

Presentazione progetto di ricerca: Valutazione del potenziale effetto protettivo delle onde elettromagnetiche a bassissima frequenza (ELF-EMF) sul rischio cardiovascolare.

MARIA TERESA CORSETTI, Alessandria
EDOARDO ROSSI, Genova
SAMIR SUKKAR, Genova
MAURIZIO GRANDI, Roma, Torino
EZIO GALLAS, Gorizia
SERGIO DE MARINIS, Brescia
GIUSEPPE VALLESI, Terni
GIULIANO ZANNI CAMPIOLI, Modena
ANDREA SIGNORINI, Verona
PATRIZIO CERVELLINI, Brescia

Background

L'invecchiamento può essere immaginato come un equilibrio tra i processi distruttivi che agiscono sulle cellule e sugli organi durante tutto l'arco vitale e le risposte biologiche che favoriscono l'omeostasi, la vitalità e la longevità. I meccanismi che determinano la velocità di invecchiamento degli organi e dei tessuti non sono conosciuti. Tuttavia è noto come le macromolecole siano esposte al continuo danno potenziale, perdendo la loro funzione molecolare. Una delle chiavi della risposta omeostatica che promuove la longevità è l'induzione del sistema delle Heat Shock Proteins (HSP), una reazione conservata fin dagli organismi inferiori che si attiva in presenza di proteine intracellulari danneggiate. Si tratta di proteine che secondo il concetto di "chaperones" espresso da Ellis favorirebbero le comunicazioni intercellulari e svolgerebbero un ruolo protettivo (Ellis RJ. *Proteins as molecular chaperones*. Nature 1987;328:378).

I Campi Elettromagnetici (Electromagnetic fields - EMF), a frequenze estremamente basse, (ELF - extremely low frequency) attivano a livello cellulare la risposta allo stress, un meccanismo protettivo che induce l'espressione dei geni di risposta allo stress come ad esempio le "heat shock proteins" tra cui HSP70 (Gottward E et al.: *Expression of HSP72 after ELF-EMF exposure in three cell lines*. Bioelectromagnetics 2007;28:509). Le diverse famiglie di proteine dello stress sono evolutivamente conservate e agiscono come riparatori in quanto ripristinano le macromolecole danneggiate. Sequenze specifiche del DNA nel promoter di HSP70 sono responsive ad EMF. Tale meccanismo è estremamente conservato nella filogenesi, in quanto è già dimostrabile nei Lieviti *Saccaromyces*. Le HSP sono state recentemente coinvolte anche nei processi di "aging" in quanto avrebbero un effetto protettivo nel mantenere l'omeostasi delle cellule e dei tessuti.

Gli ELF-EMF possono svolgere un ruolo protettivo sulle cellule stressate, oltre che attraverso la produzione delle HSP, anche attraverso la modulazione della produzione di enzimi cellulari atti alla protezione della cellula (Morelli et al. *Effects of extremely low frequency electromagnetic fields on membrane-associated enzymes*. Arch Biochem Biophys 2005;441:191 - Trebbi et al. *Extremely low frequency weak magnetic fields enhance resistance of NN tobacco plants to tobacco mosaic virus and elicit stress-related biochemical activities*. Bioelectromagnetics 2007;28:214).

Nella popolazione generale sono stati individuati dei markers biologici che correlano l'aging fisiologico ad un aumentato rischio di sviluppare patologie croniche degenerative come quelle Cardiovascolari.

SEQEX e stress ossidativo

SEQEX è una apparecchiatura elettromedicale costituita da un apparato computerizzato connesso ad un materassino contenente bobine in grado di produrre campi elettromagnetici a bassissima frequenza (ELF-EMF). Il paziente si sdraia sul materassino normalmente vestito e, durante il test iniziale, viene connesso con quattro elettrodi all'apparecchiatura per la misurazione impedenziometrica della risposta cellulare all'onda somministrata. SEQEX è in grado di generare una serie di onde ELF-EMF di diversa morfologia, intensità e frequenza. L'apparato può produrre 30 tipi differenti di onde elettromagnetiche con intensità da 1 a 100 micro-tesla (mT) e con frequenza da 1 a 100 Hz. La scelta del tipo di onda elettromagnetica, cui sottoporre il paziente nelle sedute successive al test iniziale, viene operata dall'apparato computerizzato sulla base della risposta biologica prodotta da ogni onda elettromagnetica somministrata al paziente. La risposta viene valutata e memorizzata dal computer in tempo reale e consiste nella variazione della concentrazione ionica tissutale, che avviene a seguito dell'applicazione di ogni singola onda, misurata con l'impedenziometro collegato al paziente. Le onde che producono un maggior movimento ionico, e pertanto una maggior risonanza magnetica ciclotronica, vengono scelte dal computer e successivamente salvate su una scheda magnetica per essere utilizzate nelle successive sedute.

In uno studio condotto presso l'Università di Perugia, Ruggero Rossi et al. sottoposero 32 volontari sani ad un ciclo di terapia con SEQEX di quattro settimane. Lo scopo dello studio era quello di valutare le variazioni dello stress ossidativo nel corso del trattamento attraverso la misurazione della Malonildialdeide nel sangue periferico. Su ogni soggetto sono state eseguite tre misurazioni dello stress ossidativo: prima dell'inizio del trattamento, alla fine dello stesso e dopo un mese dal termine. La terapia SEQEX ha indotto sui volontari un decremento del 58,31% del valore medio della Malonildialdeide ($p=0,0002$) dimostrando di possedere un'attività antiossidante. Gli autori osservano sui volontari, più che una riduzione dello stress ossidativo, un riequilibrio dello stato ossido-reduttivo (Vallesi G., Raggi F., Ruffini F. et al.: *Effects of cyclotronic ion resonance on human metabolic processes: a clinical trial and one case report*. *Electromagn Biol Med* 2007;26:283-8). Sonia M. de Toledo et al. rilevarono un aumento del glutatone, un potente antiossidante endogeno, in cellule sottoposte a basse dosi radianti (*Radiation Research* 2006; 166:849)

Questi meccanismi d'azione degli ELF-EMF rientrano nel concetto di "radiation hormesis" dimostrato in numerosi studi in laboratorio (Calabrese EJ et al. *Toxicology rethinks its central belief*. *Nature* 2003;421:691) e che hanno alla base fisica il principio della Ionorisonanza Ciclotronica dimostrato da Abraham Liboff nel 1980. Liboff dimostrò che eccitando le particelle ioniche alla frequenza del ciclotrone con ELF-EMF si ottengono effetti biologici importanti in quanto in grado di influenzare e stimolare il metabolismo delle cellule grazie ad un fluire di ioni attraverso le membrane cellulari. Tale teoria è stata ulteriormente validata anche negli organismi complessi, come il corpo umano, da G. Preparata nel 2002, adottando il principio dei "domini di coerenza". Questo rileva che, negli organismi complessi, gli ioni attivati dalla ionorisonanza magnetica si possono muovere senza collisioni seguendo orbite circolari.

I benefici effetti clinici dell'utilizzo di SEQEX quale terapia di supporto nei pazienti sottoposti a chemioterapia, sono stati dimostrati in uno studio condotto presso la Divisione di Ematologia dell'Ospedale S. Martino di Genova (Rossi E, Corsetti MT, Sukkar S, et al: *Extremely low frequency electromagnetic fields prevent chemotherapy induced myelotoxicity*. *Electromagn Biol Med* 2007;26:277-8).

Progetto scientifico

L'effetto protettivo di Seqex dai danni provocati dai radicali liberi è stato individuato negli studi precedentemente citati. Il meccanismo biologico al momento non è noto, abbiamo comunque accennato ad alcune ipotesi che potrebbero essere alla sua base, infatti studi che hanno impiegato gli EMF-ELF in vari sistemi biologici hanno mostrato un effetto protettivo attraverso l'induzione dell'espressione di varie proteine tra cui HSP, enzimi ed altro. In considerazione del fatto che i danni da ROS sono un evento generale nella patologia umana, anche in fenomeni come l'invecchiamento, è di sicuro interesse vedere l'effetto della terapia di risonanza con Seqex sui fattori di rischio associati a patologie tipiche dell'invecchiamento come ad esempio le patologie cardiovascolari ed infiammatorie croniche.

Negli ultimi anni diversi marcatori bio-umoralmente sono stati utilizzati per rilevare il rischio di patologie cardiovascolari ed in genere di patologie degenerative nella popolazione generale. Tali marcatori sono costituiti da fattori umorali in gran parte rilevabili attraverso esami ematici di routine e perciò studiati in vaste casistiche.

1) Fibrinogeno: l'elevata iperfibrinogenemia, che rappresenta il bilancio emostatico ed infiammatorio, è considerato un fattore protrombotico ed è stato correlato ad un maggior grado di arteriosclerosi, malattia cardiovascolare sub-clinica, prognosi di malattia coronarica ed infarto ischemico. Recentemente il fibrinogeno è stato associato anche a ictus emorragico.

2) PCR: indice di flogosi aspecifico, anch'esso correlabile a flogosi sub-cliniche ed associato a patologia degenerativa e cardiovascolare.

3) DiDimero e fatt. VIII: indici di emostasi associati a rischio cardiovascolare.

4) Omocisteina: aumentata in malattie infiammatorie croniche, uno dei fattori di rischio cardiovascolari più noti.

5) Acido-urico: Gli elevati livelli sierici di acido urico si associano ad uno stato pro-infiammatorio sistemico, all'aumento di proteina C-reattiva (PCR), alla disfunzione endoteliale, all'ipertensione ed alle malattie cardiovascolari. L'iperuricemia è considerata un fattore di rischio di mortalità soprattutto nelle donne, negli anziani e nei soggetti ad elevato rischio cardiovascolare o affetti da preesistenti malattie cardiovascolari.

6) Interleuchina-6: Elevati livelli di IL-6 sono stati associati a peggiore outcome nei pazienti con infarto cardiaco, maggiore probabilità di ricaduta nelle pazienti con Carcinoma del seno e dell'ovaio, peggiori performance cognitive nell'anziano. Tale citochina ha una valenza generale quale indice flogistico e peggioratore di prognosi in parecchie patologie degenerative tra cui neoplasie, demenze senili e patologia cardiovascolare in genere.

7) TNF: citochina infiammatoria analoga alla precedente.

In questo studio si vuole valutare la variazione dei marcatori di rischio indicati dopo terapia con Seqex. I fattori scelti sono quelli selezionati sulla base della letteratura internazionale con ampie casistiche. A tali indicatori sarà inoltre associato lo studio dei ROS. Per la valutazione dello stress ossidativo, dell'IL-6 e TNF, trattandosi di esami non routinari, è previsto il congelamento, lo stoccaggio del siero dei pazienti a -20°C e la successiva valutazione in un Laboratorio di riferimento.

Obiettivi dello studio

Obiettivo primario:

Valutazione della variazione dei parametri di laboratorio espressivi del rischio di patologia cardiovascolare in soggetti senza patologie attive, ma con più di un fattore di rischio

cardiovascolare, e/o in soggetti portatori di neoplasia e trattati con chemioterapia e/o radioterapia, in remissione stabile da almeno un anno al momento dell'inizio del trattamento, e/o in soggetti portatori di patologie degenerative in fase di stabilità. Sappiamo che le due ultime popolazioni hanno un maggior rischio di sviluppare una patologia cardiovascolare.

Obiettivi secondari:

- Valutazione della "Quality of Life" con questionario autocompilato
- Valutazione dell'astenia con il questionario per la Fatigue (autocompilato)
- Valutazione dell'aderenza allo studio da parte dei soggetti arruolati
- Valutazione della sicurezza del trattamento
- Valutazione della variazione dei seguenti parametri: emocromo, colesterolo, HDL-LDL, trigliceridi, glicemia, azotemia, creatinina, AST-ALT, GGT, ALP, pressione arteriosa
- Valutazione della variazione dello stress ossidativo

Criteri di inclusione:

- Soggetti portatori di più di un fattore di rischio cardiovascolare, come obesità, diabete, ipertensione, ipercolesterolemia, fumo (>10sigarette/die)
- Soggetti pre-trattati per patologia neoplastica in remissione stabile di malattia (almeno un anno)
- Soggetti affetti da patologie croniche (es. diabete, connettiviti, insufficienza renale etc.) in fase di stabilità di malattia
- ECOG Performance status ≤ 1
- Età compresa tra 30 e 70 anni
- Consenso informato

Criteri di esclusione:

- Soggetti affetti da patologie croniche e neoplastiche instabili o in fase di chemioterapia
- Interventi chirurgici maggiori a meno di 2 mesi o con problematiche derivanti ancora attive
- Soggetti con infezioni in atto.

Disegno dello studio

Cinquanta soggetti con le caratteristiche indicate saranno arruolati a partire dal maggio 2010. Ogni soggetto sarà sottoposto a:

1. Valutazione iniziale

- Esame obiettivo con PA, FC, PS, raccolta storia clinica, test QoL e Fatigue
- Esami di laboratorio: emocromo, colesterolo, HDL-LDL, trigliceridi, glicemia, azotemia, creatinina, AST-ALT, GGT, ALP, coagulazione con Fibrinogeno, Didimero, PCR, Acido Urico, Fattore VIII, omocisteina.
- Raccolta campioni ematici per Interleuchina 6, TNF e valutazione stress ossidativo (i campioni raccolti saranno centralizzati in Laboratorio di riferimento per l'esecuzione centralizzata di tali esami).

2. Trattamento con Seqex

- Programmazione scheda Seqex Automatico programma "Rigenerazione"
- Pianificazione sedute con 2 sedute settimanali di 27 minuti per 8 settimane
- In presenza di fatti flogistici lievi il programma sarà prolungato fino a risoluzione dell'evento e per altre 2 settimane.

3. Valutazione finale

- Dopo il completamento delle sedute con Seqex il soggetto sarà rivalutato secondo quanto stabilito al punto 1

4. Follow-up a 2 mesi

- Il soggetto sarà rivalutato dopo 2 mesi come al punto 1.