

Effetti biologici in-vitro delle radiazioni Wi-Fi e Wi-Max ambientali

Risultati preliminari di ricerca
31.12.2014



**Ricerca condotta con il finanziamento dell'Otto per Mille della Chiesa Valdese
dall'Associazione Malattie da Intossicazione Cronica e/o Ambientale (A.M.I.C.A.)**

Autori:

Fiorenzo Marinelli, Istituto di Genetica Molecolare del CNR, Bologna
Prof. Ian Marc Bonapace, Università dell'Insubria, Busto Arsizio (VA)
Prof. Mario Barteri, Università La Sapienza, Roma

A cura di Francesca Romana Orlando, giornalista e Vice Presidente di A.M.I.C.A.

www.infoamica.it

Si ringraziano la Dott.ssa Nicoletta Zini e la Dott.ssa Despina Kiriakidu dell'IGM-CNR di Bologna per la preparazione dei campioni in microscopia ottica ed elettronica.
Si ringraziano la Dott.ssa Monica Mancini e la Dott.ssa Martini Mandruzzato del Dipartimento di Scienze Teoriche e Applicate dell'Università dell'Insubria per aver collaborato alle analisi genetiche.
Un ringraziamento al Dott. Ivano Lonigro per la collaborazione alle sperimentazioni nella provincia di Roma.

Si ringraziano sentitamente i dirigenti scolastici, i professori, i dirigenti di biblioteca e gli amministratori pubblici che hanno permesso la realizzazione di questo studio, aprendoci le porte delle scuole e delle biblioteche per consentirci di effettuare le misurazioni del campo elettromagnetico emesso dagli impianti Wi-Fi e di condurre le sperimentazioni biologiche.
Un ringraziamento particolare al Sindaco di Pomezia Fabio Fucci che ha aderito ufficialmente a questa iniziativa adoperandosi concretamente per la sua realizzazione.

INDICE

1. Introduzione	pag. 4
2. Materiali e metodi	pag. 8
3. Risultati dei test sulla vitalità cellulare	
3.1 Misurazioni	pag.10
3.2 Risultati dei test di proliferazione	pag.12
3.3 Risultati analisi morfologica e microscopia ottica elettronica	pag.13
3.4 Risultati Wi-Max	pag.14
4. Analisi epigenetiche	pag.16
5. Dosimetria negli elettrosensibili	pag.17
6. Conclusioni	pag.18
7. Bibliografia	pag. 19

1. Introduzione

Wi-Fi significa "wireless fidelity" ovvero "fedeltà senza fili" e rappresenta un sistema di trasmissione di dati attraverso segnali a radiofrequenza pulsati per mettere in comunicazione tra loro computer, telefoni, tablet come anche giocattoli od elettrodomestici e più in generale oggetti dotati di microchip appositi per il comando a distanza.

Grazie al Wi-Fi si possono creare delle aree di accesso senza fili ad Internet, definite Land Area Networks (LAN) di circa 80-100 metri a seconda della potenza dell'antenna, definita "hot spot".

Negli ultimi cinque anni si osservano una larga diffusione di modem Wi-Fi nelle abitazioni e una proliferazione di LAN nei luoghi pubblici - come ristoranti, hotel, campeggi, spiagge, bar, aeroporti, centri commerciali, scuole e biblioteche, ecc. - che di fatto espongono la popolazione generale in modo ubiquitario alla radiofrequenza pulsata.

Attraverso la radiofrequenza del sistema Wi-Max che significa "Wireless interoperability for Microwave Access" ovvero "Interoperabilità senza fili per Accesso per mezzo di Micro-onde" si possono creare anche aree più vaste geografiche di accesso ad Internet senza fili, fino a 10-15 km dall'antenna. Questo sistema viene utilizzato soprattutto per le aree che non sono raggiunte da Internet via cavo, come quelle montane o nei paesi del Terzo Mondo.

La ricerca di A.M.I.C.A. ha inteso contribuire alla comprensione degli effetti biologici della radiofrequenza emessa da questi dispositivi, anche a livelli di esposizione ammessi dalla legge.

Gli studi specifici sugli effetti del Wi-Fi sono pochi, mentre quelli in generale sulla radiofrequenza sono ormai numerosi e delineano una valutazione del rischio che è, secondo gli autori (già firmatari della Risoluzione di Potenza Picena del 2013), sottostimata dalle agenzie di salute pubblica a livello nazionale e internazionale. Gli attuali standard di sicurezza, infatti, si basano esclusivamente sugli effetti termici dei campi elettromagnetici, ovvero sul riscaldamento prodotto sul tessuto vivente da questi campi. La letteratura scientifica ha ormai chiarito, però, che esistono innumerevoli effetti biologici dei campi elettromagnetici sulla materia vivente che avvengono per livelli di esposizione notevolmente inferiori a quelli che possono produrre calore, ovvero si tratta di effetti non termici.

Un'approfondita revisione della letteratura scientifica degli effetti non termici dei campi elettromagnetici è stata condotta dalla Commissione Internazionale per la Sicurezza dei Campi Elettromagnetici (ICEMS)¹ a cura di Livio Giuliani, portavoce ICEMS dirigente di Ricerca ex-ISPEL, e Morando Soffritti Presidente Onorario dell'Istituto di Ramazzini di Bologna. Tale pubblicazione è stata citata come riferimento scientifico prevalente dalla Risoluzione dell'Assemblea Plenaria del Consiglio d'Europa di cui si dirà nelle conclusioni.

Un'altra pubblicazione di riferimento per l'analisi degli effetti biologici, termici e non termici, dei campi elettromagnetici è il Rapporto Bioinitiative pubblicato nel 2007 da un gruppo di scienziati indipendenti che poi hanno pubblicato un aggiornamento nel 2012.

¹ www.icems.eu.

Il 19 giugno 2012 il Comitato Nazionale Russo per la Protezione dalle Radiazioni Non Ionizzanti ha prodotto una Raccomandazione di restringere l'uso del Wi-Fi negli asili e nelle scuole.

Dalle valutazioni di questi enti e da questi gruppi di scienziati indipendenti si evince che gli attuali standard internazionali non sono sufficienti a proteggere la salute pubblica e questo spinge la ricerca ad investigare gli effetti biologici e i meccanismi d'azione anche per livelli di esposizione molto bassi.

Meccanismi molecolari che consentano di rivelare il legame tra malattie umane e l'esposizione ai campi elettromagnetici non sono ancora stati definitivamente stabiliti. Nell'interazione dei campi elettromagnetici con i sistemi biologici sono stati presi in considerazione principalmente l'effetto calore e le azioni genotossiche. Recentemente, è stato dimostrato che i campi elettromagnetici possono causare stress ossidativo in determinate circostanze. Risultati recenti mostrano che questi campi producono alterazioni del ciclo cellulare, induzione di morte cellulare, modificazioni dell'espressione proteica e, soprattutto, stress ossidativo (Oktem F et al. 2005; Caraglia M et al. 2005; Friedman J et al. 2007).

Tra i meccanismi d'azione dei campi elettromagnetici sulla materia vivente a livelli di esposizione non termici quello più significativo è l'effetto Zhadin (1998) che, attraverso la sinergia di radiofrequenza e campi elettromagnetici a frequenze molto basse, comporta l'apertura dei canali di calcio cellulari per l'esposizione alla frequenza ciclotronica, e anche l'aumento di molti fattori relativi allo stress ossidativo che può rappresentare un meccanismo plausibile per molte patologie croniche, tumorali e degenerative riscontrate dagli studi epidemiologici (Zhadin M et al. 1998).

Uno studio del 2012 su ratti ha sollevato una seria preoccupazione per gli effetti dell'esposizione a Wi-Fi sulla fertilità negli organismi fertili e sulla integrità delle cellule spermatiche. Lo studio, infatti, ha osservato che l'esposizione a Wi-Fi produce un aumento dei livelli nel siero di 8-idrossi-2'-deossiguanosina e di 8-idrossiguanosina nei testicoli del gruppo esposto, indicando un danno al DNA dovuto all'esposizione al Wi-Fi ($p < 0.05$). Contestualmente, nel gruppo di ratti esposti, sono stati trovati anche livelli più bassi di catalasi e di glutatione perossidasi che potrebbero essere dovuti all'effetto sull'attività enzimatica della radiofrequenza ($p < 0.05$) (Atasoy HI et al. 2012).

Nello stesso anno un altro studio ha evidenziato che il gruppo di soggetti che avevano usato per 4 ore al giorno un computer portatile connesso ad Internet con Wi-Fi presentavano una riduzione significativa della motilità spermatica e un aumento di frammentazione del DNA spermatico, rispetto al gruppo non esposto (Avendaño 2012). Si tratta del primo studio che dimostra l'impatto del Wi-Fi sugli spermatozoi umani per un effetto non termico del campo elettromagnetico.

Il danno prodotto dall'esposizione a Wi-Fi sembra in qualche modo recuperabile con integrazione di melatonina secondo un altro studio del 2012 su ratti (Oksay T et al 2012) . I ratti esposti a Wi-Fi presentavano un aumento della perossidasi lipidica e una diminuzione dei livelli di vitamina A ed E che è stato possibile prevenire con integrazione di melatonina che ha sostenuto anche il sistema antiossidante nei testicoli.

Uno studio del 2013 di Aynali G. e altri ha investigato il ruolo protettivo della melatonina sullo stress ossidativo indotto dall'esposizione a Wi-Fi (2.45 GHz) sulla mucosa laringotracheale di

ratti. Gli animali sono stati esposti alla radiazione di 2.45 GHz per 60 min/giorno per 28 giorni. I livelli di perossidasi lipidica erano significativamente più alti ($p < 0.05$) nel gruppo di ratti esposto rispetto ai controlli ed erano significativamente più bassi nei ratti esposti, ma trattati con melatonina ($p < 0.01$), rispetto a quelli esposti e non trattati. L'attività del glutatione perossidasi era più bassa nel gruppo di ratti irradiati e non trattati rispetto ai controlli ma era più alta in quelli trattati con melatonina ($p < 0.05$). L'attività del glutatione ridotto non cambiava in tutti i gruppi di ratti osservati. Se ne deduce un possibile effetto protettivo della melatonina sullo stress ossidativo indotto dall'esposizione a Wi-Fi sulla mucosa di ratti attraverso l'inibizione della formazione di radicali liberi e a sostegno del sistema antiossidante del glutatione perossidasi.

Poiché attualmente si suppone che la maggior parte dei tumori siano attivati da danni al genoma della cellula, gli studi degli effetti dei campi elettromagnetici sono stati condotti principalmente sul DNA e sulla struttura cromosomica. Inoltre, il danno al DNA può portare a cambiamenti delle funzioni cellulari e alla morte cellulare. Nel 2011 la radiazione da radiofrequenza è stata classificata dall'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC), afferente all'Organizzazione mondiale per la Sanità (OMS) come "possibile cancerogeno per l'Uomo", ovvero in Classe 2B.

Una equipe di ricercatori guidata dal Prof. Massimo Zucchetti del Politecnico di Torino ha concluso che sarebbe più opportuna la classificazione della Radiofrequenza in Classe 2A, quale "probabile cancerogeno per l'Uomo". L'articolo in cui viene riportata questa conclusione è in corso di pubblicazione sul *Journal of Physics*.

L'integrità del genoma è assicurata dalla costante azione del sistema di riparo del DNA. Da un punto di vista evolutivo, infatti, gli organismi viventi sono stati dotati di sistemi di riparo per fronteggiare l'azione dannosa che viene principalmente prodotta da fattori endogeni, come i radicali liberi, generati dalla respirazione mitocondriale e dal metabolismo, e dagli errori replicativi della DNA polimerasi. Ogni giorno il sistema di riparo deve riparare circa 10000 lesioni endogene del DNA (Lindahl T. 1993), ma se agenti esogeni, tra cui radiazioni UV, ionizzanti e non ionizzanti nonché prodotti chimici, incrementano di troppo la dose di danno, il sistema può andare incontro a invecchiamento, morte cellulare o degenerazione neoplastica.

L'azione dei campi elettromagnetici sull'integrità del genoma hanno portato a risultati controversi. Sin dagli anni '90 del secolo scorso, tuttavia, numerosi ricercatori hanno dimostrato una connessione tra l'incremento delle rotture a singolo filamento del DNA con l'esposizione a diverse frequenze elettromagnetiche. Lai e Singh hanno riportato un incremento delle rotture a singolo filamento del DNA, misurato con il saggio COMET, nelle cellule cerebrali di ratti esposti per 2h a un RFR di 2450 MHz a un tasso di assorbimento specifico del corpo (SAR) fra 0,6 e 1,2 W/kg. Gli effetti sono stati bloccati da antiossidanti, che ha suggerito il coinvolgimento dei radicali liberi nel meccanismo d'azione ((Lai H, Singh NP. 1995; Lai H, Singh NP. 1996; Lai H, Singh NP. 1997)).

In esperimenti eseguiti per studiare l'esposizione per tempi lunghi, (Sarkar et al. 1994) hanno esposto topi a microonde di 2450-MHz ad una densità di potenza di 1 mW/cm^2 per 2 h/giorno per un periodo di 120, 150, e 200 giorni. Gli autori hanno evidenziato ri-arrangiamento di segmenti di DNA nei testicoli e nel cervello degli animali esposti, suggerendo anche in questo caso la rottura di filamenti di DNA dopo l'esposizione alle radiofrequenze saggate (Sarkar S et al. 1994).

Successivamente, molti altri ricercatori hanno dimostrato una connessione tra l'esposizione alle onde elettromagnetiche e il danno al DNA, mentre altri hanno dato esito negativo, come riassunto estensivamente nel lavoro di Phillips et al del 2009 (Phillips JL et al. 2009). Lo studio REFLEX finanziato dalla UE e conclusosi nel 2004 ha confermato i risultati ottenuti negli anni precedenti (F. A. 2005), ma successivamente alcuni articoli apparsi su riviste specializzate hanno contestato parzialmente i dati ottenuti (Speit G et al. 2007; Speit G. 2014).

E' necessario sottolineare, tuttavia, che le differenze riscontrate tra i diversi articoli sono spesso dovute a impostazioni sperimentali non congruenti che rendono a volte di difficile comparazione i risultati conseguiti dai diversi gruppi.

Una possibilità è che il danno al DNA sia generato dalle specie reattive dell'ossigeno (ROS) generatesi all'interno della cellula o dell'organismo. I radicali liberi danneggiano le cellule colpendo le macromolecole, quali DNA, proteine e i lipidi di membrana. Diversi rapporti hanno indicato che l'esposizione ai campi elettromagnetici aumentano l'attività dei radicali liberi nelle cellule (Lai H, Singh NP. 1995; Lai H, Singh NP. 2004; Oral B et al. 2006.), in particolare attraverso la reazione di Fenton (Lai H, Singh NP 1995).

Il paradigma prevalente per spiegare gli effetti della tossicità acuta e cronica ambientale si rivolge agli effetti genotossici e cellulari. Tuttavia, più di quindici anni di studi mostrano che molte malattie croniche, tra cui i tumori - incluse le leucemie - e le malattie neurodegenerative, sono causate da alterazioni di tipo epigenetico, che influenzano il modo in cui i geni vengono regolati a livello trascrizionale, post-trascrizionale, traduzionale e post-traduzionale (Sharma S et al. 2010; Urdinguio RG et al. 2009). E' molto interessante notare che alterazioni epigenetiche possono provocare mutazioni geniche a diversi livelli, suggerendo che per alcuni eventi le modificazioni epigenetiche potrebbero anticipare gli effetti genotossici. L'effetto a lungo termine delle basse dosi di campi elettromagnetici (e di altri inquinanti ambientali), dunque, potrebbe essere spiegato da variazioni di tipo epigenetico, prima o parallelamente agli effetti genotossici. Un'altra caratteristica delle alterazioni epigenetiche è che sono reversibili, ma in alcuni casi possono anche essere fissate in maniera transgenerazionale.

2. Materiali e metodi

La nostra indagine è partita dall'ipotesi che le emissioni elettromagnetiche di Wi-Fi e Wi-Max possono causare effetti biologici sulle cellule umane anche a livelli inferiori ai limiti di legge e a livelli non termici, ovvero non in grado di produrre un riscaldamento della materia vivente.

Si sono ipotizzati effetti sulla regolazione del DNA con l'attivazione e la repressione di alcuni geni del controllo del ciclo cellulare e con la presenza di possibili danni a livello epigenetico.

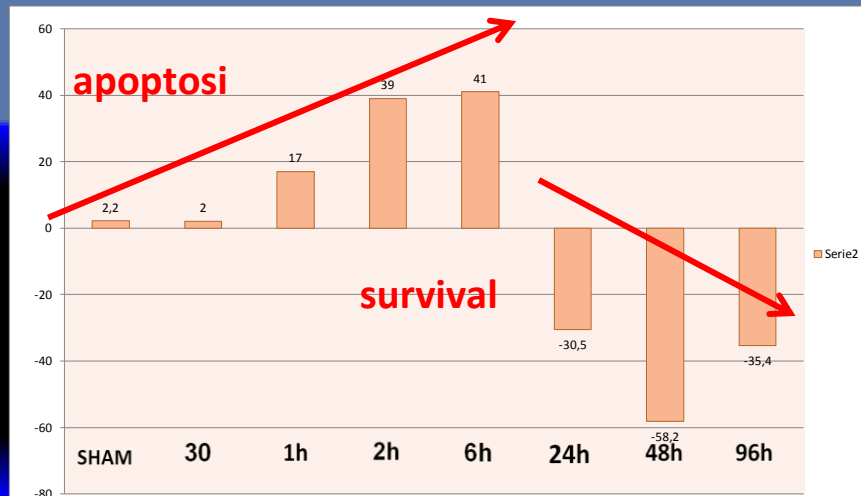
Il mantenimento della vita, infatti, dipende dal bilanciamento dell'espressione dei geni apoptotici, che controllano la morte cellulare, e di *survival*, che ne controllano la sopravvivenza. Con l'apoptosi le cellule particolarmente danneggiate, che non potrebbero sopravvivere regolarmente, vengono eliminate ed è un processo che avviene naturalmente nella vita cellulare, ma può subire delle alterazioni a causa delle esposizioni elettromagnetiche ambientali. Precedenti pubblicazioni hanno mostrato che esiste una soglia di attivazione di questi geni dalla potenza del campo elettromagnetico e dal tempo di esposizione.

Per verificare tali meccanismi, sono stati effettuati degli esperimenti esponendo delle cellule al campo elettromagnetico del Wi-Fi a 2437 MHz con densità di potenza -27 dbm in laboratorio. Le prime sperimentazioni sono state effettuate su colture primarie di cellule muscolari sane prelevate da biopsia che, esposte per tempi brevi, da un'ora a sei ore, hanno mostrato un'attivazione apoptotica e una diminuzione della proliferazione cellulare. Quando sono state esposte per oltre 12 ore, hanno mostrato un aumento della proliferazione cellulare statisticamente significativo.

TABELLA PROLIFERAZIONE CELLULE MTT TEST (tempi brevi)				
30'	1h	2h	6h	Wi-fi cellule muscolari sane
284	302	339	253	CTRL
282	285	300	212	EXP
0.4	3.07	7.37	4.83	t-test
n.s.	h.s.	h.s.	h.s.	
	p<0.001	p<0.0001	p<0.001	

TABELLA PROLIFERAZIONE CELLULE MTT TEST (tempi lunghi) SURVIVAL				
Sham 96h	24h	48h	96h	Wi-fi
1215.4	503.2	1041.1	951	CTRL
1213.2	808.9	1623.8	1205.5	EXP
0.31	13.41	13.28	9.94	t-test
n.s.	h.s.	h.s.	h.s.	
	p<0.0001	p<0.0001	p<0.001	

Citotossicità' per esposizione di cellule al WI-FI Ctrl - Exp



Negli ambienti pubblici irradiati da Wi-Fi il segnale elettromagnetico ha generalmente un andamento di banda larga pulsata con un'ampiezza di circa 20 MHz con una densità di potenza di - 30 dbm e queste sono le condizioni replicate in laboratorio per le prime sperimentazioni. Per verificare se questo segnale produce le stesse alterazioni alle cellule che sono state trovate nelle sperimentazioni in laboratorio, le cellule sono state esposte nei luoghi pubblici dove era presente questo tipo di emissione.

A tale scopo sono stati realizzati degli incubatori portatili che garantiscono la coltivazione di cellule secondo le condizioni standard di coltura: 95% di umidità, 5% di CO₂ e 37 gradi.

Gli incubatori sono costruiti di materiale trasparente alle onde elettromagnetiche da radiofrequenza ed hanno permesso il mantenimento delle colture per 72 ore. All'interno sono state posizionate in triplicato le fiasche di coltura che dovevano essere esposte al campo elettromagnetico e le fiasche di coltura schermate (visibile la schermatura in alluminio) che servivano da controllo dell'esperimento, contenenti le cellule non esposte.

Contemporaneamente alla coltivazione veniva registrata, mediante un dosimetro, negli incubatori il campo elettromagnetico di tutte le frequenze relative alle telecomunicazioni ricevuto dalle colture di cellule. In definitiva le cellule venivano irradiate come qualsiasi persona che frequentasse l'ambiente servito da Wi-Fi.

Dopo 24 ore e 48 ore di esposizione venivano prelevati campioni di cellule che venivano centrifugati e preparati per le successive analisi. Una quota delle cellule veniva sottoposta immediatamente al test MTT per la valutazione della vitalità cellulare.

Sono state sottoposte ad indagine anche le emittenti Wi-Fi di quattro scuole: due nella provincia di Bolzano e due nella provincia di Roma.

3. Risultati dei test sulla vitalità cellulare

3.1 Misurazioni

I limiti di legge in Italia per le antenne fisse, come sono gli hot spot Wi-Fi, è di 6 V/m. Per i dispositivi mobili connessi a Wi-Fi (che diventano in questo modo essi stessi delle antenne ma mobili) mancano decreti ministeriali che indichino dei limiti specifici in attuazione della Legge Quadro sull'elettrosmog 36/2001. Ci si rifà, dunque, alla normativa europea di 2 Watt/Kg di SAR.

Studi riportano misurazioni di livelli significativi di radiazioni nelle immediate vicinanze di router Wi-Fi, ovvero dei punti di accesso a Wi-Fi e nelle vicinanze di computer portatili connessi al Wi-Fi: ad esempio nel 2010 la Ecolog Institute ha riscontrato a 20 cm da un router Wi-Fi 8,8 V/m = 205,000 $\mu\text{W}/\text{m}^2$, e alla stessa distanza da un punto di accesso Wi-Fi, 7,5 V/m = 149,000 $\mu\text{W}/\text{m}^2$; lo studio IMST (2005) ha misurato 27,000 $\mu\text{W}/\text{m}^2$ (8,7 V/m) a 50 cm di distanza da un computer portatile. Secondo Le Linee Guida della Building Biology Evaluation, questi livelli (oltre 1.000 $\mu\text{W}/\text{m}^2$ = 0,65 V/m) sono classificati come una "estrema preoccupazione." In presenza di molti utenti (ad esempio, 20 studenti in una classe) i livelli di esposizione sono ancora più alti.

Rispetto a questi dati, le nostre misurazioni hanno riportato livelli piuttosto bassi di emissione dai router Wi-Fi. La media di tutte le misurazioni da noi effettuate in biblioteche e nelle scuole è di 0,65 V/m, pari a poco più di un decimo del limite di legge (6 V/m).

Va anche considerato che, al momento della nostra misurazione, le antenne Wi-Fi non erano di fatto a regime nella loro utilizzazione in quanto nelle scuole non c'era ancora la dotazione di tablet che è invece prevista dalle attuali politiche di digitalizzazione della formazione.

E' facile prevedere che in futuro, quando ci saranno 15, 20 o 25 tablet connessi al router Wi-Fi in ciascuna classe, le emissioni sommate tra router Wi-Fi e tablet saranno decine di volte superiori di quelle rilevate dalle nostre misurazioni.

A nostro avviso sarà utile replicare in futuro lo stesso tipo di ricerca da noi condotta quest'anno nelle scuole che dotano ciascun allievo di tablet connesso via Wi-Fi alla lavagna elettronica, posizionando l'incubatore su uno dei banchi per studiare gli effetti genetici dell'esposizione ambientale che presenta la somma dell'emissione derivante dal router Wi-Fi (maggiore di quella da noi riscontrata in quanto serve più dispositivi contemporaneamente) e dallo stesso dispositivo mobile che a sua volta funziona come antenna ricevente ed emittente.

MISURAZIONI DEL CAMPO ELETTROMAGNETICO EMESSO DA ROUTER WI-FI

Luogo	Data	RF valore medio V/m	RF valore massimo V/m	Frequenza GHz	bBm
BOLZANO					
Scuola secondaria superiore Bolzano*	21/01/14	0.32 V/m	0.57 V/m	2.458	-25.8
Liceo Carducci, Bolzano, aula informatica *	21/01/14	0.12 V/m	0.41 V/m	2.41	-45.11
Scuola secondaria superiore Bolzano (W)	21/01/14	0.61 V/m	0.71 V/m	2.458	-35.9
Scuola secondaria superiore Bolzano*	3/04/14	-	-	2.46	-28.40
Liceo Carducci. Bolzano, sala informatica * (giorno coltivazioni)	3/04/14	0.75 V/m	1.18 V/m	2.435	-43.2
Liceo Carducci. Bolzano, presidenza (giorno coltivazioni)	4/04/14	-	-	0.9 2.42	-25.7 -58.8
ROMA					
Liceo Scientifico Roma*	15/01/14	0.16 V/m	0.5 V/m	2.460	-30.06
Scuola media Roma, rete della scuola, corridoio	15/01/14	0.71 V/m	0.76 V/m	2.46	-32.9
Liceo Classico Roma.	10/01/14	0.75 V/m	-	2.46	-42.2
Liceo Scientifico Roma	14/04/14	-	-	2.428	-36.48
Scuola Secondaria Superiore Pomezia	14/04/14	-	-	2.439	-20.6
ASCOLI PICENO					
Scuola superiore Ascoli Piceno. secondo piano	14/03/14	0.82 V/m	1.10V/m	2.429	- 38.2
Scuola superiore Ascoli Piceno. terzo piano	14/03/14	0.70 V/m	0.81 V/m	2.432	-35.8
PERUGIA					
Liceo Perugia. sala professori	17/04/14	0.72 V/m	0.89 V/m	2.43	-39.44
Liceo Perugia. tavolo con pc dei professori	17/04/14	1.09 V/m	1.54 V/m	-	-
BOLOGNA					
Biblioteca	21/03/14	0.83 V/m	1.40 V/m	-	-
Biblioteca postazione 1 (coltura)*	23/01/14	1.68 V/m	2,48 V/m	2.42	-28.5
Biblioteca sala lettura (coltura)*	23/01/14	0.38 V/m	0.93 V/m	2.43	-36.7
Biblioteca sala bimbi (postazione 2)	23/01/14	0.42 V/m	0.88 V/m	2.44 0.91	-40.1 -19.31
LATINA					
Biblioteca nella provincia di LT	14/01/14	0.35 V/m	0.73 V/m	2.46	-47.02

* Luoghi dove sono state fatte le misurazioni.

3.2 Risultati dei test di proliferazione

Nel liceo della provincia di Bolzano le cellule esposte ad un campo Wi-Fi di 0,75 V/m per 48 ore hanno mostrato una significativa diminuzione di vitalità cellulare rispetto ai controlli, fenomeno che non si è verificato dopo un'esposizione di 24 ore.

Nell'altra scuola secondaria superiore di Bolzano non sono emerse differenze apprezzabili della vitalità di cellule esposte e quelle di controllo dopo 24 e dopo 48 ore di esposizione.

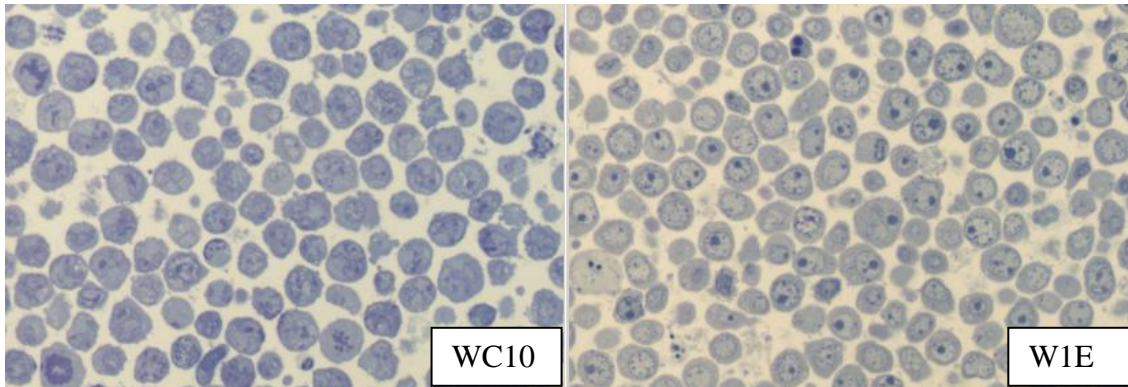
Anche per le due scuole in provincia di Roma non si sono riscontrate differenze significative relativamente alla proliferazione delle cellule esposte e di quelle di controllo, ma va anche specificato che il segnale era dato che limitato al valore della portante (0,16 V/m) dato che l'emittente Wi-Fi, per quanto attiva, non era utilizzata da tablet o computer degli studenti e, di fatto, era presente solo il segnale di base.



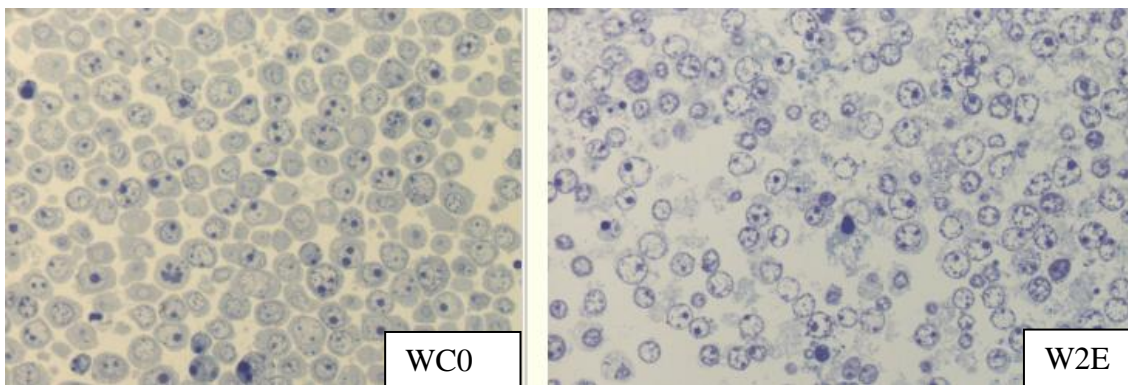
Nelle sperimentazioni effettuate nella biblioteca in provincia di Bologna, invece, si sono riscontrate differenze significative della vitalità cellulare tra i campioni esposti e quelli di controllo, come evidenziato dall'immagine qui sopra in cui i pozzetti di controllo mostrano una colorazione più intensa rispetto a quelli delle cellule esposte, indicando che l'esposizione ha causato una diminuzione della vitalità cellulare in tutti i casi, sia per 24 che per 48 ore di esposizione.

Riassumendo, relativamente alle analisi della vitalità cellulare, 4 dei 7 esperimenti con cellule in coltura in ambienti pubblici, ovvero scuole e biblioteche, hanno mostrato effetti di alterazione della proliferazione dovuta all'esposizione a Wi-Fi a livelli notevolmente più bassi di quelli previsti dai limiti di legge.

3.3 Risultati analisi morfologica e microscopia ottica elettronica



Biblioteca nella provincia di Bologna WI-FI 24h



Biblioteca nella provincia di Bologna WI-FI 48h

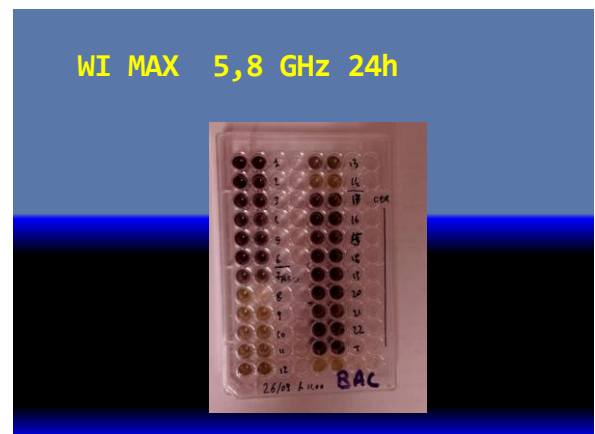
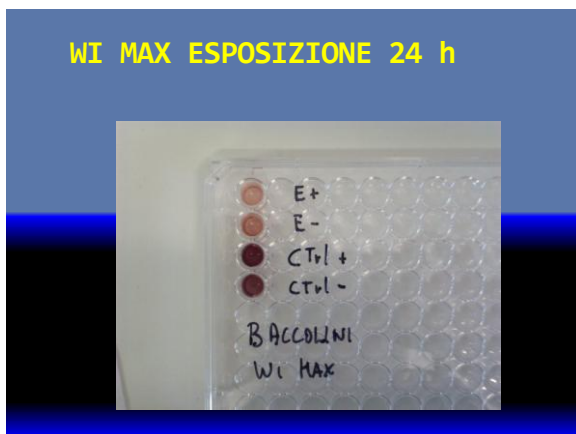
Differenze morfologicamente significative sono evidenti tra le cellule di controllo (C nella etichetta) e le cellule esposte (E nella etichetta) sia a 24 che a 48 ore. A 48 ore di esposizione le cellule sembrano particolarmente degradate con evidenti segni di alterazione della membrana nucleare. Tutte le cellule esposte presentano evidenti nucleoli addensati e maggior numero di micronuclei.

3.4 Risultati Wi-Max

La nostra osservazione ha riguardato anche le emissioni Wi-Max, la cui frequenza è di 5,8 GHz. Sono state effettuate sperimentazioni in campo presso una fattoria dell'Appennino bolognese che presenta un'antenna Wi-Max installata a circa 35 metri dalla stalla in cui soggiornano le mucche.



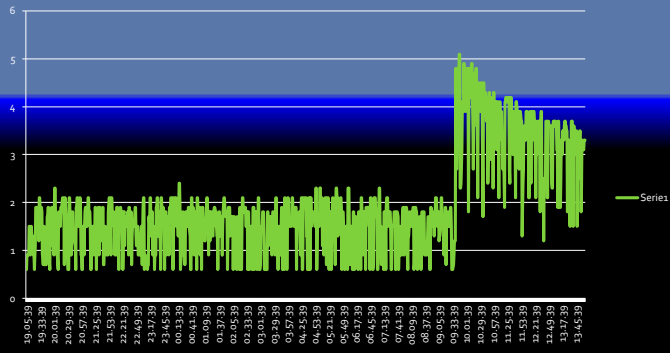
Anche in questo caso sono state effettuate coltivazioni di cellule mediante incubatore portatile che hanno dato significative differenze nella vitalità cellulare tra le cellule esposte e quelle di controllo. Come si può osservare nella fotografia qui sotto, dopo 24 ore di esposizione, nei pozzetti di controllo (C) c'è una vitalità maggiore rispetto agli esposti (E). Il colore più scuro, infatti, indica che il colorante vitale è stato metabolizzato da cellule vive che sono in misura maggiore rispetto ai pozzetti di controllo più chiari.



Dalla 1 alla 7 sono cellule HL60 di controllo. Dalla 8 alla 14 sono cellule HL60 esposte. Dalla 17 alla 22 sono cellule CEM di controllo.

Come si può vedere nel grafico di misurazione dell'esposizione, casualmente il campo elettromagnetico emesso dalle antenne era aumentato fino a 5,2 V/m, segno delle improvvise modificazioni delle emissioni durante l'utilizzo da parte di dispositivi mobili.

MISURA DURANTE ESPOSIZIONE WI-
MAX (PMM 8056)
MIN 0.7 MAX 5.2 V/m



4. Analisi epigenetiche

Il controllo epigenetico è esercitato ad almeno tre livelli: metilazione (ed altre modificazioni) del DNA, modificazioni istoniche e RNA non codificanti. In particolare, lo stato di metilazione del DNA è controllato a diversi livelli da numerosi enzimi in grado di aggiungere o rimuovere la modificazione. DNMT1, DNMT3A e DNMT3B e UHRF1 sono coinvolte nell'aggiunta di un gruppo metilico, mentre TET1, TET2 e TET3 sono coinvolte attraverso un meccanismo complesso, che implica anche processi di riparo del DNA, nella rimozione dei gruppi metilici.

Nel presente studio, si è voluto avviare un'indagine sulle variazioni di espressione dei geni che controllano la metilazione del DNA in risposta all'esposizione a campi elettromagnetici generati da WiFi. In particolare, sono stati valutati i livelli di DNMT1 e UHRF1. Abbiamo valutato, inoltre, i livelli di espressione della Caspasi 3 per valutare la possibile attivazione dei processi apoptotici. E' stata eseguita anche una prima misura di metilazione globale del genoma, utilizzando le sequenze LINE1 come surrogato di metilazione globale.

Purtroppo i due campioni delle esposizioni a 24 e 48 ore del liceo nella provincia di Bolzano e delle 24 ore di esposizione e del controllo e dell'esposizione a 48 dell'Istituto Superiore nella provincia di Bolzano e dell'esposizione a 48 ore del liceo nella Provincia di Roma, erano quantitativamente inferiori agli altri campioni. Ciò ha limitato la possibilità di fare una valutazione comparativa dei campioni.

L'analisi dell'espressione trascrizionale dei geni codificanti le stesse proteine non è stata possibile in quanto i campioni di RNA estratti dalle cellule sono risultati completamente degradati o assenti. Non è stato, dunque, possibile procedere con l'analisi per PCR dell'espressione genica.

Dai dati di Western blot non è possibile, dunque, concludere che vi sia o meno una alterazione di espressione dei geni UHRF1, DNMT1 e della Caspasi 3 in seguito all'esposizione ai campi elettromagnetici generati dai sistemi WiFi.

Allo scopo di ottenere risultati statisticamente significativi occorre procedere all'esecuzione di ulteriori esperimenti in campo, anche per identificare i markers genetici maggiormente sensibili alle esposizioni alla radiazione di radiofrequenza.

5. Dosimetria negli elettrosensibili

La dosimetria negli elettrosensibili ha permesso di verificare in alcuni pazienti che l'esposizione a campo elettromagnetico negli ambienti di vita comporta il manifestarsi di sintomi caratteristici della ipersensibilità. In particolare, ciò è stato evidenziato per le esposizioni al telefono DECT e nelle esposizioni a GSM.

Le analisi statistiche dei dati rilevati permetteranno di valutare l'effettiva correlazione tra sintomi ed esposizione.

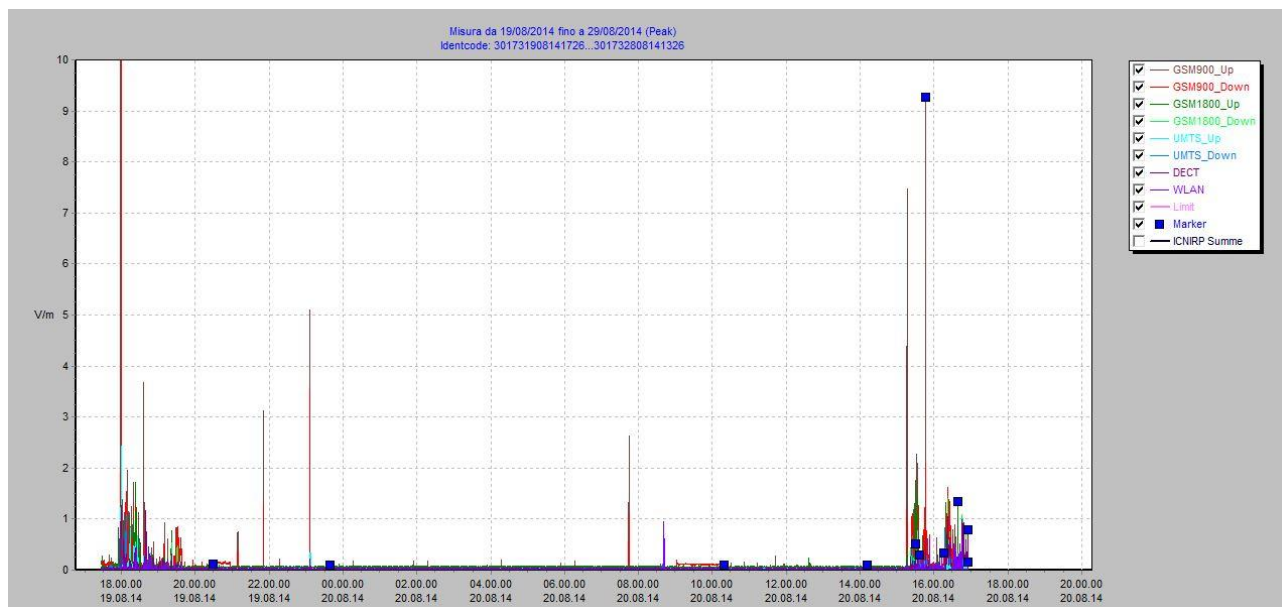


Grafico 1. Grafico della registrazione delle emissioni elettromagnetiche di radiofrequenza effettuato su un paziente con caratteristiche di Elettrosensibilità, che mostra le emissioni a diverse frequenze, evidenziate con colori diversi della telefonia GSM (marrone uplink, rosso downlink), GPRS (verde scuro uplink, verde chiaro downlink), UMTS (chiaro uplink, blu downlink), DECT (bordeaux) e Wi-Fi (viola). In questo caso si osservano i marker (quadratini blu) che identificano il momento in cui la paziente ha percepito dei sintomi di elettrosensibilità, che in questo caso sono particolarmente correlati con la densità di potenza del segnale).

L'osservazione di queste misurazioni dosimetriche ha permesso anche di evidenziare alcune caratteristiche del tipo di esposizione, dimostrando che è soprattutto la telefonia GSM a presentare dei picchi molto elevati, anche superiori a 100 V/m nel momento di connessione con la stazione radio base, ovvero al momento dell'attivazione della telefonata.

Si rileva anche che tre pazienti hanno chiesto di rimuovere il dosimetro prima della fine delle 24 ore previste in quanto ritenevano che lo stesso dispositivo fosse causa di un loro aggravamento dei sintomi.

6. CONCLUSIONI

La letteratura pubblicata sugli effetti biologici del Wi-Fi già oggi offre indicazioni sui molteplici effetti che questo tipo di emissioni possono avere a livello cellulare ed enzimatico, suggerendo la necessità di applicare un principio di precauzione nelle esposizioni.

La nostra ricerca ha voluto individuare un possibile meccanismo d'azione, a livello cellulare, riscontrando che effettivamente alcuni effetti genetici proliferativi ed epigenetici compaiono anche a livelli non termici di esposizione.

Per raggiungere conclusioni definitive sui possibili effetti genetici ed epigenetici dell'esposizione ambientale alle frequenze del Wi-Fi e del Wi-Max è necessario effettuare ulteriori esperimenti per avere dati consistenti al di là di questi risultati preliminari.

7. BIBLIOGRAFIA

- Ait-Aissa S., Billaudel B., Poullétier de Gannes F., Ruffie G., Duleu S. 2012. In utero and early-life exposure of rats to a Wi-Fi signal: Screening of immune markers in sera and gestational outcome. *Bioelectromagnetics* 33(5): 410–420.
- Aynali G et, Modulation of wireless (2.45 GHz)-induced oxidative toxicity in laryngotracheal mucosa of rat by melatonin. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2013 May;270(5):1695-700. doi: 10.1007/s00405-013-2425-0. Epub 2013 Mar 12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23479077>
- Atasoy HI, et al. Immunohistopathologic demonstration of deleterious effects on growing rat testes of radiofrequency waves emitted from conventional Wi-Fi devices. *J Pediatr Urol.* 2012 Mar 30. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22465825>
- Avendaño C, et al. Use of laptop computers connected to internet through Wi-Fi decreases human sperm motility and increases sperm DNA fragmentation. *Fertil Steril.* 2012 Jan;97(1):39-45.e2.
- Behari J, Paulraj R. 2007. Biomarkers of induced electromagnetic field and cancer. *Indian Journal of Experimental Biology* 45:77–85.
- Bornkessel, C., Wuschek, M., 2005: Immissionsmessungen an WLAN-Szenarien, p. 26 <http://www.izmf.de/sites/default/files/download/Studien/IZMF-WLAN-Studie.pdf>
- Calvente I, Fernandez MF, Villalba J, Olea N, Nuñez MI. 2010. Exposure to electromagnetic fields (non-ionizing radiation) and its relationship with childhood leukemia: a systematic review. *Sci Total Environ* 408:3062-3069.
- Caraglia M, Marra M, Mancinelli F, D'Ambrosio G, Massa R, Giordano A, Budillon A, Abbruzzese A, Bismuto E. 2005. Electromagnetic fields at mobile phone frequency induce apoptosis and inactivation of the multi-chaperone complex in human epidermoid cancer cells. *J Cell Physiol* 204:539-548.
- Ecolog Institute: Neitzke, H.-P., Osterhoff, J., Voigt, H. 2010: Gesundheitliche Risiken durch elektromagnetische Expositionen in AACC-Umgebungen, p.15, <http://www.ecologinstitut.de>
- F. A. 2005. <http://www.itis.ethz.ch/assets/Downloads/Papers-Reports/Reports/REFLEXFinal-Report171104.pdf>.
- Friedman J, Kraus S, Hauptman Y, Schiff Y, Seger R. 2007. Mechanism of short-term ERK activation by electromagnetic fields at mobile phone frequencies. *Biochem J* 405:559-568.
- Kesari KK, et al. Mutagenic response of 2.45 GHz radiation exposure on rat brain. *Int J Radiat Biol.* 2010 Apr;86(4):334-43. http://www.researchgate.net/publication/42767533_Mutagenic_response_of_2.45_GHz_radiation_exposure_on_rat_brain/file/79e4150e2aee2c06a6.pdf
- Lai H, Singh NP. 2004. Magnetic-field-induced DNA strand breaks in brain cells of the rat. *Environ Health Perspect* 112:687-694.
- Lai H, Singh NP. 1995. Acute low-intensity microwave exposure increases DNA single-strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 16:207-210.
- Lai H, Singh NP. 1996. Single- and double-strand DNA breaks in rat brain cells after acute exposure to radiofrequency electromagnetic radiation. *Int J Radiat Biol* 69:513-521.

- Lai H, Singh NP. 1997. Melatonin and a spin-trap compound block radiofrequency electromagnetic radiation-induced DNA strand breaks in rat brain cells. *Bioelectromagnetics* 18:446-454.
- Lindahl T. 1993. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362:709-715.
- Linee Guida della Building Biology Evaluation: http://www.baubiologie.de/downloads/RICHTWERTE_2008.PDF
- Bornkessel, C., Wuschek, M., 2005: Immissionsmessungen an WLAN-Szenarien, p. 26
<http://www.izmf.de/sites/default/files/download/Studien/IZMF-WLAN-Studie.pdf>
- Marinelli F, La Sala D, Ciccio G, Cattini L, Trimarchi C, Putti S, Zamparelli A, Giuliani L, Tomassetti G, Cinti C., *Journal of cellular physiology*, 198:324–332 (2004).
- Naziroglu et al, 2.45GHz electromagnetic radiation (Wi-Fi frequency; 10V/m) has proliferative effects in human leukaemia cancer cells, 2012, *International Journal of Radiation Biology* 88(6):449-456.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22489926>
- Oksay T, et al. Protective effects of melatonin against oxidative injury in rat testis induced by wireless (2.45 GHz) devices. *Andrologia*. 2012 Nov 12.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23145464>
- Oktem F, Ozguner F, Mollaoglu H, Koyu A, Uz E. 2005. Oxidative damage in the kidney induced by 900-MHz-emitted mobile phone: protection by melatonin. *Arch Med Res* 36:350-355.
- Oral B, Guney M, Ozguner F, Karahan N, Mungan T, Comlekci S, Cesur G. 2006. Endometrial apoptosis induced by a 900-MHz mobile phone: preventive effects of vitamins E and C. *Adv Ther* 23:957-973.
- Papageorgiou CC, et al. Effects of Wi-Fi signals on the p300 component of event-related potentials during an auditory haying task. *J Integr Neurosci*. 2011 Jun;10(2):189-202.
<http://media.witbank.com/b3d3a0a2b5.pdf>
- Phillips JL, Singh NP, Lai H. 2009. Electromagnetic fields and DNA damage. *Pathophysiology* 16:79-88.
- Russian researchers affiliated with the Russian Academy of Sciences yesterday published two studies in *Radiation Biology. Radiation Ecology*. 2011. Volume 51, No.5, p.611-623.
- Sarkar S, Ali S, Behari J. 1994. Effect of low power microwave on the mouse genome: a direct DNA analysis. *Mutat Res* 320:141-147.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA. 2010. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis* 31:27-36.
- Speit G, Schütz P, Hoffmann H. 2007. Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in cultured mammalian cells are not independently reproducible. *Mutat Res* 626:42-47.
- Speit G, Gminski R, Tauber R. 2013. Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in HL-60 cells are not reproducible. *Mutat Res* 755:163-166.
- Speit G. 2014. Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) reported by the REFLEX project are not reproducible. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 771:73-74.
- Teepen JC, van Dijck JA. 2012. Impact of high electromagnetic field levels on childhood leukemia incidence. *Int J Cancer* 131:769-778.
- Urduingio RG, Sanchez-Mut JV, Esteller M. 2009. Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. *Lancet Neurol* 8:1056-1072.