-frequency electromagnetic fields (ELF-EMF) on the skeletal muscle

Tesi di Laurea di:
Noemi Di Sinno

Docente referente
Chiar.mo Prof.
Maria Grazia Ortore

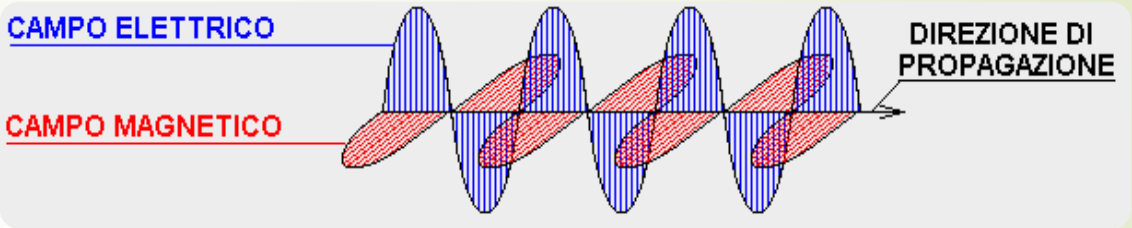
Correlatore
Chiar.mo Prof.
Maria Addolorata Mariggiò

Sessione Autunnale Dicembre 2020

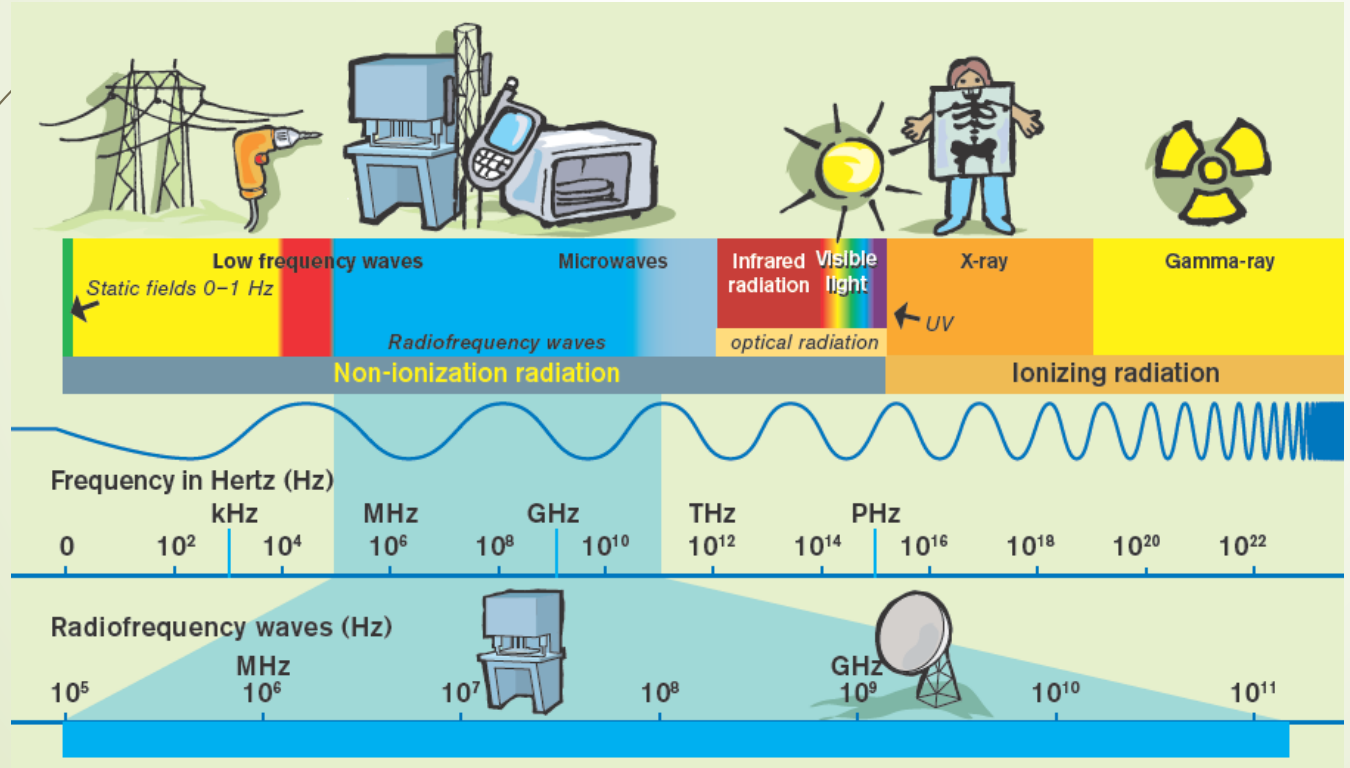
Anno Accademico 2019/2020

Campi elettromagnetici

Onda elettromagnetica



Spettro delle radiazioni elettromagnetiche



$$30 < \nu_{ELF-EMF} < 300 \ Hz$$

Frequenza →

← *Lunghezza d'onda*

ELF-EMF

EFFETTI DANNOSI

Elettrosmog

Agenti possibilmente cancerogeni Classe B2

- Leucemie infantili
- Malattie neurodegenerative
- Tumori del cervello negli adulti

EFFETTI TERAPEUTICI

Magnetoterapia

- **DERMATOLOGIA**
- **ORTOPEDIA e TRAUMATOLOGIA**
  (fratture, lesioni scheletriche degenerative, osteoporosi, artriti)
- **MEDICINA SPORTIVA**
  (tendiniti, strappi muscolari, distorsioni)

Meccanismi d'azione degli ELF-EMF ?

Canali del Ca^{2+}

Pompe Ca^{2+}

Scambiatore Ca^{2+}

Ca^{2+}

ROS- induced Ca^{2+}- release

Ca^{2+}- induced ROS- release

ROS

NADPH ossidasi
(reticolo endoplasmatico
Membrana plasmatica)

Mitocondri

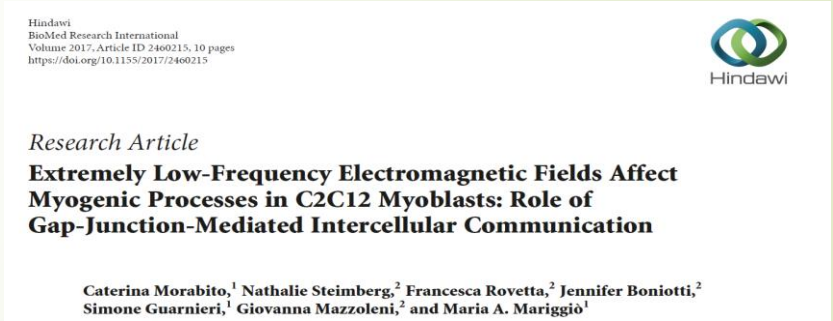
Proliferazione

Metabolismo mitocondriale

Sopravvivenza autofagia

Immuno-modulazione

metastasi



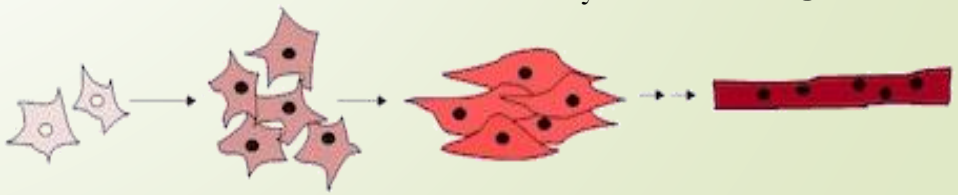
Hindawi
BioMed Research International
Volume 2017, Article ID 2460215, 10 pages
https://doi.org/10.1155/2017/2460215

Research Article

Extremely Low-Frequency Electromagnetic Fields Affect Myogenic Processes in C2C12 Myoblasts: Role of Gap-Junction-Mediated Intercellular Communication

Caterina Morabito,[1] Nathalie Steimberg,[2] Francesca Rovetta,[2] Jennifer Boniotti,[2] Simone Guarnieri,[1] Giovanna Mazzoleni,[2] and Maria A. Mariggiò[1]

ELF-EMF



L. Hardell, C. Sage /
Biomedicine & Pharmacotherapy (2008)
Maziarz et al. Stem Cell Research & Therapy (2016)

Scopo del lavoro

Comprendere gli effetti dell' esposizione a campi elettromagnetici a bassa frequenza (ELF-EMF) sul muscolo scheletrico

Protocollo sperimentale

✓ **Esposizione** 1h/die per 5 settimane di topi C57BL/6 maschi adulti sedentari:

- Intensità del campo magnetico di 0,1 mT e 1,0 mT → campi elettromagnetici generati da un solenoide collegato ad alimentatore
- Quattro gruppi sperimentali (maschi adulti di 3/4 mesi; maschi adulti di 3/4 mesi con dieta arricchita di un antiossidante -1mM NAC- ; 2 gruppi di controllo non esposti con analogo regime dietetico dei precedenti - SHAM-)

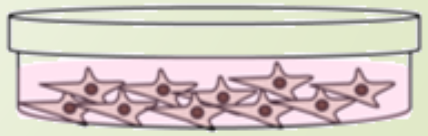
✓**Valutazioni in vivo** → controllo periodico di peso e capacità di generare forza muscolare

✓**Valutazioni ex vivo e in vitro** → prelievo e congelamento di muscoli delle zampe posteriori → Estrazione delle proteine

Modello animale

Topi C57BL/6 ♂

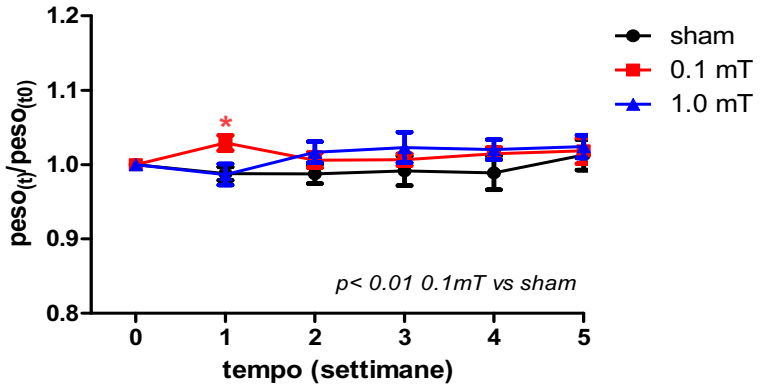
Cellule Satelliti

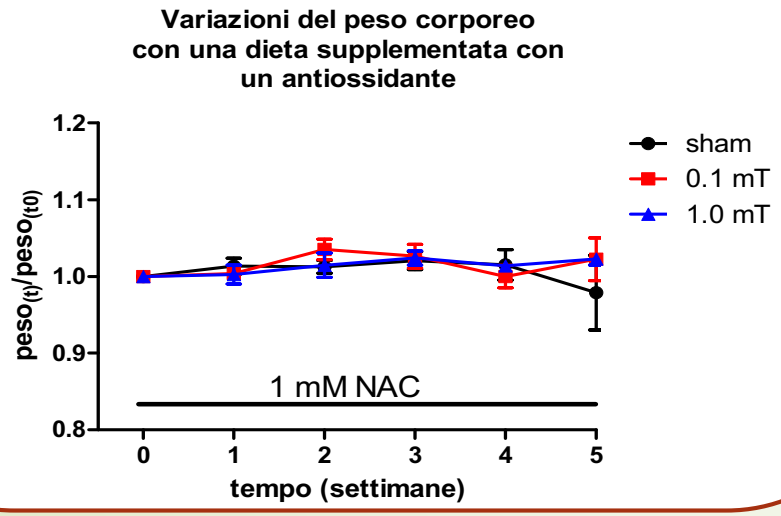


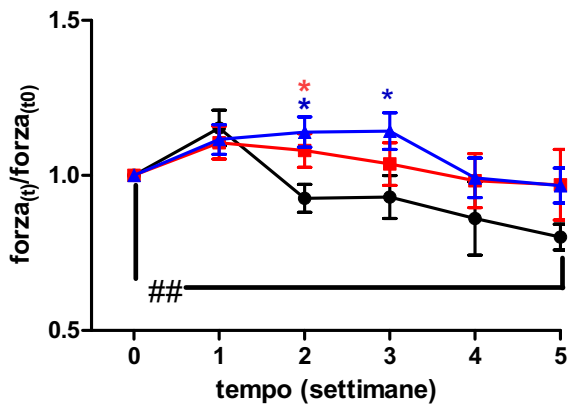
Valutazione del peso e della forza muscolare

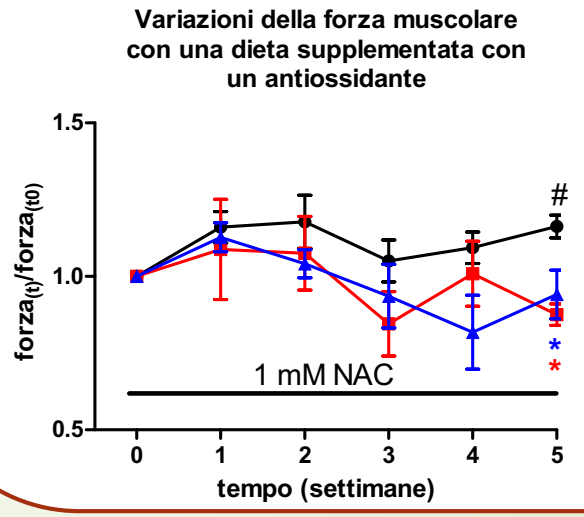
Settimane: 0 1 2 3 4 5

Grip test

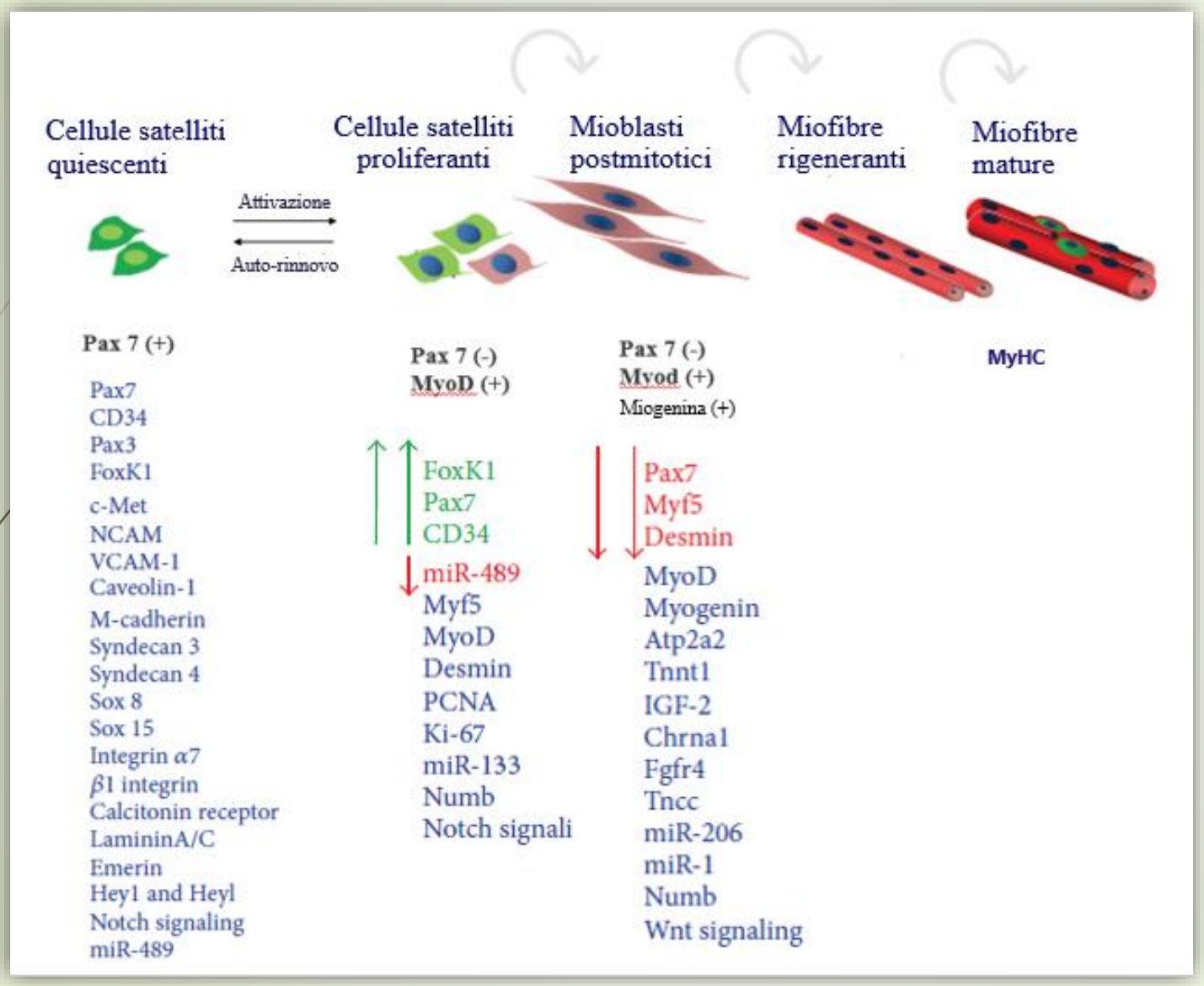




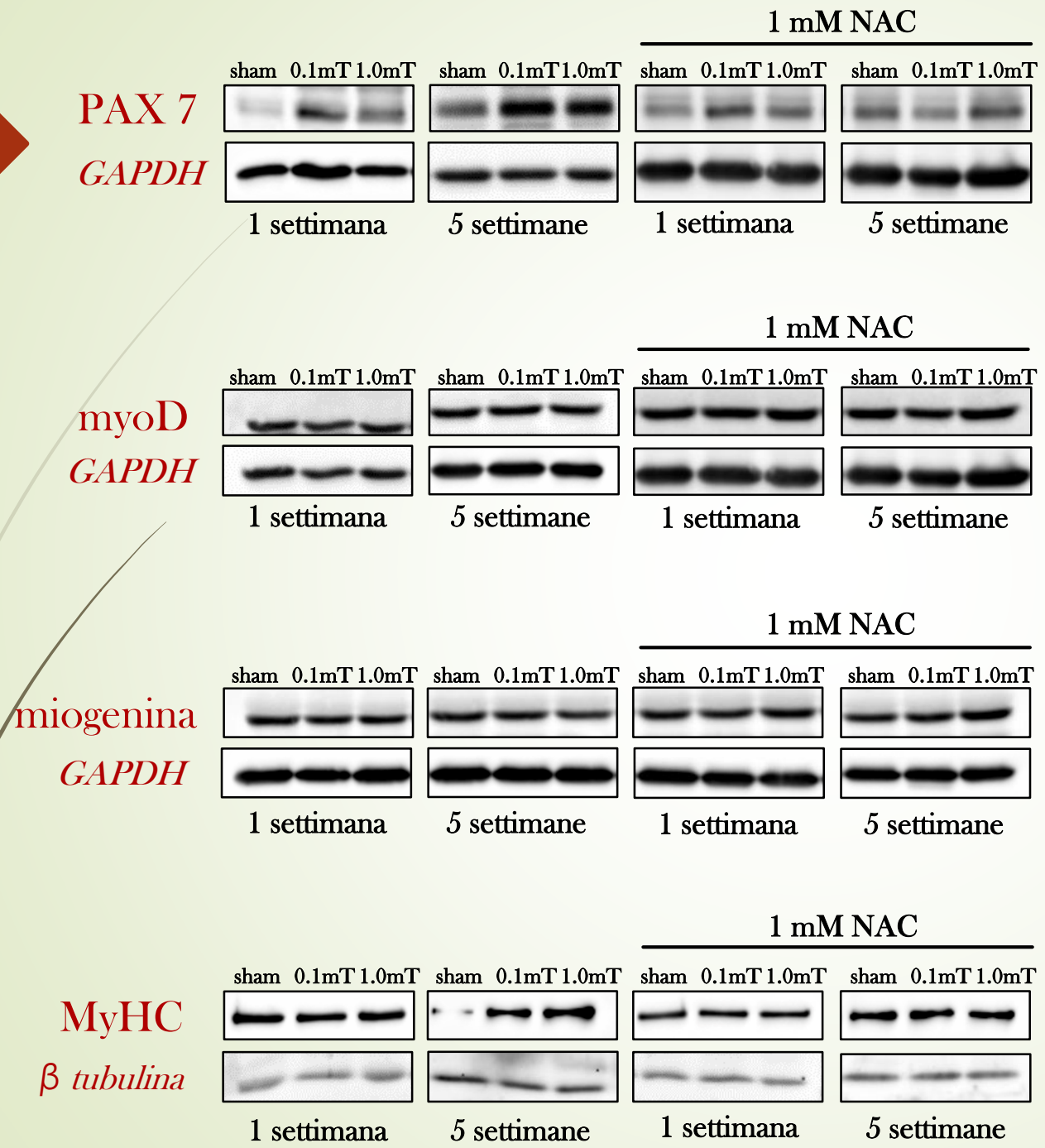


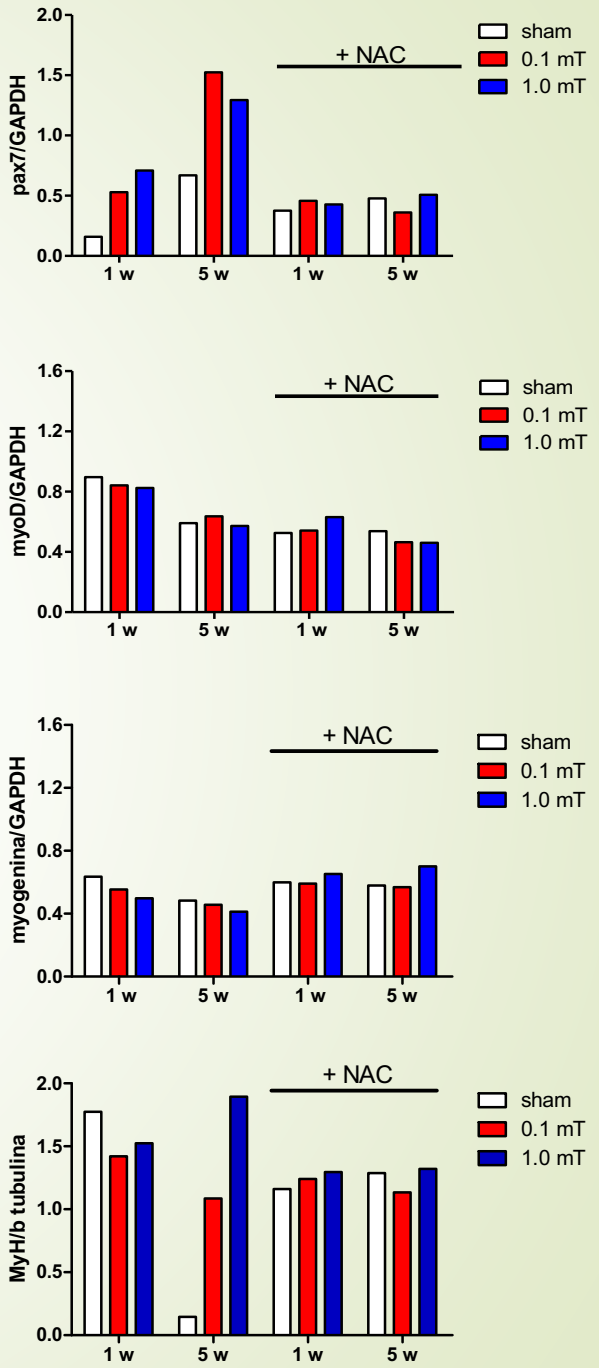


Differenziamento muscolare e markers



Da Musarò, Advances in Biology 2014 (http://dx.doi.org/10.1155/2014/612471)
And Fujimaki et al Stem Cells International Volume 2013


1 mM NAC
sham 0.1mT 1.0mT sham 0.1mT 1.0mT sham 0.1mT 1.0mT sham 0.1mT 1.0mT
PAX 7
GAPDH
1 settimana
5 settimane
1 settimana
5 settimane
myoD
GAPDH
miogenina
GAPDH
MyHC
β tubulina


pax7/GAPDH
myoD/GAPDH
myogenina/GAPDH
MyH/b tubulina
+ NAC
sham
0.1 mT
1.0 mT
1 w
5 w

Conclusioni

Esposizione di ♂ adulti sedentari di topi C57BL/6 a ELF-EMF (0,1 o 1,0 mT, 1 h/d - 5 settimane)

Aumento della forza muscolare

Condizione revertita nei soggetti esposti alimentati con dieta arricchita di NAC

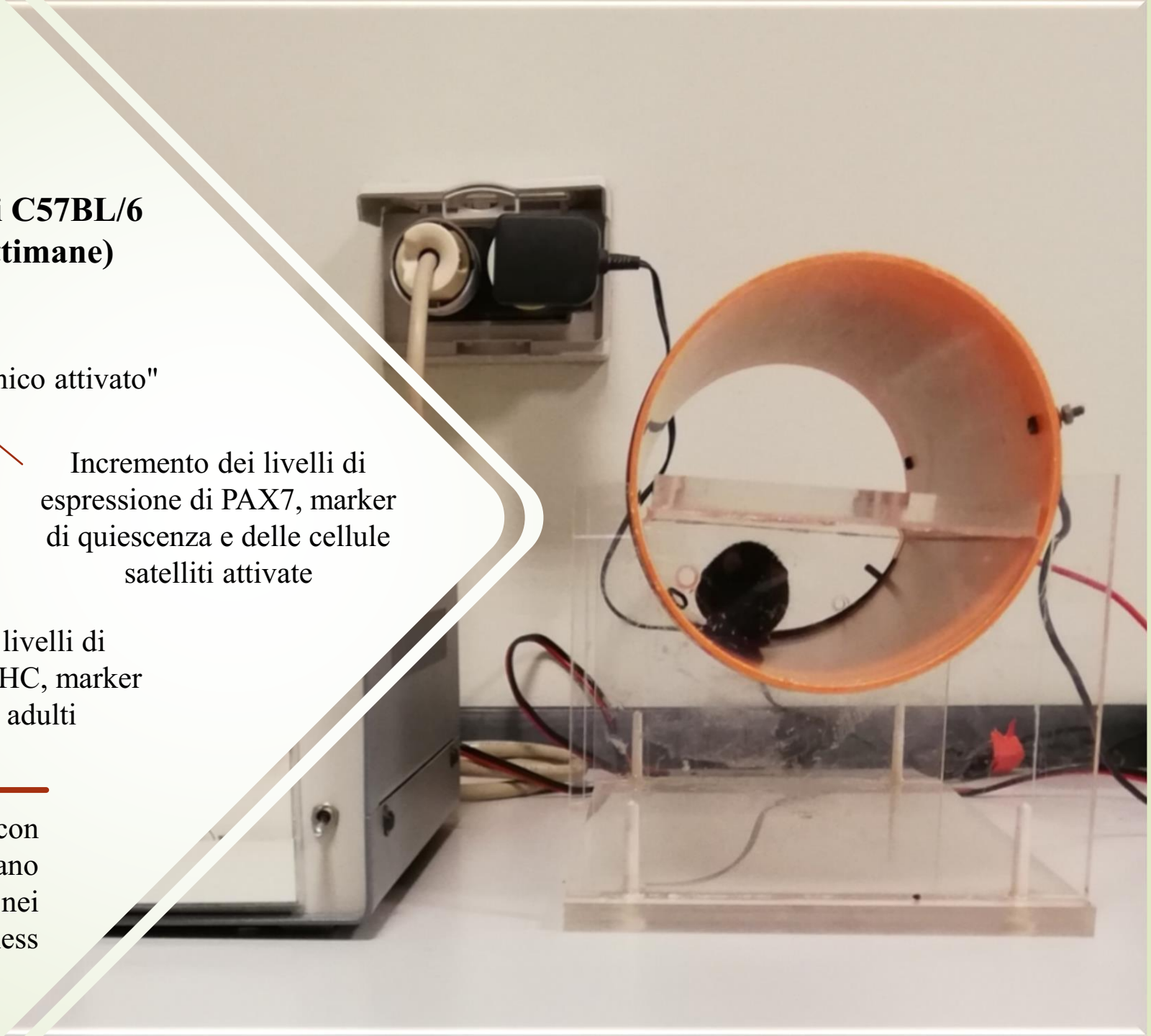
Nessuna influenza sul peso corporeo

"stato miogenico attivato"

Incremento dei livelli di espressione di MyHC, marker dei mioblasti adulti

Incremento dei livelli di espressione di PAX7, marker di quiescenza e delle cellule satelliti attivate

Questi risultati preliminari sono in accordo con quelli ottenuti nel modello in vitro e dimostrano come gli ELF-EMF possono apportare vantaggi nei topi adulti sedentari, migliorandone la fitness muscolare.



Riassunto

Nell'ultimo secolo, il continuo progresso tecnologico ha mosso la comunità scientifica ad indagare sui potenziali effetti delle radiazioni elettromagnetiche artificiali sui viventi. I campi elettromagnetici a frequenza estremamente bassa (ELF-EMF) prodotti da elettrodomestici, linee telefoniche e linee elettriche possono interagire con i sistemi biologici in due modalità che sono diametralmente opposte: da una parte essi si configurano come possibili agenti cancerogeni (classe B2); dall'altra, vengono utilizzati in ambito terapeutico nella pratica della magnetoterapia. I loro effetti curativi sono stati clinicamente riconosciuti, ma la rispettiva base scientifica ed i meccanismi d'azione che legano gli ELF-EMF e la materia vivente, sono ben lungi dall'essere conosciuti in modo esauriente.
A tal proposito, il lavoro svolto ha avuto come obiettivo principale quello di studiare le inferenze dei campi elettromagnetici ELF sul muscolo scheletrico. Precedentemente, nello stesso laboratorio, un'indagine simile era stata condotta su cellule C2C12, mioblasti di topo considerati un buon modello per riprodurre *in vitro* il processo di differenziamento muscolare scheletrico. In queste cellule, l'esposizione agli ELF-EMF aveva rivelato un' attivazione del sistema redox, una modulazione dell'omeostasi del calcio citoplasmatico e un'accelerazione del processo di differenziamento cellulare, verso i miotubi, mediato dall'aumento dell'espressione della connessina 43.
Nel nostro caso, il modello sperimentale è stato rappresentato da topi maschi adulti (3/4 mesi) sedentari C57BL/6 che, all'interno di un solenoide collegato ad alimentatore, sono stati esposti a campi elettromagnetici ELF con sedute di 1 h/die (circa il tempo di una seduta di magnetoterapia), ad intensità di campo di 0,1 mT e 1 mT, e per un periodo di 5 settimane. I campioni da esporre sono stati divisi in due gruppi: uno composto da soggetti adulti di 3/4 mesi e l'altro composto da soggetti adulti di 3/4 mesi con una dieta arricchita di un antiossidante (n-acetil cisteina, NAC); in aggiunta, altri due gruppi, con analogo regime dietetico, sono stati utilizzati come campioni di controllo non esposti (sham). Nella fase di sperimentazione, sia sui topi trattati sia su quelli di controllo, sono stati monitorati il peso e la capacità di generare forza; poi, a trattamento concluso, da ciascun animale sono stati prelevati i muscoli delle zampe posteriori utilizzati successivamente per lo studio dell'espressione di specifici marker proteici coinvolti nella rigenerazione muscolare (PAX7, MyoD, Miogenina, MyHC).
I risultati fin qui ottenuti con le analisi in vivo e gli indici di espressione dei markers del differenziamento, si sono rivelati in linea con quelli delle C2C12; abbiamo visto un aumento della forza muscolare e una maggiore espressione dei markers PAX7 e MyHC, sinonimo di un effetto promiogenico dei campi elettromagnetici ELF. Nei soggetti con regime dietetico supplementato di NAC , l'anti-ossidante, neutralizzando i ROS, si oppone all'effetto indotto dagli ELF-EMF; anche questo comportamento è in analogia a quanto osservato nelle C2C12 dove il *primum movens* intracellulare, attivato dagli ELF-EMF, era rappresentato da un aumento dei livelli di ROS.
In conclusione, possiamo affermare che l'esposizione ad ELF-EMF sia in grado di migliorare lo stato funzionale di muscoli e ciò si esprime con un aumento della forza generata.