

Campi elettrici e magnetici a frequenze estremamente basse e sistema immunitario

Carlo PETRINI (a), Alessandro POLICHETTI (a), Carlo RAMONI (b) e Paolo VECCHIA (a)

(a) Laboratorio di Fisica; (b) Laboratorio di Immunologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto. - Recenti studi epidemiologici residenziali ed occupazionali indicano un'associazione statistica tra esposizione a campi magnetici a 50-60 Hz e il rischio di contrarre alcune forme di tumori. Numerose ricerche sperimentali sono state condotte *in vitro* e *in vivo* per verificare la possibilità che alcune funzioni cellulari siano influenzabili dai campi elettrici e magnetici ELF (frequenze estremamente basse: 0-300 Hz). Tali ricerche sono fondamentali per stabilire se l'associazione statistica indicata dagli studi epidemiologici sia dovuta ad un'effettiva relazione causa-effetto tra campi elettrici e magnetici ELF e cancerogenesi. In questa rassegna viene presentato lo stato attuale della ricerca sperimentale, con particolare riferimento agli effetti dei campi ELF sul sistema immunitario. Sono illustrate anche alcune ricerche di tipo teorico che si propongono di individuare possibili meccanismi di interazione tra campi ELF e sistemi biologici che possano dare plausibilità biologica agli effetti osservati.

Parole chiave: campi elettromagnetici, campi magnetici, ELF, immunologia *in vitro*.

Summary (*Extremely low frequency electric and magnetic fields and the immune system*). - Recent residential and occupational epidemiological studies indicate a statistical association between 50-60 Hz magnetic field exposure and the risk of developing some kinds of tumors. Several experimental researches have been carried out *in vitro* and *in vivo* to verify the possibility that some cell functions may be influenced by ELF (Extremely Low Frequencies: 0-300 Hz) electric and magnetic fields. Such researches are very important to assess if the statistical association indicated by the epidemiological studies is actually due to a cause-effect relationship between ELF electric and magnetic fields and carcinogenesis. In this review we describe the present state of the experimental research, focusing our attention on the effects of ELF fields on the immune system. We also describe some theoretical researches whose aim is to identify possible mechanisms of interaction between ELF fields and biological systems which may provide biological plausibility to the observed effects.

Key words: electromagnetic fields, magnetic fields, ELF, *in vitro* immunology.

Introduzione

Negli ultimi anni si è acceso un ampio dibattito scientifico sui possibili rischi sanitari associati all'esposizione a campi elettrici e magnetici sia a basse che ad alte frequenze. In particolare l'attenzione si è concentrata su alcuni studi epidemiologici che mostrano una possibile associazione tra l'esposizione a campi magnetici di frequenza 50 - 60 Hz e il rischio di contrarre alcune forme di tumori, in particolare tumori cerebrali e leucemie mieloidi acute, senza tuttavia dimostrare l'esistenza di una relazione causale.

L'incertezza e le contraddizioni nei risultati che emergono da tali indagini hanno spinto a condurre in diverse parti del mondo non solo decine di indagini epidemiologiche diverse, ma anche numerosissimi studi *in vitro* ed *in vivo* su animali di laboratorio e sull'uomo al fine di evidenziare eventuali meccanismi biologici che

possano aiutare a chiarire i dati epidemiologici. Il solo dato epidemiologico non è infatti sufficiente per dimostrare una relazione di causa-effetto: occorrono anche dimostrazioni evidenti che alcune funzioni cellulari siano influenzabili dall'agente in questione e che tali funzioni siano in qualche modo correlate ai processi di trasformazione cellulare.

Gli esperimenti *in vitro*, a differenza delle indagini epidemiologiche o degli studi *in vivo*, permettono inoltre un accurato controllo delle condizioni sperimentali e delle eventuali variabili confondenti e forniscono dati indispensabili per formulare ipotesi circa i meccanismi biologici e le interazioni in gioco. Essi inoltre possono essere facilmente ripetuti per verificare i risultati emersi.

In questo lavoro di rassegna descriveremo lo stato attuale della ricerca sperimentale, concentrando la nostra attenzione in particolare sugli studi relativi agli effetti dei campi elettrici e magnetici a frequenze estremamente

basse (0-300 Hz) sul sistema immunitario. Saranno anche esaminate alcune ricerche di tipo teorico relative all'individuazione di meccanismi di interazione tra i campi elettrici e magnetici a frequenze estremamente basse e i sistemi biologici che possano non solo dare plausibilità biologica agli effetti osservati, ma che forniscano anche utili indicazioni per la ricerca sperimentale.

L'agente fisico

Le radiazioni elettromagnetiche non ionizzanti, caratterizzate da un'energia dei singoli fotoni inferiore al valore soglia per la ionizzazione degli atomi di 12 eV, comprendono: la radiazione ottica (ultravioletto, visibile, infrarosso, con lunghezze d'onda da 100 nm a 1 mm), le microonde (da 1 mm a 1 m), le onde radio (da 1 m a 1000 km), i campi elettrici e magnetici a frequenza estremamente bassa (ELF, "extremely low frequency", frequenze comprese nell'intervallo 0-300 Hz, lunghezze d'onda superiori a 1000 km). Le frequenze estremamente basse hanno quindi al limite inferiore, come caso estremo, i campi statici. Spesso, soprattutto alle frequenze più basse, non è corretto parlare di radiazioni, ed è quindi preferibile parlare in termini di campi elettromagnetici non ionizzanti.

Nel presente lavoro si farà riferimento alle frequenze ELF: in tale ambito, ci si riferisce spesso ai 50 Hz utilizzati in tutto il mondo per la produzione, il trasporto e la distribuzione dell'energia elettrica (tranne che nel caso degli Stati Uniti e del Canada dove la frequenza della rete elettrica è 60 Hz).

I campi elettrico e magnetico compaiono nelle equazioni di Maxwell in modo tale che dal variare rispetto al tempo dell'uno dipenda la distribuzione spaziale dell'altro. Pertanto essi si possono considerare come facenti parte di un'unica entità fisica, il campo elettromagnetico. In certe condizioni, dalla conoscenza di uno dei due campi si può risalire a quella dell'altro: questo avviene per esempio quando la radiazione elettromagnetica si propaga per onde piane, condizione ideale che in pratica può considerarsi verificata solo alle frequenze più alte, e a distanze sufficientemente grandi dalla sorgente. In questi casi è possibile quindi conoscere il campo elettromagnetico misurandone solo una componente, cioè il campo elettrico o il campo magnetico. Quando però la frequenza è molto bassa (come nel caso delle ELF) le equazioni di Maxwell si semplificano in modo tale che il campo elettrico diviene indipendente dal campo magnetico: più precisamente, il campo elettrico dipende dalla distribuzione delle cariche elettriche, mentre il campo magnetico dipende dalla distribuzione delle correnti elettriche. In questa situazione è necessario misurare indipendentemente i due campi.

L'unità di misura del campo elettrico è il volt/metro (V/m). Il campo magnetico può essere descritto in termini di intensità, misurata in ampere/metro (A/m), oppure di induzione magnetica, misurata in tesla (T). Talvolta per l'induzione magnetica si usa l'unità di misura del sistema CGS, denominata gauss (G). 1 T equivale a 10000 G.

Le Tab. 1 e 2 mostrano alcuni valori tipici dei campi elettrico e magnetico in prossimità di comuni apparecchi ed in varie condizioni espositive.

Effetti biologici e sanitari dei campi elettrici e magnetici

Gli effetti biologici dei campi elettromagnetici vengono generalmente distinti in diretti e indiretti.

Gli effetti diretti sono conseguenti all'interazione del corpo umano con il campo elettrico oppure con quello magnetico. Essi necessitano della sola presenza

Tabella 1. - Campo elettrico in varie condizioni espositive. (Fonte: Istituto Superiore di Sanità, Rapporti Istituzionali, 89/20)

Condizioni di esposizione	Campo elettrico (V/m)
Sotto un elettrodotto a 380 kV	5000
In aree urbane	0-50
A 30 cm da un frigorifero	60
A 30 cm da un televisore	30
A 30 cm da un asciugacapelli	<1
In una tipica abitazione	0-10

Tabella 2. - Campo magnetico in varie condizioni espositive. (Fonte: Istituto Superiore di Sanità, Rapporti Istituzionali, 89/20)

Condizioni di esposizione	Campo magnetico (μ T)
Sotto un elettrodotto a 380 kV	20
In aree urbane	0-0,1
A 30 cm da un frigorifero	0,1-1
A 30 cm da un televisore	100-500
A 30 cm da un asciugacapelli	1000-2500
In una tipica abitazione	0-1

dell'organismo esposto. Il principale meccanismo di interazione alla base di tali effetti è l'induzione di correnti elettriche nel corpo esposto da parte sia dei campi elettrici sia di quelli magnetici.

Gli effetti indiretti sono dovuti alla presenza di oggetti conduttori in prossimità del corpo esposto ai campi. Tra i diversi conduttori, i conduttori e la terra, e i conduttori e il corpo stesso, si possono stabilire delle differenze di potenziale. Pertanto, le cariche elettriche indotte in un dato conduttore possono trasferirsi ad un individuo che venga con questo in contatto, dando luogo così ad un passaggio di corrente che, se troppo intenso, può provocare bruciature.

In questa rassegna ci limitiamo ad un esame dei soli effetti diretti dei campi ELF che, a loro volta, possono essere schematicamente raggruppati in due categorie.

La prima comprende gli effetti immediati (o acuti). Gli effetti acuti dipendono principalmente dalle correnti indotte nel corpo da campi elettrici o magnetici esterni. Esposizioni a campi magnetici ELF particolarmente intensi possono dar luogo a stimoli sul sistema visivo [1] come i magnetofosfeni (per campi magnetici al di sopra di 2 mT) o le variazioni transitorie dei potenziali visivi evocati (oltre 50 mT), nonché alla stimolazione dei tessuti eccitabili [2] quando nel corpo umano sono indotte densità di corrente superiori a 100 mA/m² (alla frequenza di 50 Hz tali densità di corrente sono indotte da campi magnetici superiori a 50 mT). Individui particolarmente sensibili sono in grado di percepire la presenza di campi elettrici di 2-10 kV/m (riscontrabili in prossimità di linee ad alta tensione) con effetti di disagio [2]. Nelle condizioni di esposizione praticamente riscontrabili a causa della vicinanza di impianti elettrici in ambienti sia domestici che industriali, si possono tuttavia escludere effetti sanitari a breve termine apprezzabili.

La seconda categoria di effetti diretti è quella degli effetti a lungo termine conseguenti ad esposizioni prolungate che sono più complessi e non completamente chiari. Esistono ampie rassegne edite da prestigiose istituzioni che considerano globalmente la problematica [3, 4].

Sono state condotte molte sperimentazioni sia utilizzando animali assai differenti dall'uomo (topi, conigli, cani, gatti, uccelli), sia primati non umani. I risultati positivi talvolta segnalati sono ottenuti in genere in condizioni espositive caratterizzate da intensità molto elevate, che l'uomo comunemente non incontra. Inoltre, i dati devono essere valutati con cautela perché non è lecito estrapolare direttamente all'uomo risultati ottenuti su modelli biologici differenti.

In queste ricerche sono stati studiati vari parametri. Alcuni studi sembrano indicare la possibilità di effetti sul comportamento sociale in primati [5]. Circa gli studi che hanno per oggetto il sistema nervoso, si può in generale osservare che non sono state rilevate alterazioni morfologiche [6], in quanto i pochi risultati positivi in tal

senso non sono poi stati confermati. Sono state però descritte alterazioni nei tracciati encefalografici e variazioni nei livelli di alcuni neurotrasmettitori [7]. Particolarmente interessanti sono alcune indagini sui ritmi circadiani: tra i vari effetti ipotizzati, potrebbe essere importante il possibile effetto sulla produzione di melatonina da parte della ghiandola pineale [8]. Inoltre, varie indagini relative allo sviluppo fetale ipotizzano possibili danni, tuttavia altri studi effettuati in condizioni sperimentali comparabili mostrano risultati negativi [7].

È stato suggerito che l'esposizione a campi elettrici e magnetici possa essere causa di lievi alterazioni sul sistema cardiovascolare e sul sistema ematopoietico nell'uomo [9], mentre i dati sul sistema neuroendocrino (oltre al già citato possibile coinvolgimento della ghiandola pineale) mostrano sintomi soggettivi difficilmente quantificabili [10]. Molti di tali studi sono stati condotti su volontari [7], e quindi in condizioni espositive particolari e ben controllate.

Il problema più dibattuto scientificamente e sul quale maggiormente si sono concentrate le ricerche riguarda però un possibile ruolo sullo sviluppo di forme tumorali in seguito a prolungate esposizioni a campi ELF.

Le uniche indicazioni in questo senso derivano da alcuni studi epidemiologici su lavoratori e, in misura maggiore, sulla popolazione generale. Gli studi sulla popolazione sono in genere del tipo caso-controllo, un tipo di studio adatto ad evidenziare i rischi connessi all'esposizione ad un agente nocivo quando questi sono relativamente bassi, e pertanto il numero di casi è così piccolo da non avere una sufficiente significatività statistica in altri tipi di studi.

Il primo dato su un possibile rischio di cancro in seguito ad esposizione a campi ELF venne presentato nel 1979 [11] in seguito ad uno studio epidemiologico condotto sulla popolazione di età inferiore a 19 anni morta per cancro nel periodo 1950-1973 a Denver (Colorado). Lo studio indicherebbe un rischio di contrarre leucemie circa doppio tra i giovani residenti in prossimità di cavi elettrici aerei rispetto ai controlli. Lo studio presenta alcune lacune piuttosto gravi, tra cui la quantificazione dell'esposizione mediante la "configurazione elettrica" (*wiring code*) dei cavi presenti in prossimità delle abitazioni, che non è ovviamente un indice molto preciso.

L'importanza del problema deriva anche dal fatto che gli studi che ipotizzano un'associazione tra esposizione protratta a campi ELF e rischio di tumore indicano che l'effetto è imputabile a livelli di induzione magnetica molto bassi (circa 0,2 μT) [12], sensibilmente inferiori a quelli dovuti alla vicinanza di elettrodotti o anche a comuni apparecchi domestici nell'ambiente di vita (Tab. 2). L'eventuale rischio sarebbe attribuibile alla componente magnetica: per il campo elettrico non si

ipotizzano rischi sanitari conseguenti ad un'esposizione protratta in quanto quest'ultimo, a basse frequenze, penetra molto poco nel corpo umano e viene facilmente schermato da ostacoli quali le pareti delle abitazioni.

Anche se gli studi più recenti, condotti in particolare in paesi nord-europei, hanno meno limitazioni, le numerose indagini epidemiologiche effettuate in seguito al lavoro di Wertheimer e Leeper presentano in genere notevoli margini di incertezza, molti dei quali ineliminabili perché intrinseci al problema. I principali ostacoli riguardano la difficoltà di individuare una popolazione di riferimento non esposta (la presenza di energia elettrica è ubiquitaria nei paesi industrializzati) e di discernere il contributo di altri agenti che potenzialmente intervengono nell'instaurarsi di una patologia tipicamente multifattoriale quale è il cancro. Una notevole difficoltà riguarda la quantificazione dell'esposizione: essa può venire stimata con misure dirette mediante opportuni strumenti, ma anche in modo indiretto attraverso calcoli matematici oppure creando classificazioni basate, ad esempio, sulla distanza delle abitazioni rispetto agli elettrodotti (esposizioni residenziali) oppure sulla mansione lavorativa (esposizioni professionali). È evidente che molti di tali metodi generano notevoli imprecisioni: ad esempio il fatto che una persona sia impiegata in una compagnia elettrica non implica necessariamente una forte esposizione a campi elettrici e magnetici.

È inoltre molto importante stimare quali possano essere le reali dimensioni del rischio, nel caso che l'ipotesi di un ruolo dei campi nell'insorgenza dei tumori fosse confermata. Stime elaborate dall'Istituto Superiore di Sanità [13] evidenziano che, sulla base di un rischio relativo di 1,3 indicato da una recente meta-analisi [3] (e considerando come "esposti" tutti gli individui residenti entro 100 m di distanza da linee elettriche a 380 kV, entro 75 m da linee a 220 kV ed entro 45 m da linee a 150/132 kV) i casi di leucemia infantile in Italia imputabili alla presenza di campi magnetici sarebbero dell'ordine di uno-due all'anno. Un risultato analogo si ottiene per i tumori cerebrali, per i quali tuttavia le indicazioni epidemiologiche sono meno consistenti. Confrontando ancora il rischio relativo con i dati statistici sulla leucemia infantile, si può stimare, per un soggetto esposto, un rischio di insorgenza di leucemia dell'ordine di 1/25000 per anno ed un rischio di morte dell'ordine di 1/100000 per anno. Tali rischi sono assai inferiori rispetto ad altri rischi della comune vita quotidiana o a quelli imputabili a vari agenti inquinanti largamente diffusi.

Studi *in vitro*

Le incertezze e le contraddizioni dei dati epidemiologici rendono ancora più importante l'individuazione di eventuali meccanismi biologici che

spieghino possibili interazioni tra campi ELF ed organismi e forniscano quindi plausibilità all'ipotesi di cancerogenicità dei campi ELF. In questo senso sono fondamentali gli studi biologici *in vitro*.

Gli studi di base che hanno indagato i possibili effetti dell'esposizione a campi ELF sulle funzioni cellulari sono centinaia. Essi utilizzano modelli biologici differenti e condizioni sperimentali molto varie, che comprendono intensità di campo elettrico da pochi V/m fino ad oltre 100 kV/m e di campo magnetico da qualche decimo di mT fino ad oltre 1 T.

Molti di essi non hanno evidenziato effetti. Sono stati tuttavia osservati anche effetti a livello cellulare su funzioni assai diverse tra loro, per cui al momento non è chiaro né quali possano essere i meccanismi di interazione (non spiegabili con effetti termici come quelli che si verificano in seguito ad esposizione a radiofrequenze o a microonde, né con altri meccanismi, come la stimolazione di tessuti elettricamente eccitabili da parte di correnti elettriche indotte), né se vi siano conseguenze che possano riflettersi sulla salute dell'organismo intero, non essendovi chiare relazioni tra gli effetti biologici segnalati su parametri specifici e lo stato fisiologico più generale.

Tra gli effetti che sono stati più spesso segnalati si possono ricordare: alterazioni nel ciclo di crescita e nella proliferazione delle cellule, aumenti nell'attività del ciclo dell'enzima ornitina-decarbossilasi (ODC), alterazioni nella quantità di RNA trascritti e di proteine tradotte (senza effetti diretti sul DNA o sui suoi meccanismi di riparazione). Gli unici effetti replicabili, per i quali sono stati ipotizzati precisi meccanismi di azione, riguardano modificazioni nella membrana cellulare e conseguentemente nella trasduzione di segnali: in particolare sono state descritte alterazioni nel normale scambio di ioni (principalmente calcio) [14].

L'effetto sullo scambio degli ioni, insieme all'osservazione di una possibile riduzione della produzione di melatonina da parte della ghiandola pineale, sono al momento oggetto di particolare attenzione. È infatti nota la cruciale importanza dello ione calcio e della sua mobilitazione nello scatenare vari fenomeni biochimici e metabolici. Per quanto riguarda la melatonina, si ipotizza che la sua diminuzione possa essere collegata ad alcune forme di tumore.

I dati sperimentali sono sufficienti per poter affermare con un buon margine di sicurezza che i campi magnetici non possono funzionare come iniziatori del cancro ma eventualmente come promotori. È noto che il fenomeno tumorale richiede stadi successivi per il suo innesco. L'iniziazione è costituita da una serie di eventi che provocano un'alterazione irreversibile nella cellula, aumentandone la probabilità di divenire neoplastica. La promozione provoca la conversione ad un fenomeno neoplastico manifesto. La progressione infine comprende quella serie di eventi tipici della cellula trasformata,

quali: perdita del controllo della proliferazione, alterazioni strutturali, capacità di invadere tessuti circostanti, etc. L'agente induttore è quasi sempre diverso dall'agente promotore. Inoltre in natura in genere gli agenti non agiscono da soli ma in sinergia. Il cancro è infatti tipicamente una patologia multifattoriale, e questo è uno dei motivi per cui - tornando al problema dei dati epidemiologici - è molto difficile distinguere il contributo di un singolo agente ritenuto pericoloso quando esso è ubiquitario e coesistente con numerosi altri fattori potenzialmente nocivi. L'affermazione che i campi ELF non possono probabilmente avere un ruolo di induzione di tumori è basata in particolare sul fatto che non sono stati osservati cambiamenti tipicamente associati all'induzione, quali: anomalie cromosomiche, alterazioni dirette su DNA o sui meccanismi della sua riparazione. Le interazioni con il tasso di crescita o con l'attività dell'ODC potrebbero invece essere correlate ad un'azione promotrice della cancerogenesi, come ampiamente discusso da Wilson *et al.* [15].

Anche gli studi di base *in vitro*, così come quelli epidemiologici, presentano difficoltà e conseguentemente incertezze nei risultati. In particolare sembrerebbero esservi risposte transitorie o molto sfasate nel tempo rispetto alla perturbazione esogena, non vi sono relazioni del tipo dose-risposta né soglie, esistono "finestre" di frequenza o intensità del campo utilizzato che generano risposte diverse e in qualche caso opposte [16]. I risultati sperimentali inoltre sono spesso difficilmente ripetibili e presentano notevoli variazioni in modelli cellulari differenti e a seguito di piccole variazioni dei parametri sperimentali fisici (geometria dell'esposizione, durata, ampiezza, frequenza, forma d'onda). Infine, come per tutti i risultati *in vitro*, non è possibile un'estrapolazione diretta al modello *in vivo*.

È particolarmente interessante comprendere quali possano essere le interazioni tra campi elettromagnetici e sistema immunitario, avendo quest'ultimo una funzione essenziale per l'organismo, proteggendolo da patogeni esterni e dallo sviluppo di tumori. Dato il particolare interesse suscitato dal dibattito circa i potenziali effetti nocivi dovuti a prolungate esposizioni ai campi a 50 Hz generati dalla corrente elettrica alternata comunemente impiegata, e date le variazioni e le incertezze che si incontrano variando le condizioni espositive, focalizzeremo l'attenzione sui possibili effetti dei campi sinusoidali a 50 Hz sul sistema immunitario studiati *in vitro*, con particolare riguardo all'immunità mediata da cellule. Non verranno invece considerate le ricerche - eccezion fatta per alcuni studi di particolare interesse nel contesto da noi considerato - condotte con campi pulsati a 50 Hz, che risultano difficilmente confrontabili con quelli che utilizzano campi sinusoidali. L'analisi non vuole essere una rassegna con pretese di completezza, ma semplicemente una presentazione più generale per indicare (nei limiti consentiti dall'estrema eterogeneità dei dati) gli orientamenti generali che sembrano emergere.

Campi ELF e sistema immunitario: studi *in vitro*

I linfociti costituiscono per vari motivi un buon modello sperimentale che si presta a studi *in vitro*. In particolare sono adatti per effettuare studi sugli effetti dei campi elettromagnetici - che si esplicherebbero in particolare a livello di membrana cellulare coinvolgendo gli scambi ionici ed i legami tra ligando e recettore - in quanto sono ben noti sia i processi di attivazione che i meccanismi di trasduzione del segnale.

Gli studi relativi agli effetti dei campi ELF *in vitro* vengono in genere effettuati utilizzando bobine di vario tipo. In tal modo il campo magnetico rappresenta il fattore primario di esposizione. I campi magnetici variabili nel tempo generano però campi elettrici secondo la legge di Faraday, e non è dunque sempre facile discernere se eventuali effetti siano imputabili alla componente elettrica oppure a quella magnetica, in mancanza di informazioni sul meccanismo di interazione.

Un approccio differente consiste nello studio *in vitro* di parametri biologici di organismi esposti *in vivo*. Tali indagini possono essere condotte su uomini esposti per motivi professionali oppure su animali esposti sperimentalmente. Circa il primo tipo di studi si possono citare ad esempio indagini su eventuali alterazioni citogenetiche nei linfociti di lavoratori addetti a sottostazioni elettriche: esse hanno suggerito un possibile ruolo dei campi ELF nel determinare una riduzione della proliferazione e dell'indice mitotico e nell'indurre danni quali aberrazioni cromosomiche oppure scambi tra cromatidi [17, 18]. Come esempio del secondo tipo di studi si può ricordare una ricerca nella quale sono stati esposti topi a campi magnetici (50 Hz, 30 mT) per periodi compresi tra i 7 e i 28 giorni. Essa non ha evidenziato alterazioni né a livello cromosomico (scambi tra cromatidi) né nella proliferazione dei linfociti [19].

Gli studi in cui l'esposizione delle cellule viene realizzata direttamente *in vitro* sono molto numerosi. I risultati ottenuti in laboratori diversi variano molto a seconda delle condizioni sperimentali.

Sebbene i risultati di diversi studi siano negativi, sono stati descritti effetti in particolare sulla sintesi di RNA e DNA, sulla mobilitazione del calcio intracellulare e sull'attività citotossica.

Per quanto riguarda la sintesi di RNA, si possono verificare aumenti in cellule HL-60 esposte a campi sinusoidali a 60 Hz (1 o 1,5 mT) per alcune decine di minuti [20, 21].

Per quanto riguarda la sintesi di DNA sono stati osservati sia aumenti che diminuzioni in conseguenza dell'esposizione. Gli effetti sono comunque osservabili solo sui linfociti attivati, mentre le cellule quiescenti non sembrano subire alterazioni. Con onde triangolari o quadre a diversa frequenza (3 Hz, 50 Hz; induzioni magnetiche comprese tra 2 e 10 mT; durata di esposizione di 2 o 3 giorni) sono state osservate riduzioni notevoli

nella sintesi di DNA (fino al 60%) [22-25]. È difficilmente spiegabile il fatto che in condizioni simili (analogo range di intensità e durata, onde triangolari o sinusoidali a 50 Hz) è stato anche osservato un effetto opposto, e cioè un aumento della sintesi [26, 27].

È opportuno ricordare come un rapido aumento del calcio libero nel citosol rappresenti uno dei primi fenomeni nell'attivazione delle cellule T. Anche circa la mobilitazione del calcio sono stati descritti eventi opposti conseguenti all'esposizione a campi ELF. È stata descritta una riduzione nell'ingresso dello ione dipendente dalla stimolazione con fitoemoagglutinina (PHA) in linfociti umani esposti ad onde quadre (3 Hz, 6 mT, 1 h) [22, 23]. Un incremento nell'ingresso del calcio dipendente dal trattamento con concanavalina A (Con A) è stato invece osservato in linfociti murini esposti a campi sinusoidali a 60 Hz (22 mT, 1 h) [28]. Un incremento del calcio intracellulare in seguito ad esposizione ad un campo magnetico sinusoidale (50 Hz, 0,1 mT) è stato osservato anche nella linea cellulare T Jurkat, con una risposta estremamente rapida (15-20 s dopo l'applicazione del campo) [29].

È stato ipotizzato che l'influenza dei campi ELF (60 Hz, 8 mT, 20 min) sulla concentrazione intracellulare del calcio possa riflettersi sull'attivazione genica in cellule HL-60 [30].

Alcuni autori hanno evidenziato possibili effetti sull'attività citotossica. Campi magnetici pulsati uniformi (onde quadre, 0,8 Hz, tempo di salita 0,1 s) sembrano provocare un aumento nell'attività citotossica *in vitro* di cellule natural killer (NK) di topi esposti ai campi *in vivo*, con una dipendenza sia dall'età dell'animale (oltre le 12 settimane) che dal livello di induzione magnetica del campo (tra 30 e 120 mT) [31]. È stato anche ipotizzato che i campi magnetici possano influenzare la crescita di tumori nei topi a causa di un'azione inibitrice sull'attività NK. L'effetto è stato osservato esponendo i topi a campi magnetici a 60 Hz (2 mT) dopo trattamento con il carcinogeno 7,12-dimetil-beza(a)antracene (DMBA) e l'agente promotore di tumori 12-O-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) [32].

La funzione citotossica *in vitro* è stata studiata esponendo le cellule anche a campi elettrici. Un effetto inibitorio è stato osservato esponendo linfociti T citotossici murini della linea CTLL-1 a campi elettromagnetici a 450 MHz (1,50 mW/cm², 2 o 4 h) modulati in ampiezza sinusoidalmente a 60 Hz, mentre inibizioni minori sono osservabili quando la frequenza di modulazione è 100, 80, 40, 16, 3 Hz [33]; lo stesso effetto inibitorio è stato osservato esponendo i linfociti a campi elettrici oscillanti a 60 Hz (0,1 - 10 mV/cm, 48 h) con risposta dose-dipendente [34].

La funzione citotossica, data la natura dei meccanismi che la innescano, è ovviamente strettamente correlata allo stato morfologico e funzionale della membrana sia delle cellule effettrici che delle cellule bersaglio. Phillips

et al. [35, 36] hanno studiato le caratteristiche della membrana mediante saggi di suscettibilità alla citolisi e test di legame con anticorpi monoclonali dopo esposizione di cellule di carcinoma di colon umano (Colo 320 DM e Colo 205) per 24 ore a campi a 60 Hz (campi elettrici simulati trasferendo al campione una densità di corrente elettrica pari a 300 mA/m², campi magnetici di 0,1 mT e campi elettrici e magnetici con le stesse caratteristiche combinati). Un'augmentata resistenza alla lisi mediata da cellule NK è stata osservata a seguito di esposizione ai campi magnetici soli o ai campi elettrici e magnetici combinati [35]. I test di legame con anticorpi sembrano indicare che le cellule esposte ai campi magnetici soli o ai campi elettrici e magnetici combinati esprimono antigeni tumore-associati in quantità maggiore rispetto ai controlli [36]. È noto che i recettori per la transferrina sono espressi più del normale in cellule maligne o in cellule in attiva proliferazione e che il loro numero è inversamente proporzionale alla densità cellulare. Considerando che essi si legano alla transferrina presente sulle cellule citotossiche NK, gli stessi autori hanno condotto alcuni esperimenti sul legame della transferrina sulle cellule Colo 320 DM e Colo 205 [37]: questi studi sembrano indicare che il numero dei recettori per la transferrina su cellule esposte a campi elettrici e magnetici combinati o a campi magnetici soli sia maggiore rispetto ai controlli, oltrepassando il numero massimo previsto teoricamente in base alla densità cellulare. Le cellule esposte ai soli campi elettrici sembrano invece esprimere il recettore per la transferrina in quantità minore rispetto a quanto prevedibile in base alla densità cellulare.

Sono stati condotti dal nostro gruppo esperimenti che indicherebbero l'assenza di effetti imputabili all'esposizione a campi magnetici sull'attività citotossica e sulla proliferazione di linfociti del sangue periferico (PBL) e di cellule NK umane purificate esposti *in vitro* a campi magnetici a 50 Hz. Gli esperimenti sono stati condotti con cellule provenienti da numerosi donatori in condizioni espositive differenti per intensità (tra 0,1 e 10 mT), durata (fino a 3 giorni), modalità (esposizione di cellule effettrici, di cellule target o di entrambi, prima o durante i test di citotossicità). I medesimi risultati sono stati anche ottenuti in varie condizioni sperimentali sia per quanto riguarda l'attivazione delle cellule effettrici con fitoemoagglutinina (PHA), interleuchina 2 (r-IL2), concanavalina A (conA), anticorpi OKT3 e B73.1 e ionoforo A23187, che per quanto riguarda i tipi di cellule bersaglio utilizzate NK-sensibili (K562, U937) ed NK-resistenti (DAUDI, Raji, H14, IGROV, SW626, HL60) [38, 39].

Non avendo evidenziato effetti sull'attività citotossica, abbiamo voluto studiare più dettagliatamente i primi stadi del processo citolitico nell'eventualità di un effetto dei campi ELF sulle membrane delle cellule effettrici e bersaglio che possa influenzare la formazione del coniugato NK-bersaglio, effetto che potrebbe essere

compensato nelle fasi successive mediante un meccanismo riparativo (spiegando così i risultati negativi ottenuti precedentemente): in realtà anche questa ricerca ha dato risultati negativi [40]. Sono inoltre in corso test immunoenzimatici per quantificare la produzione di citochine (*interferon* γ (IFN γ), *tumor necrosis factor* α e β (TNF α e β)) e saggi con sonde fluorescenti che permettono di quantificare gli scambi dello ione calcio attraverso le membrane. I dati finora raccolti sembrano indicare l'assenza di effetti imputabili ai campi ELF.

Come emerge da quanto finora illustrato, i parametri cellulari studiati in seguito all'esposizione ai campi ELF sono estremamente vari. Pur essendo i risultati molto disomogenei, è importante sottolineare che la maggior parte delle ricerche sembra escludere l'eventualità di danni diretti. Tale osservazione è particolarmente importante in primo luogo per quanto riguarda il patrimonio genetico. Un modo con cui l'argomento è stato affrontato è, per esempio, lo studio della possibilità di formazione di micronuclei in seguito ad esposizione a campi elettrici a 50 Hz [41]. In precedenza il medesimo gruppo di ricercatori, utilizzando un modello sperimentale differente - linfociti bovini anziché umani - aveva tuttavia trovato risultati positivi, evidenziando aberrazioni cromosomiche imputabili all'esposizione a campi elettrici a 50 Hz [42]. Per tale discordanza di risultati gli stessi autori non hanno trovato spiegazioni certe.

È stato studiato ampiamente anche il ciclo cellulare, che non sembra possa essere alterato dall'esposizione a campi elettrici e magnetici a 60 Hz [43].

Numerosi ricercatori stanno attualmente valutando la possibilità di effetti dei campi ELF sull'ODC, dato il suo possibile ruolo nei fenomeni di cancerogenesi cui si è precedentemente accennato: a seguito di esposizione a campi elettrici a 60 Hz (10 mV/cm, 1 h) è stato osservato un incremento dell'attività enzimatica dell'ODC in cellule linfoidi CEM [44].

Meccanismi di interazione

Possibili meccanismi di interazione

Un passo fondamentale per accertare la plausibilità dell'ipotesi che un dato agente fisico possa dare luogo a degli effetti biologici che a loro volta si possano tradurre in un rischio per la salute dell'uomo, è quello di identificare dei meccanismi di interazione tra agente fisico e sistema biologico.

Come visto in precedenza sono ben noti i meccanismi di interazione tra campi ELF e sistemi biologici responsabili di alcuni effetti acuti quando le intensità dei campi sono sufficientemente alte da indurre correnti elettriche nel corpo umano che possano stimolare i tessuti elettricamente eccitabili. D'altra parte, attualmente

non sono stati identificati con certezza meccanismi di interazione che possano spiegare altri effetti biologici prodotti da campi ELF di intensità molto più bassa.

Spesso gli effetti dei campi ELF sono stati osservati *in vitro* in seguito ad esposizioni con caratteristiche (quali la frequenza, l'intensità, la forma d'onda) molto specifiche, variando anche di poco le quali l'effetto non era più rilevabile: come già sottolineato, sono state infatti riportate "finestre" in frequenza (effetto osservato solo per frequenze comprese in determinati intervalli), o anche "finestre" in ampiezza, ed alcuni effetti osservabili a seguito di esposizione a onde pulsate non lo erano più se la forma d'onda utilizzata era sinusoidale. D'altra parte, i risultati di esperimenti condotti in determinati laboratori sono spesso difficilmente replicabili (pur se a parità di condizioni espositive) in altri laboratori.

Resta quindi ancora aperto il problema dell'individuazione di un meccanismo di interazione che possa non solo dare una plausibilità biologica ad almeno alcuni degli effetti osservati, ma che possa nel contempo dare conto delle difficoltà che si incontrano nella ricerca sperimentale dal punto di vista della riproducibilità dei risultati in diversi laboratori, e all'interno dello stesso laboratorio al variare dei parametri espositivi.

Sono stati riportati cambiamenti nei recettori molecolari sulla superficie cellulare e nel legame di ioni sulla superficie di membrana. È stato proposto che le correnti elettriche indotte dai campi ELF che scorrono nei tessuti attorno alle cellule (a causa dell'elevata impedenza delle membrane cellulari) possano indurre alterazioni elettrochimiche nei componenti della superficie di membrana [45]. A seguito di ciò si può avere l'invio di segnali attraverso la membrana cellulare che producono alterazioni nelle funzioni biochimiche e fisiologiche intracellulari. L'elemento chiave in questo processo è la conduzione del segnale all'interno della membrana, per la quale sono stati proposti diversi meccanismi raggruppabili in due classi: a) fenomeni cooperativi a lungo raggio che si stabiliscono all'interno della matrice di glicoproteine e lipoproteine che costituiscono la membrana cellulare; b) eventi localizzati su recettori della superficie esterna della membrana, o eventi che accadono in canali ione-selettivi che attraversano la membrana ed accoppiano elettricamente i fluidi intra- ed extra-cellulari.

Una prima classe di meccanismi proposti è quella dei fenomeni cooperativi [46]: un campo elettrico indotto nel tessuto da campi elettrici e magnetici ELF esterni è molti ordini di grandezza al di sotto di quello esistente in una membrana cellulare. È stato pertanto proposto che si possa instaurare un processo di amplificazione in cui un debole campo elettrico indotto nel fluido extracellulare dia l'avvio ad una serie di eventi cooperativi a lungo raggio all'interno della membrana. Queste teorie sembrano comunque più facilmente applicabili a frequenze molto al di sopra di quelle ELF.

Un'altra classe di meccanismi è quella delle interazioni localizzate: i campi ELF deboli potrebbero alterare in modo significativo sia le interazioni ligando-recettore sulla superficie della membrana che il movimento di elettroliti attraverso la membrana.

Chiabrera *et al.* [47] hanno proposto che un moto microelettroforetico indotto nella membrana cellulare da campi ELF possa influenzare la distanza media tra i ligandi carichi e i recettori superficiali ai quali sono legati. L'effetto è quello di diminuire la vita media dei complessi ligando-recettore sulla superficie cellulare. Ciò potrebbe influenzare vari effetti biologici come l'attivazione di linfociti da parte di antigeni e lectine. Potrebbero essere altresì influenzati i meccanismi di *gating* che controllano il trasporto attraverso la membrana di vari tipi di cationi come il calcio.

Alcune evidenze sperimentali sembrano indicare effetti sul trasporto di ioni attraverso la membrana cellulare in sistemi esposti contemporaneamente a campi elettrici e magnetici ELF di opportuna frequenza e campi statici dell'ordine di quello terrestre. Un meccanismo di interazione basato sul fenomeno fisico della risonanza di ciclotrone ci sembra molto interessante, per cui il paragrafo successivo è dedicato alla descrizione di questa ipotesi, al fine di poter giudicare non solo se questa possa rappresentare una valida spiegazione dei risultati delle ricerche già effettuate, ma anche se possa dare utili indicazioni per la ricerca futura.

La risonanza di ciclotrone ionica

Alcuni studi hanno evidenziato variazioni nel rilascio di ioni Ca^{2+} dalla superficie di cellule del cervello di pollo esposte *in vitro* a campi elettrici [48] o contemporaneamente a campi elettrici e magnetici [49] oscillanti alla frequenza di 16 Hz, mentre gli stessi autori non hanno osservato questo effetto ad altre frequenze (1 Hz e 32 Hz) (finestre in frequenza); inoltre questi effetti sono stati osservati solo per alcune intensità di campo, ma non per altre (finestre in ampiezza).

Successivi studi [16, 50] hanno rivelato che i valori di frequenza ai quali si osservano effetti dipendono dal valore dell'induzione magnetica del campo geomagnetico statico locale (o di un opportuno campo statico generato in laboratorio). Un segnale a 15 Hz produceva cambiamenti in presenza di un campo statico B_s pari a 38 μT (dovuto unicamente al campo geomagnetico locale), ma non quando questo campo era ridotto, tramite opportune bobine, a 19 μT ; un segnale a 30 Hz era capace di produrre variazioni se il campo statico era pari a 25,3 μT o 76 μT , ma non se assumeva il valore di 38 μT ; infine un segnale a 45 Hz era efficace per $B_s = 30 \mu\text{T}$. In base a questi risultati è stata derivata la seguente relazione di proporzionalità tra la frequenza f_0 alla quale si osserva

l'effetto e il valore dell'induzione magnetica del campo

$$\text{statico: } f_0 = \frac{(2n+1)AB_s}{2\pi}$$

dove $n = 0$ o 1 , e $A = 2.5 \times 10^6 \text{ C/kg}$.

Alcuni autori [51-53] hanno suggerito che queste risultanze sperimentali possano essere legate alla risonanza di ciclotrone ionica, il cui meccanismo fondamentale è il seguente: una particella di massa m dotata di carica elettrica q , in moto con velocità \vec{v} in un campo magnetico statico \vec{B} , essendo sottoposta alla forza di Lorentz $q\vec{v} \times \vec{B}$, descrive una traiettoria elicoidale circolare, con asse parallelo al campo magnetico e raggio

$$r = \frac{mv_{\perp}}{qB}$$

dove v_{\perp} è la componente della velocità perpendicolare al campo magnetico. La frequenza di rotazione intorno all'asse dell'elica circolare (frequenza di ciclotrone) è pari a

$$f_c = \frac{qB}{2\pi m}$$

Liboff [51], ipotizzando che un campo elettromagnetico oscillante alla frequenza di ciclotrone, o ad una sua armonica, possa cedere energia ad una particella in moto in un campo magnetico statico, ha osservato che il fattore A degli esperimenti sull'efflusso del Ca^{2+} corrisponde al rapporto carica/massa dello ione K^+ , e ne ha dedotto che probabilmente i risultati sperimentali erano legati ad alterazioni nello scambio di membrana $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$. Egli ha anche notato che: 1) il valore sperimentale di A corrisponde allo ione potassio non idrato, situazione difficile da incontrare nell'ambiente cellulare, tranne che in alcuni compartimenti della cellula, in particolare quelli in cui si ha trasporto di cariche attraverso le membrane plasmatica, mitocondriale e nucleare; 2) affinché la particella carica mantenga la sua traiettoria elicoidale è necessario che il cammino libero medio sia maggiore di $2\pi r$, e questo è possibile durante il trasporto ionico attraverso i canali di membrana che, essendo selettivi, dovrebbero limitare di molto le collisioni con altre specie ioniche e molecolari; 3) perché il raggio r sia di dimensioni ragionevoli rispetto a quelle cellulari, l'energia della particella deve essere molti ordini di grandezza inferiore a quella termica KT , ma ciò rende molto difficile il mantenimento della traiettoria in presenza di fluttuazioni termiche. Tutte queste considerazioni hanno portato ad individuare come sito dell'interazione i canali di membrana, in particolare alcuni canali dotati di struttura elicoidale (per esempio quelli della batteriorodopsina, del recettore dell'acetilcolina o della gramicidina A), dove lo ione è vincolato a muoversi lungo una traiettoria elicoidale, di raggio predeterminato e quindi indipendente dall'energia dello ione.

Obiezioni a questa teoria sono state avanzate da Halle [54] con considerazioni fisiche basate sulla meccanica classica che possiamo riassumere come segue: i fenomeni di risonanza esistono quando in un dato sistema sono presenti un moto periodico caratterizzato da una frequenza naturale ed una forza esterna dipendente dal tempo che, se accordata alla frequenza naturale, può eccitare il modo naturale di moto e di conseguenza trasferire energia al sistema. La frequenza naturale del sistema, nel caso che stiamo considerando del moto di ioni attraverso i canali elicoidali di membrana, è dipendente dal livello di campo magnetico statico. Ma perché ciò sia vero, è necessario che il moto dello ione sia in qualche modo influenzato dalla presenza del campo magnetico. Sulla base delle classiche equazioni di Lagrange del moto, Halle ha dimostrato che il moto di una particella lungo una traiettoria prestabilita (i canali elicoidali) non è influenzato in alcun modo dal campo magnetico, e ciò si spiega col fatto che la forza di Lorentz è sempre perpendicolare alla velocità ed è pertanto sempre annullata dalla reazione vincolare delle pareti del canale di membrana. Quindi, perché il campo magnetico statico possa influenzare il moto di una particella, questo non deve essere vincolato a seguire una traiettoria prestabilita. Halle esamina quindi il caso di uno ione libero, il cui moto non è vincolato, accoppiato dinamicamente all'ambiente molecolare circostante ed osserva che le forze magnetiche sono trascurabili rispetto a quelle dissipative di frizione.

Sandweiss [55] ha calcolato che, considerando uno ione calcio dotato di energia pari a 3,45 eV [53] ed immerso in un campo statico di 35 μT , il raggio corrispondente (evidentemente l'ipotesi di traiettoria predeterminata attraverso il canale di membrana non è stata accettata) ha il valore troppo grande di 48 m. Un raggio di dimensioni confrontabili a quelle dei canali di membrana è possibile solo se l'energia dello ione calcio è molto più bassa, circa $1,5 \times 10^{-13}$ eV, molti ordini di grandezza al di sotto dell'energia termica, pari a circa 0,025 eV, e ciò porta ad escludere, secondo Sandweiss, qualsiasi effetto basato sulla risonanza. Un'altra obiezione, sempre formulata da Sandweiss [55], riguarda i tempi di collisione medi: un tempo di collisione pari a 0,023 s, stimato da Liboff e McLeod [53] per avere un picco di risonanza abbastanza stretto, risulta essere molto più grande dei tempi di collisione stimati sulla base di considerazioni generali basate su principi fisici (circa 10^{-11} s).

Una trattazione rigorosa della risonanza di ciclotrone è stata effettuata da Durney *et al.* [56] nel caso di una particella carica in moto in un mezzo viscoso esposta a campi magnetici statici e oscillanti (e ai campi elettrici indotti dai campi magnetici oscillanti). Il modello è dichiaratamente una rappresentazione molto semplificata di un sistema biologico in quanto non considera altri fattori inevitabili come fluttuazioni termiche, forze

meccaniche, gradienti chimici, e forze dovute ad altre particelle cariche, ma permette di cominciare a capire l'origine di alcune evidenze sperimentali, in particolare le "finestre" non solo in frequenza ma anche in ampiezza. Un'indicazione di questo modello è che effetti di risonanza su ioni in soluzione sono altamente improbabili a causa delle collisioni, confermando quanto previsto da Liboff [51], per cui il sito dell'interazione è probabilmente da ricercarsi in altri siti, come per esempio i canali di membrana.

Ci sembra opportuno citare in questa sede un altro meccanismo, detto della risonanza parametrica [57], che, pur essendo completamente diverso dalla risonanza di ciclotrone, può dare una spiegazione degli stessi risultati sperimentali. Senza entrare nel dettaglio, basti dire che anche questo meccanismo prevede un effetto combinato del campo magnetico statico e di un campo magnetico oscillante, e la relazione tra frequenza del campo oscillante e l'intensità del campo statico è la stessa della risonanza di ciclotrone.

McLeod *et al.* [58] hanno studiato la mobilità delle diatomee supiastre di agar (dipendente dalla concentrazione dello ione Ca^{2+} nel mezzo) ottenendo un suo aumento a seguito di esposizione a campi statici ed ELF soddisfacenti la condizione di risonanza ciclotronica del calcio non idrato. Sempre sotto questa condizione di risonanza, si è osservato un aumento dell'incorporazione di ^{45}Ca in linfociti umani [59]. La difficile replicabilità di questi risultati si può spiegare sulla base dell'ipotesi di risonanza di ciclotrone (ma, come abbiamo visto, anche ipotizzando un meccanismo di risonanza parametrica) considerando che il campo geomagnetico varia tra i diversi laboratori, e nello stesso laboratorio il campo statico è influenzato dalla presenza di oggetti ferromagnetici.

È da notare, comunque, che diverse ricerche progettate in modo da controllare sia i campi ELF che il campo statico hanno dato risultati negativi. Parkinson e Hanks [60] non hanno trovato effetti dei campi ELF in condizioni di risonanza ciclotronica sulla concentrazione intracellulare dello ione calcio per mezzo di una sonda fluorescente in quattro diverse linee cellulari *in vitro*. Prasad *et al.* [61] non sono riusciti a riprodurre i risultati di Liboff *et al.* [59] relativi all'incorporazione di ^{45}Ca in linfociti umani. Coulton e Barker [62] hanno studiato la concentrazione del calcio intracellulare libero in linfociti di topo esposti a campi magnetici in condizione di risonanza ciclotronica, ma non hanno notato effetti. Galt *et al.* [63] non hanno osservato variazioni nel trasporto degli ioni idrogeno e potassio attraverso i canali di una membrana cellulare artificiale costituita da un doppio strato lipidico in cui sono state incorporate molecole di gramicidina A. Højevik *et al.* [64] hanno studiato il trasporto dello ione calcio attraverso i canali di membrana di cellule viventi mediante la tecnica del *patch-clamp* senza evidenziare alcun effetto di risonanza.

Conclusioni

Gli studi sperimentali sugli effetti biologici dei campi ELF che possano tradursi in un aumentato rischio di contrarre tumori (indicato da diverse indagini epidemiologiche) hanno fornito una qualche evidenza di effetti su varie funzioni cellulari, sebbene i risultati siano spesso contraddittori.

Sembra accertato che un eventuale ruolo dei campi ELF nella cancerogenesi non sia da ricercare in un'azione iniziatrice del cancro, ma piuttosto in una promotrice. Particolarmente importanti sono gli studi volti ad appurare l'esistenza di interazioni tra i campi elettromagnetici e il sistema immunitario. Anche i risultati di questi studi sono contraddittori, e per questo sono di fondamentale importanza le ricerche di tipo teorico che si propongono di individuare possibili meccanismi di interazione che diano plausibilità biologica agli effetti osservati e, nel contempo, rendano conto della difficile riproducibilità dei risultati sperimentali.

Un meccanismo molto interessante da questo punto di vista è quello della risonanza di ciclotrone ionica, sebbene la teoria non sia ancora soddisfacente: si può considerare questo meccanismo, o più precisamente la relazione tra campo statico e frequenza di risonanza (prevista anche dalla teoria della risonanza parametrica), come un'ipotesi di lavoro sulla base della quale si possono ideare e realizzare nuovi esperimenti, evitando di scegliere in maniera quasi casuale, come spesso sembra avvenire, i parametri che caratterizzano l'esposizione. Sulla base di questa ipotesi sono in corso nel nostro Istituto ricerche sugli effetti sul sistema immunitario dell'esposizione a campi magnetici ELF a frequenze diverse dai 50 Hz della rete elettrica, per verificare se la mancanza di effetti riscontrata nelle passate ricerche sia dovuta alla mancata condizione di risonanza tra l'intensità del campo magnetico statico terrestre e la frequenza del campo magnetico oscillante.

Ricevuto il 6 giugno 1995.
Accettato il 30 agosto 1995.

BIBLIOGRAFIA

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION/INTERNATIONAL RADIATION PROTECTION ASSOCIATION. 1987. *Magnetic Fields*. WHO, Geneva. (Environmental Health Criteria, 69).
2. INTERNATIONAL RADIATION PROTECTION ASSOCIATION/INTERNATIONAL NON IONIZING RADIATION COMMITTEE. 1990. Interim guidelines on limits of exposure to 50/60 Hz electric and magnetic fields. *Health Physics* **58**: 113-122.
3. NATIONAL RADIOLOGICAL PROTECTION BOARD. 1992. *Electromagnetic fields and the risk of cancer*. NRPB, Chilton, UK.
4. OAK RIDGE ASSOCIATED UNIVERSITIES. 1992. *Health effects of low-frequency electric and magnetic fields*. ORAU, Washington, DC.
5. EASLEY, S.P., COELHO, A.M. & ROGERS, W.R. 1991. Effects of exposure to a 60-Hz electric field on the social behavior of baboons. *Bioelectromagnetics* **12**: 361-375.
6. ANDERSON, L.E. 1993. Biological effects of extremely low-frequency electromagnetic fields: *in vivo* studies. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **54**(4): 186-196.
7. SIENKIEWICZ, Z.J., SAUNDERS, R.D. & KOWALCZUK, C.I. 1991. NRPB-R239. *Biological effects of exposure to non-ionising electromagnetic fields and radiations. II. Extremely low frequency electric and magnetic fields*. NRPB, Chilton, UK.
8. REITER, R.J. 1993. Static and extremely low frequency electromagnetic field exposure: reported effects on the circadian production of melatonin. *J. Cell. Biochem.* **51**: 394-403.
9. GAMBERALE, F. 1990. Physiological and psychological effects of exposure to extremely low-frequency electric and magnetic fields on humans. *Scand. J. Work Environ. Health* **16** (suppl. 1): 51-54.
10. WILSON, B.W. 1988. Chronic exposure to ELF fields may induce depression. *Bioelectromagnetics* **9**: 195-205.
11. WERTHEIMER, N. & LEEPER, E. 1979. Electrical wiring configurations and childhood cancer. *Am. J. Epidemiol.* **109**: 273-284.
12. SAVITZ, D.A., WACHTEL, H., BARNES, F.A., JOHN, E.M. & TVRDIK, J.G. 1988. Case-control study of childhood cancer and exposure to 60-Hz magnetic fields. *Am. J. Epidemiol.* **128**: 21-38.
13. PETRINI, C., POLICETTI, A. & VECCHIA, P. 1995. Campi magnetici e tumori: elementi per valutazioni di rischio nella realtà italiana. In: *Atti del XXVIII Congresso Nazionale Associazione Italiana di Protezione contro le Radiazioni*. Taormina, 13-16 ottobre 1993. A. Antonelli, A. Bartolotta, M. Brai, S. Hauser, P. Puccio & S. Rizzo (Eds). Università di Palermo. p. 321-326.
14. CLEARY, S.F. 1993. A review of *in vitro* studies: low-frequency electromagnetic fields. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* **54**(4): 178-185.
15. *Extremely low frequency electromagnetic fields. The question of cancer*. 1990. B.W. Wilson, R.G. Stevens & L.E. Anderson (Eds). Battelle Press, Columbus, USA.
16. BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., RABINOWITZ, J.R., HOUSE, D.E. & JOINES, W.T. 1985. A role for the magnetic field in the radiation-induced efflux of calcium ions from brain tissue *in vitro*. *Bioelectromagnetics* **6**: 327-338.
17. NORDENSON, I., HANSSON, MILD, K., OSTMAN, U. & LJUNGBERG, H. 1988. Chromosomal effects in lymphocytes of 400 kV-substation workers. *Radiat. Environ. Biophys.* **27**: 39-47.
18. KHALIL, A.M., QUASSEM, W. & AMOURA, F. 1993. Cytogenetic changes in human lymphocytes from workers occupationally exposed to high-voltage electromagnetic fields. *Electro- and magnetobiology* **12**(1): 17-26.
19. ZWINGELBERG, R., OBE, G., ROSENTHAL, M., MEVISSSEN, M., BUNTENKÖTTER, S. & LÖSCHER, W. 1993. Exposure of rats to a 50-Hz, 30-mT magnetic field influences neither the

- frequencies of sister-chromatid exchanges nor proliferation characteristics of cultured peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* **302**: 39-44.
20. GOODMAN, R., WEI, L.-X., XU, J.-C. & HENDERSON, A. 1989. Exposure of human cells to low-frequency electromagnetic fields result in quantitative changes in transcripts. *Biochim. Biophys. Acta* **1009**: 216-220.
21. GREENE, J.J., SKOWRONSKI, W.J., MULLINS, J.M., NARDONE, R.M., PENAFIEL, M. & MEISTER, R. 1991. Delineation of electric and magnetic field effects of extremely low frequency electromagnetic radiation on transcription. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **174**: 742-749.
22. CONTI, P., GIGANTE, G.E., ALESSE, E., CIFONE, M.G., FIESCHI, C., REALE, M. & ANGELETTI, P.U. 1985. A role for Ca^{2+} in the effect of very low frequency electromagnetic field on the blastogenesis of human lymphocytes. *FEBS Lett.* **181**: 28-32.
23. CONTI, P., GIGANTE, G.E., ALESSE, E., CIFONE, M.G., FIESCHI, C., REALE, M. & ANGELETTI, P.U. 1985. Effect of electromagnetic field on two calcium dependent biological systems. *J. Bioelectr.* **4**: 227-236.
24. MOONEY, N.A., SMITH, R. & WATSON, B.W. 1986. Effect of extremely-low-frequency pulsed magnetic fields on the mitogenic response of peripheral blood mononuclear cells. *Bioelectromagnetics* **7**: 387-394.
25. PETRINI, M., POLIDORI, R., AMBROGI, F., VAGLINI, F., ZANIOL, P., RONCA, G. & CONTE, A. 1990. Effects of different low-frequency electromagnetic fields on lymphocyte activation: at which cellular level? *J. Bioelectr.* **9**: 159-166.
26. COSSARIZZA, A., MONTI, D., BERSANI, F., CANTINI, M., CADOSSO, R., SACCHI, A. & FRANCESCHI, C. 1989. Extremely low frequency pulsed electromagnetic fields increase cell proliferation in lymphocytes from young and aged subjects. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **160**: 692-698.
27. ROSENTHAL, M. & OBE, G. 1989. Effects of 50 Hz electromagnetic fields on proliferation and chromosomal alterations in human peripheral blood lymphocytes untreated or pretreated with chemical mutagens. *Mutat. Res.* **210**: 329-335.
28. WALLECZEK, J. & LIBURDY, R.P. 1990. Nonthermal 60-Hz sinusoidal magnetic-field exposure enhances $^{45}Ca^{2+}$ uptake in rat thymocytes: dependence on mitogen activation. *FEBS Lett.* **271**: 157-160.
29. LINDSTRÖM, E., LINDSTRÖM, P., BERGLUND, A., HANSSON MILD, K. & LUNDGREN, E. 1993. Intracellular calcium oscillations induced in a T-cell line by a weak 50 Hz magnetic field. *J. Cell. Physiol.* **156**: 395-398.
30. KARABAKHTSIAN, R., BROUDE, N., SHALTS, N., KOCHLATYI, S., GOODMAN, R. & HENDERSON, A.S. 1994. Calcium is necessary in the cell response to EM fields. *FEBS Lett.* **349**: 1-6.
31. DE SEZE, R., BOUTHET, C., TUFFET, S., DESCHAUX, P., CARISTAN, A., MOREAU, J.M. & VEYRET, B. 1993. Effects of time-varying uniform magnetic fields on natural killer cell activity and antibody response in mice. *Bioelectromagnetics* **14**: 405-412.
32. McLEAN, J.R.N., STUCHLY, M.A., MITCHEL, R.E.J., WILKINSON, D., YANG, H., GODDARD, M., LECUYER, D.W., SCHUNK, M., CALLARY, E. & MORRISON, D. 1991. Cancer promotion in a mouse-skin model by a 60-Hz magnetic field. II. Tumor development and immune response. *Bioelectromagnetics* **12**: 273-287.
33. LYLE, D.B., SCECHTER, P., ADEY, W.R. & LUNDAK, R.L. 1983. Suppression of T-lymphocyte cytotoxicity following exposure to sinusoidally amplitude-modulated fields. *Bioelectromagnetics* **4**: 281-292.
34. LYLE, D.B., AYOTTE, D., SHEPPARD, A.R. & ADEY, W.R. 1988. Suppression of T-lymphocytes cytotoxicity following exposure to 60-Hz sinusoidal electric fields. *Bioelectromagnetics* **9**: 303-313.
35. PHILLIPS, J.L. & WINTERS, W.D. 1987. Electromagnetic field induced bioeffects in human cells *in vitro*. In: *Proceedings of the 23. Hanford Life Science Symposium "Interaction of biological systems with static and ELF electric and magnetic fields"*. Richland 2-4 ottobre 1984. L.E. Anderson, B.J. Kelman & R.J. Wiegel (Eds). Pacific Northwest Laboratory, Richland, WA, USA. p. 279-285.
36. PHILLIPS, J.L., WINTERS, W.D. & RUTLEDGE, L. 1986. *In vitro* exposure to electromagnetic fields: changes in tumour cell properties. *Int. J. Radiat. Biol.* **49**: 463-469.
37. PHILLIPS, J.L., RUTLEDGE, L. & WINTERS, W.D. 1986. Transferrin binding to two human colon carcinoma cell lines: characterization and effect of 60-Hz electromagnetic fields. *Cancer Res.* **46**: 239-244.
38. RAMONI, C., DUPUIS, M.L., GRANDOLFO, M., POLICHETTI, A. & VECCHIA, P. 1994. Modulation of the functional activity of NK cells by means of a sinusoidally varying magnetic field at 50 Hz. *Physica medica* **10** (suppl. 1): 90-91.
39. RAMONI, C., DUPUIS, M.L., VECCHIA, P., POLICHETTI, A., PETRINI, C., BERSANI, F., CAPRI, M., COSSARIZZA, A., FRANCESCHI, C. & GRANDOLFO, M. 1995. Human natural killer cytotoxic activity is not affected by *in vitro* exposure to 50-Hz sinusoidal magnetic fields. *Int. J. Radiat. Biol.* (in stampa).
40. RAMONI, C., CERACCHINI, C., DUPUIS, M.L., PETRINI, C., POLICHETTI, A. & VECCHIA, P. 1995. Effetto di campi magnetici sinusoidali a 50 Hz sulla interazione tra cellule Natural Killer e cellule bersaglio. In: *Atti del Convegno Nazionale AIRP "Radiazioni non ionizzanti: effetti biologici, sanitari ed ambientali"*. Como, 7-9 settembre 1994. P. Vecchia (Ed.). AIRP, Roma. p. 63-66.
41. SCARFI, M.R., BERSANI, F., COSSARIZZA, A., MONTI, D., ZENI, O., LIOI, M.B., FRANCESCHETTI, G., CAPRI, M. & FRANCESCHI, C. 1993. 50 Hz AC sinusoidal electric fields do not exert genotoxic effects (micronuclei formation) in human lymphocytes. *Radiat. Res.* **135**: 64-68.
42. D'AMBROSIO, G., MASSA, R., DI BERNARDINO, D., LIOI, M.B., SCAGLIONE, A. & SCARFI, M.R. 1988-89. Chromosomal aberrations in bovine lymphocytes exposed to 50-Hz electric currents. *J. Bioelectr.* **7**(2): 239-245.
43. COHEN, M.M., KUNSKA, A., ASTEMBORSKY, J.A., McCULLOCK, D. & PASKEWITZ, D.A. 1986. Effect of low-level, 60-Hz electromagnetic fields on human lymphoid cells. I. Mitotic rate and chromosome breakage in human peripheral lymphocytes. *Bioelectromagnetics* **7**: 415-423.
44. BYUS, C.V., PIEPER, S.E. & ADEY, W.R. 1987. The effects of low-energy 60-Hz environmental electromagnetic fields upon the growth-related enzyme ornithine decarboxylase. *Carcinogenesis* **8**: 1385-1389.

45. ADEY, W.R. 1980. Frequency and power windowing in tissue interactions with weak electromagnetic fields. *Proc. IEEE* **68**: 119-125.
46. ADEY, W.R. 1981. Tissue interactions with non-ionizing electromagnetic fields. *Physiol. Rev.* **61**: 435-514.
47. CHIABRERA, A., GRATAROLA, M. & VIVIANI, R. 1984. Interaction between electromagnetic fields and cells: microelectrophoretic effect on ligand and surface receptors. *Bioelectromagnetics* **5**: 173-191.
48. BAWIN, S.M. & ADEY, W.R. 1976. Sensitivity of calcium binding in cerebral tissues to weak environmental electric fields oscillating at low frequency. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **73**: 1999-2003.
49. BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., KINNEY, L.S., JOINES, W.T. & HOUSE, D.E. 1982. Effects of ELF fields on calcium-ion efflux from brain tissues *in vitro*. *Radiat. Res.* **92**: 510-520.
50. BLACKMAN, C.F., BENANE, S.G., HOUSE, D.E. & JOINES, W.T. 1985. Effects of ELF (1-120 Hz) and modulated (50 Hz) RF fields on the efflux of calcium ions from brain tissue *in vitro*. *Bioelectromagnetics* **6**: 1-11.
51. LIBOFF, A.R. 1985. Cyclotron resonance in membrane transport. In: *Interactions between electromagnetic fields and cells*. A. Chiabrera, C. Nicolini & H.P. Schwan (Eds). Plenum Press, New York, London. p. 281-296.
52. McLEOD, B.R. & LIBOFF, A.R. 1986. Dynamic characteristics of membrane ions in multifield configurations of low-frequency electromagnetic radiation. *Bioelectromagnetics* **7**: 177-189.
53. LIBOFF, A.R. & McLEOD, B.R. 1988. Kinetics of channelized membrane ions in magnetic fields. *Bioelectromagnetics* **9**: 39-51.
54. HALLE, B. 1988. On the cyclotron resonance mechanism for magnetic field effects on transmembrane ion conductivity. *Bioelectromagnetics* **9**: 381-385.
55. SANDWEISS, J. 1990. On the cyclotron resonance model of ion transport. *Bioelectromagnetics* **11**: 203-205.
56. DURNEY, C.H., RUSHFORTH, C.K. & ANDERSON, A.A. 1988. Resonant AC-DC magnetic fields: calculated response. *Bioelectromagnetics* **9**: 315-336.
57. LEDNEV, V.V. 1991. Possible mechanism for the influence of weak magnetic fields on biological systems. *Bioelectromagnetics* **12**: 71-75.
58. McLEOD, B.R., SMITH, S.D., COOKSEY, K.E. & LIBOFF, A.R. 1987. Ion cyclotron resonance frequencies enhance Ca^{++} -dependent motility in diatoms. *J. Bioelectr.* **6**: 1-12.
59. LIBOFF, A.R., ROZEK, R.J., SHERMAN, M.L., McLEOD, B.R. & SMITH, S.D. 1987. Ca^{2+} -45 cyclotron resonance in human lymphocytes. *J. Bioelectr.* **6**: 13-22.
60. PARKINSON, W.C. & HANKS, C.T. 1989. Search for cyclotron resonance in cells *in vitro*. *Bioelectromagnetics* **10**: 129-145.
61. PRASAD, A.V., MILLER, M.W., CARSTENSEN, E.L., COX, C., AZADNIV, M. & BRAYMAN, A.A. 1991. Failure to reproduce increased calcium uptake in human lymphocytes at purported cyclotron resonance exposure conditions. *Radiat. Environ. Biophys.* **30**: 305-320.
62. COULTON, L.A. & BARKER, A.T. 1993. Magnetic fields and intracellular calcium: effects on lymphocytes exposed to conditions for "cyclotron resonance". *Phys. Med. Biol.* **38**: 347-360.
63. GALT, S., SANDBLOM, J., HAMNERIUS, Y., HÖJEVIK, P., SAALMAN, E. & NORDÉN, B. 1993. Experimental search for combined AC and DC magnetic field effects on ion channels. *Bioelectromagnetics* **14**: 315-327.
64. HÖJEVIK, P., SANDBLOM, J., GALT, S. & HAMNERIUS, Y. 1995. Ca^{2+} ion transport through patch-clamped cells exposed to magnetic fields. *Bioelectromagnetics* **16**: 33-40.