



Università degli Studi di Perugia
DIPARTIMENTO DI SPECIALITÀ MEDICO-CHIRURGICHE E SANITÀ PUBBLICA
Sezione di Sanità Pubblica

- LABORATORIO DI TOSSICOLOGIA GENETICA -

Spett.le
EDILNATURA S.r.l.
Via Maestra, 6
28100 NOVARA (NO)

Perugia, li 17.03.2008

E-mail: info@geoprotex.it

^^^^^^^^^^

Oggetto: Valutazione *in vitro* danno al DNA in cellule Jurkat esposte campo elettromagnetico da telefono cellulare, in assenza ed in presenza del dispositivo **Geoprotex** – Referto dei test eseguiti nei giorni **11.02.2008** e **12.02.2008**.

Per effettuare un primo *screening* circa il potenziale genotossico delle radiazioni emesse da un telefono cellulare [redacted] e la probabile protezione da queste ad opera del dispositivo **Geoprotex** è stato utilizzato il test della cometa su cellule linfoblastoidi di derivazione umana (Jurkat).

Le cellule Jurkat, che crescono in sospensione, sono state coltivate a 37°C in atmosfera umidificata al 5% di CO₂, su terreno RPMI-1640 addizionato di 10% siero bovino fetale (inattivato) e antibiotici (100 IU/ml penicillina e 100 µg/ml streptomycin).

In data 11.02.2008, a partire da colture in fase di crescita esponenziale, sono state allestite 6 sub-colture seminando in fiasche da 25 cm² (contenenti 5 ml di RPMI completo), 5x10⁵ cellule/ml.

Dopo 16 ore dalla semina (in data 12.02.2008) le colture cellulari state esposte per 1 ora in continuo al campo elettromagnetico del cellulare (A) acceso in trasmissione (chiamata verso altro numero telefonico); (B) acceso in trasmissione (chiamata verso altro numero telefonico) in presenza del dispositivo **Geoprotex**. Per i test, le colture cellulari sono state poste in corrispondenza dell'altoparlante di ricezione (Foto 1), cui corrisponde la massima emissione del

cellulare. Nella prova sono stati inclusi anche un controllo negativo (assenza di trattamento) ed un controllo positivo (trattamento per 1 ora con un composto genotossico noto: etilmetanosulfonato).

Al termine dei trattamenti si è proceduto alla valutazione della vitalità cellulare e quindi all'allestimento del test della cometa nella versione alcalina (pre-elettroforesi ed elettroforesi a $\text{pH} > 13$). Con questa procedura è possibile evidenziare gli effetti genotossici che causano discontinuità nello scheletro fosfodiesterico del DNA. In particolare tali discontinuità possono risultare da rotture ad un singolo filamento del DNA (SSB, *single-strand breaks*), al doppio filamento (DSB, *double-strand breaks*), dalla azione di sistemi enzimatici di riparazione per escissione e, infine, da alterazioni alcali-labili (SAL) che sono ricondotte a rotture della molecola di DNA se il test viene condotto in ambiente basico.

Per ogni prova sono stati allestiti 3 vetrini la cui lettura è stata effettuata utilizzando un microscopio a fluorescenza (obiettivo 20x), equipaggiato con una telecamera CCD ad alta risoluzione collegata con un sistema computerizzato per l'analisi delle immagini (Comet Assay III, Perceptive Instruments Ltd., Suffolk, UK). Questo sistema è in grado di fornire per ogni cellula un profilo integrato dell'intensità di fluorescenza sotto forma di parametri relativi alla quantità di DNA migrato verso l'anodo, quali la lunghezza della coda (*tail length*, TL), la percentuale di fluorescenza (e quindi di DNA) migrata nella coda (*tail intensity*, TI) ed un parametro derivato dai due precedenti: il momento della coda (*tail moment*, TM).

I risultati ottenuti sono riportati in Tabella 1.

Commento dei risultati

Le indagini condotte per valutare l'eventuale influenza del campo elettromagnetico generato da un telefono cellulare sulla vitalità delle cellule Jürkat hanno fatto rilevare che tale campo non produce effetti citotossici, essendo stati i valori di vitalità in tutte le prove effettuate sempre superiori al 75%.

Dalle prove effettuate per indagare la eventuale genotossicità del campo elettromagnetico in relazione allo stato di funzionamento del cellulare, in assenza ed in presenza del dispositivo **Geoprotex**, è emerso quanto segue:

1. La TL non risulta essere un parametro sensibile nella rilevazione del danno al DNA eventualmente prodotto dalla radiazione emessa dal cellulare. Probabilmente le rotture al DNA causate dalla radiazione determinano la formazione di pochi frammenti di grandi dimensioni, che, sottoposti a campo elettroforetico migrano con difficoltà verso l'anodo.

2. La TI, invece, ha consentito di discriminare gli effetti dei vari protocolli di esposizione:
- quando le cellule sono state esposte al campo elettromagnetico prodotto dal telefono in trasmissione (punto A), in assenza del dispositivo **Geoprotex**, è risultato un evidente **effetto genotossico** con livelli di **danno al DNA** paragonabile a quello ottenuto nel controllo positivo;
 - con il telefono acceso e in trasmissione, la **presenza** del dispositivo **Geoprotex** (punto B) ha **significativamente ridotto** i valori di **danno al DNA** che sono risultati sostanzialmente **più bassi** rispetto a quanto osservato al punto A, con valori che si avvicinano nettamente a quelli del controllo negativo.
3. Il TM rappresenta un indice che tiene in considerazione sia lunghezza della coda (TL) che la quantità percentuale di DNA nella coda (TI). Nel presente lavoro gli andamenti osservati di tale parametro risultano perfettamente sovrapponibili a quelli della TI.

Considerazioni conclusive

Si ritiene di evidenziare:

- il dispositivo **Geoprotex** è risultato in grado **ridurre significativamente** gli **effetti genotossici** conseguenti alla esposizione alle radiofrequenze prodotte da un telefono cellulare, riconducendo il danno primario al DNA causato dal telefono in trasmissione a livelli praticamente sovrapponibili a quelli del controllo negativo.

In fede,

Dr. Massimo Moretti



A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Massimo Moretti', written over a horizontal dotted line.

Foto 1. Posizionamento del telefono cellulare durante il trattamento delle cellule Jurkat.

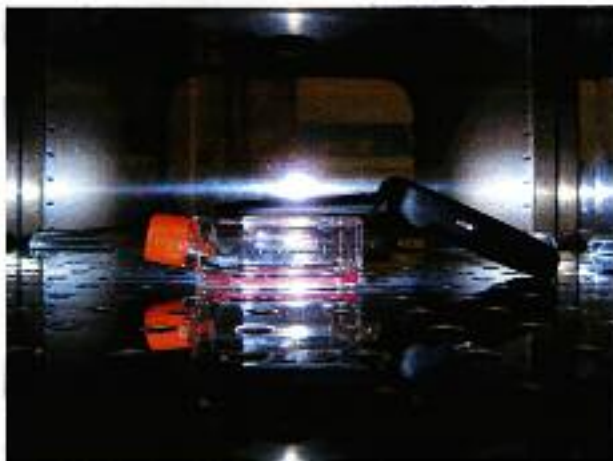


Tabella 1. Schema e risultati del trattamento (1 ora a 37°C)

Trattamento	Vitalità % (vive/morte)	Test della cometa		
		TL	TI	TM
Controllo negativo	100 (49/0)	21.28 ± 1.55	2.44 ± 0.62	0.37 ± 0.11
(A) Cellulare acceso in trasmissione	100 (43/0)	39.15 ± 2.79	7.13 ± 2.17*	1.92 ± 1.03*
(B) Cellulare acceso in trasmissione + Geoprotex	100 (51/0)	34.85 ± 3.63	1.63 ± 0.31	0.47 ± 0.13
Controllo positivo EMS 2 mM (25 µl)	100 (38/0)	53.60 ± 2.82	7.13 ± 1.15	2.33 ± 0.47