

Rencontres
scientifiques
de
l'Anses



Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Effet des RF sur la Mémorisation et l'Attention chez le rat

25

septembre 2012

Maison Internationale
Cité internationale universitaire de Paris

RADIOFREQUENCES :

DE LA MESURE D'EXPOSITION
A LA RECHERCHE D'EFFETS BIOLOGIQUES



Objectifs du Projet

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Objectif général

Évaluation d'un risque sanitaire

- **études antérieures (Mausset, Brillaud): > GFAP expo aiguë**
- **conséquences d'expositions sub-chroniques et chroniques sur la fonction du SNC et le comportement chez le rat ?**

Questions scientifiques

Fonction, comportement

- **cumulatif ?**
- **cinétique des effets sur la glie après exposition ? Temporaire/ permanent ?**
- **pathologique ?**
- **conséquence sur les capacités cognitives d'attention et de rappel ?**



Structure du projet

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



A. Dosimétrie du système d'exposition

- A1 : Fabrication d'un fantôme de rat en polyacrylamide
- A2 : Mesures de T° à l'aide d'un thermomètre à fibre optique Luxtron

B. Exposition sub-chronique (2 mois) à un signal GSM 900 MHz

- B1 : Etude comportementale (labyrinthe radiaire)
- B2 : Analyse macroscopique et fonctionnelle (GFAP)

C. Exposition chronique (6 mois) à un signal GSM 900 MHz

- C1 : Etude comportementale (labyrinthe radiaire et test d'attention)
- C2 : Analyse macroscopique et fonctionnelle (GFAP)

D. Résultats :

- Comportement
- Effets biologiques (GFAP)



DOSIMETRIE DU SYSTEME

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Fabrication des fantomes de rat

Le gel polymérise au bout de quelques heures

Le gel se conserve bien à +4°C pendant une semaine.

- permittivité ($\epsilon = 62,6 \text{ F/m}$)
- conductivité électrique ($\sigma = 0,44 \text{ S/m}$)
- chaleur massique ($C = 4006 \text{ J.s.}^\circ\text{C}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Mesure de température

Thermomètre LUXTRON 790 F: est un thermomètre fluoroptique

Sonde 1 : est laissée à l'air libre (température de référence).

Sonde 2 : est fixée sur la surface du gel au niveau frontal de la tête.

Sonde 3 : est enfoncée dans le gel à 8 mm de profondeur et à la même position que la sonde 2.

Résultats

$$T(t) = T_i + (T_f - T_i) \cdot (1 - \exp^{-Kt})$$

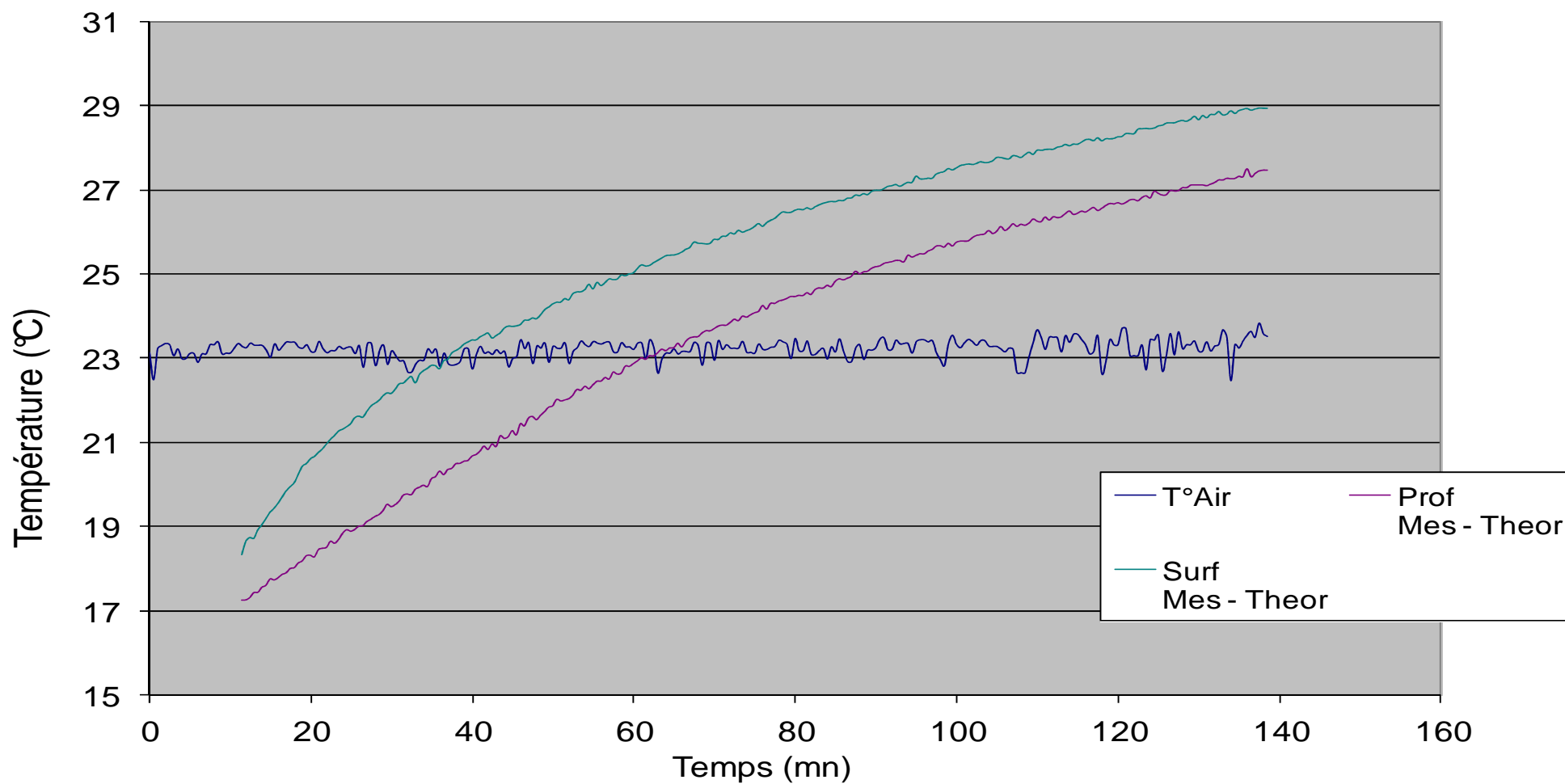


Figure1: Evolution de la température du gel sous exposition à 6 W/kg

Calcul de DAS

$$DAS = C (\Delta T / \Delta t) = C.K. \Delta T$$

- $\Delta T / \Delta t$: pente de l'échauffement à l'origine, en $^{\circ}\text{C.s}^{-1}$
- C : Chaleur massique ou coefficient calorifique ($4006 \text{ J.s.}^{\circ}\text{C}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$)
- K : Constante calorifique en s^{-1}
- ΔT : différence de température modélisée finale – initiale, en $^{\circ}\text{C.s}^{-1}$

	Tf	Ti	ΔT	K (min ⁻¹)	DAS
prof	31,5	17,2	14,3	0,005	4,9
superf	30,8	19	11,8	0,0075	6



Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Radiofréquences & Comportement



Introduction

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Etudes négatives :

- Un exposition corps entier à un signal GSM 900 MHz
(45 min/j, durant 10 jours, $DAS = 0,05$ W/Kg)
n'induit pas de perturbation d'apprentissage chez des souris
(Sienkiewicz et al., 2000)

- Une exposition tête seule des rats à un signal GSM 900 MHz
($DAS = 1,5$ et 3 W/Kg)
n'induit pas de perturbation de la mémoire spatiale
en utilisant labyrinthe radiaire à 8 bras (Dubreuil et al., 2003)

Etudes positives :

Nittby et al. (2008) ont trouvé une perturbation de la mémoire de référence
chez des rats 2 mois après un an d'exposition à un signal GSM 900 MHz
(2h/semaine, 55 semaines, $DAS = 0,6$ W/kg et 60 mW/Kg)



Objectifs

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Etude de l'effet d'une exposition **sub-chronique (2 mois)** et **chronique (6 mois)**

à un signal GSM 900 MHz

- sur **la mémoire spatiale et les processus de rappel** chez le rat

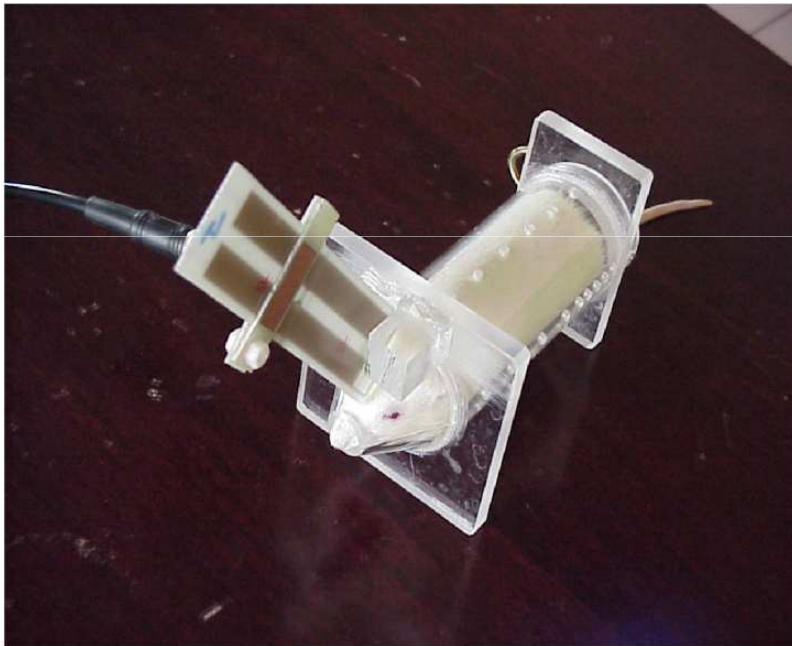
avec le labyrinthe radiaire à 8 bras

- sur le **test d'attention**

avec le dispositif lumineux à 9 trous



Exposition de 2 et 6 mois à un signal GSM 900MHz



Groupes (n=6)

- 45 min 1,5 W/kg
- 15 min 6 W/kg
- shams (0 W/Kg)

Test du labyrinthe radiaire (apprentissage et mémoire)



- contrôle cage
- contrôle positif (i.p de scopolamine)



Labyrinthe à 8 bras



Phase d'apprentissage (10 jours)

- Temps total (s)
 - Nombre total d'erreurs (EMT + Nb de bras non visités)
- EMT : une erreur de mémoire de travail est un retour dans un bras déjà visité
- Rang de la première erreur

Phase du test (8 jours, un délai de 45 min après 4 bras visités)

- Temps total (s)
- EMF : erreur de mémoire de référence (le rat retourne dans un bras qu'il avait déjà visité lors de la première partie du test)
- Nombre total d'erreurs (EMT + nombre de bras non visités)
- Rang de la première erreur

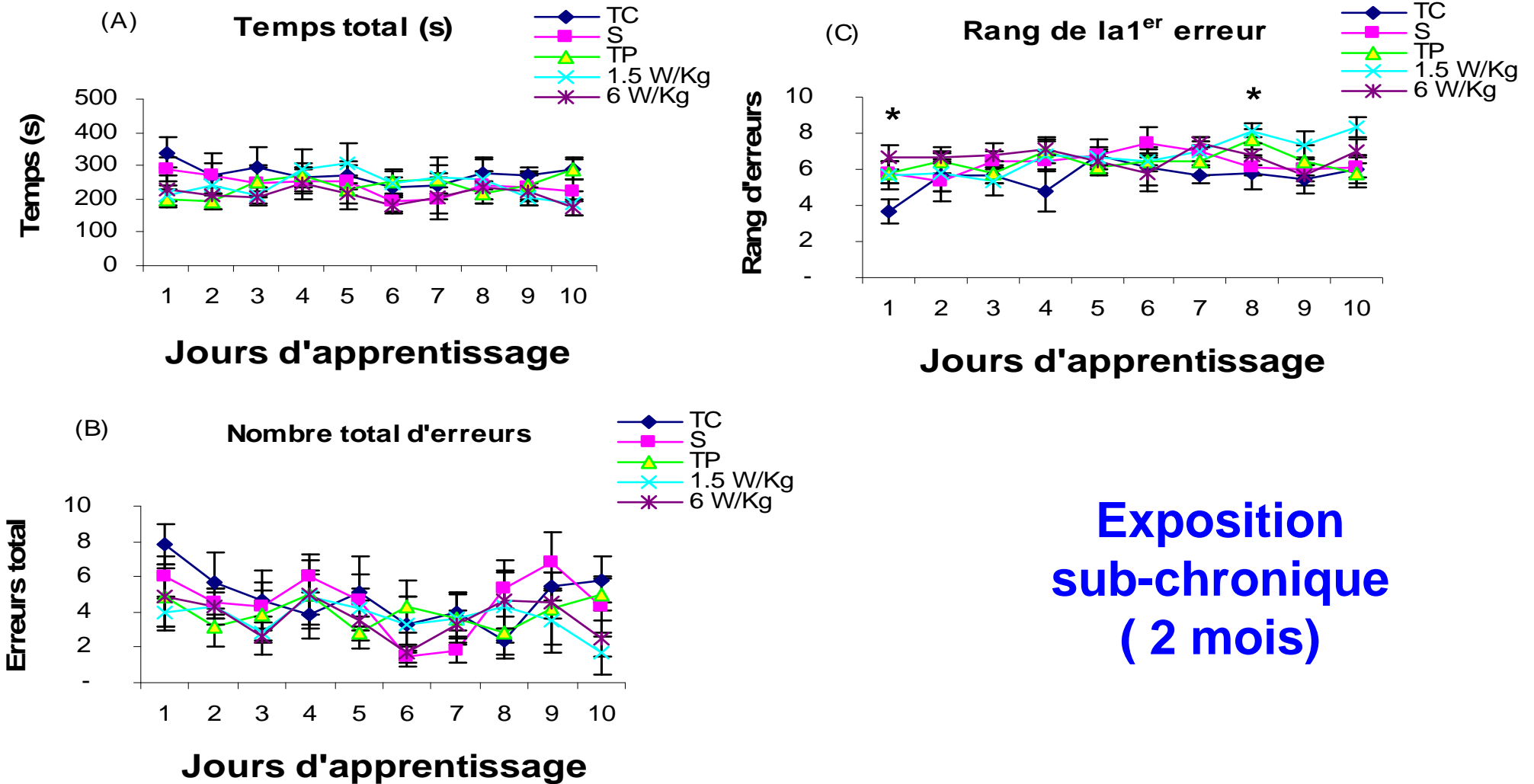


Figure 1 : Apprentissage - 10 jours. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6), * p < 0,05 pour témoin cage
TC : témoin cage. S : Sham, TP : témoin positif, 1,5 et 6 W/Kg : exposés

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences

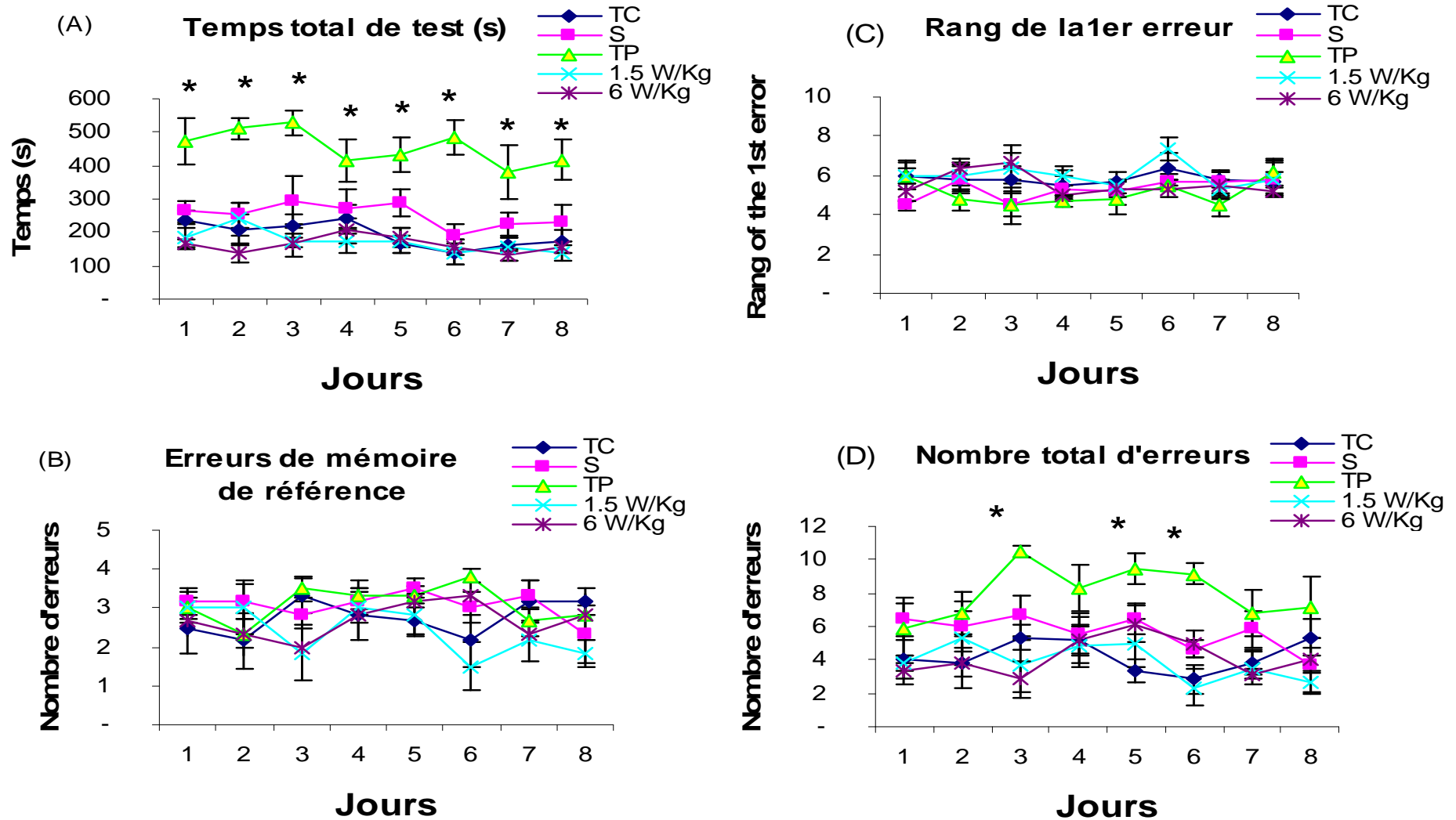
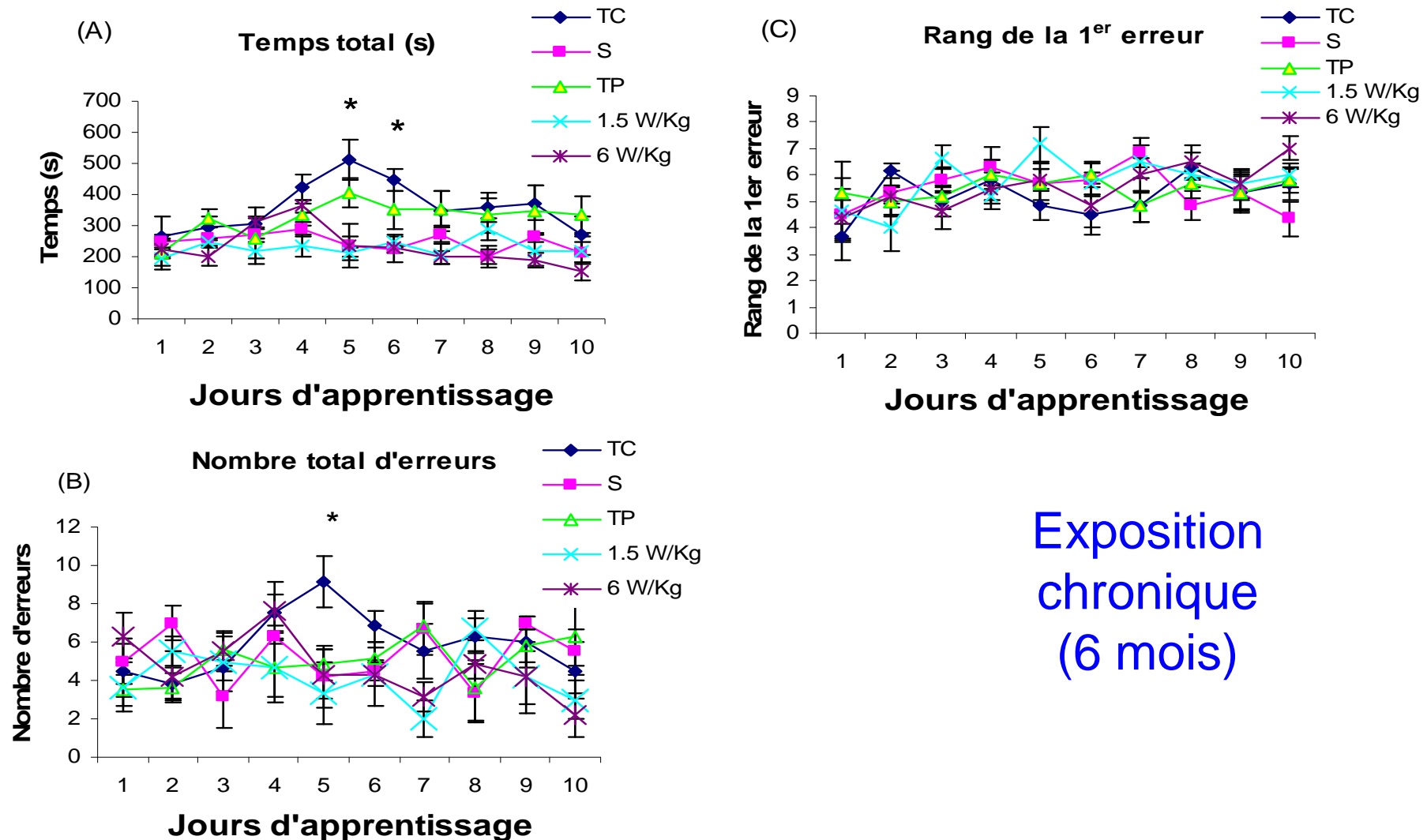


Figure 2 : Test durant 8 jours avec un délai de 45 min. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6), * p < 0,05 pour témoin cage
TC : témoin cage. S : Sham. TP : témoin positif. 1,5 et 6 W/Kg : exposés

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Exposition
chronique
(6 mois)

Figure 3 : Apprentissage - 10 jours. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6), * p < 0,05 pour témoin cage TC : témoin cage. S : Sham. TP : témoin positif. 1,5 et 6 W/Kg : exposés

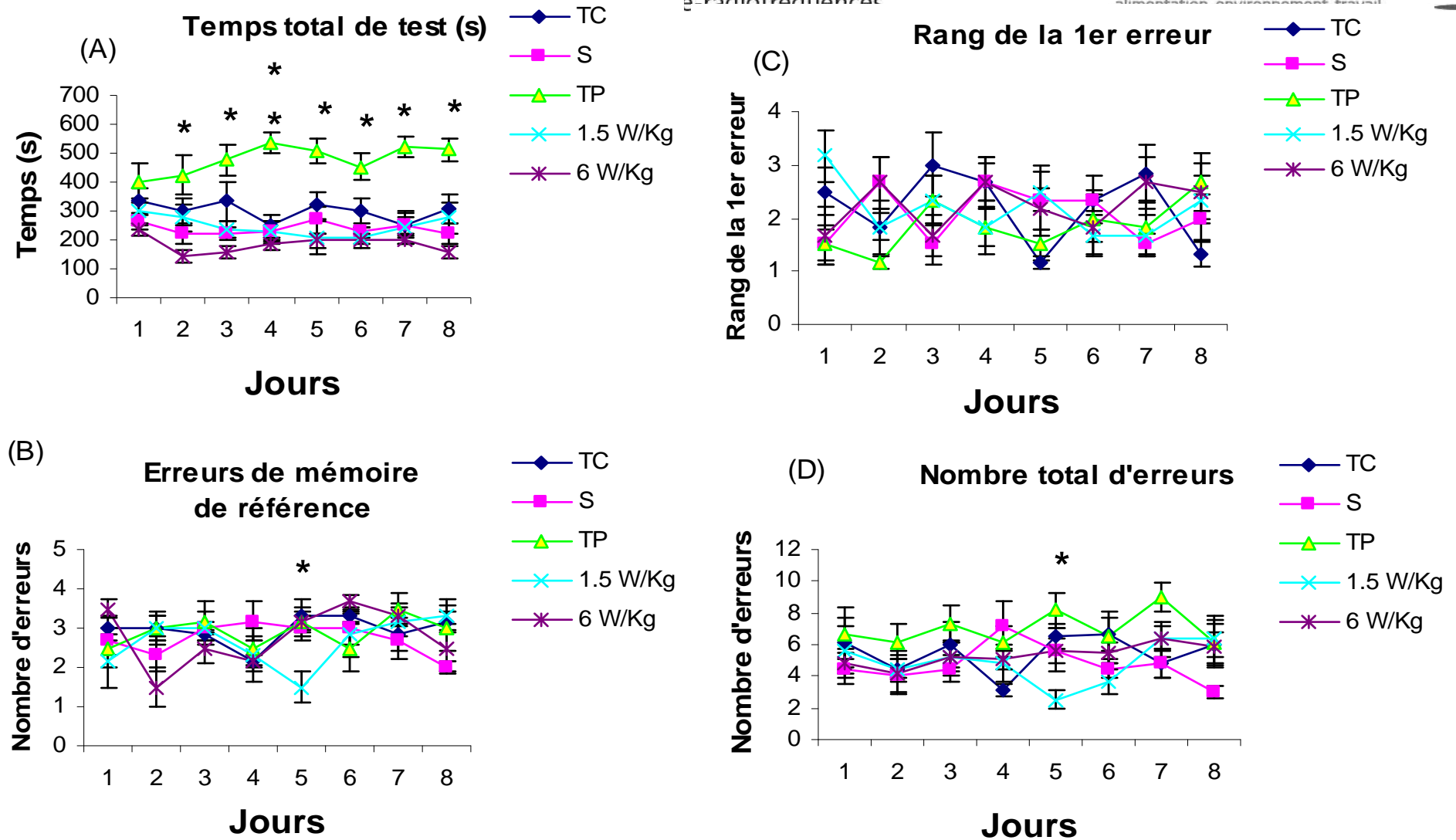
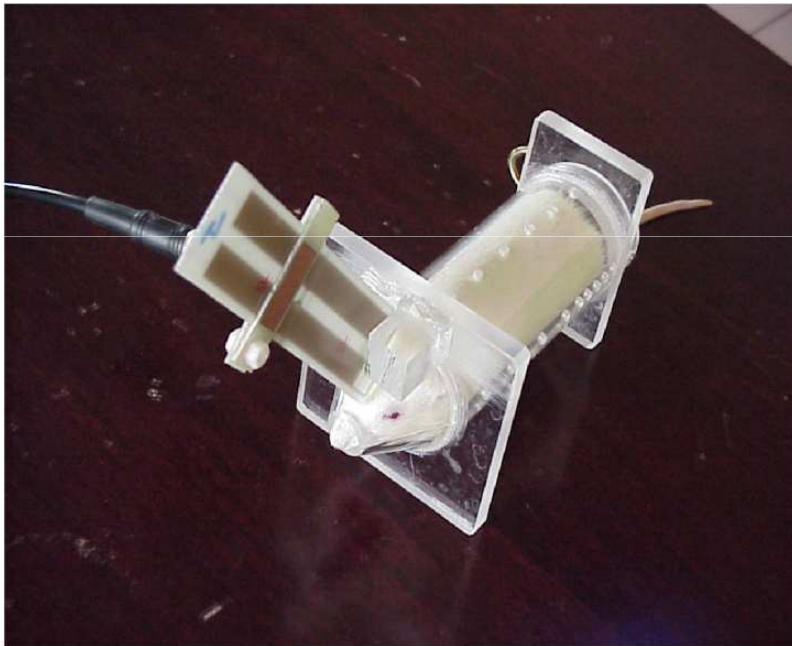


Figure 4 : Test durant 8 jours avec un délai de 45 min. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6), * p < 0,05 pour témoin cage TC : témoin cage. S : Sham. TP : témoin positif. 1,5 et 6 W/Kg : exposés



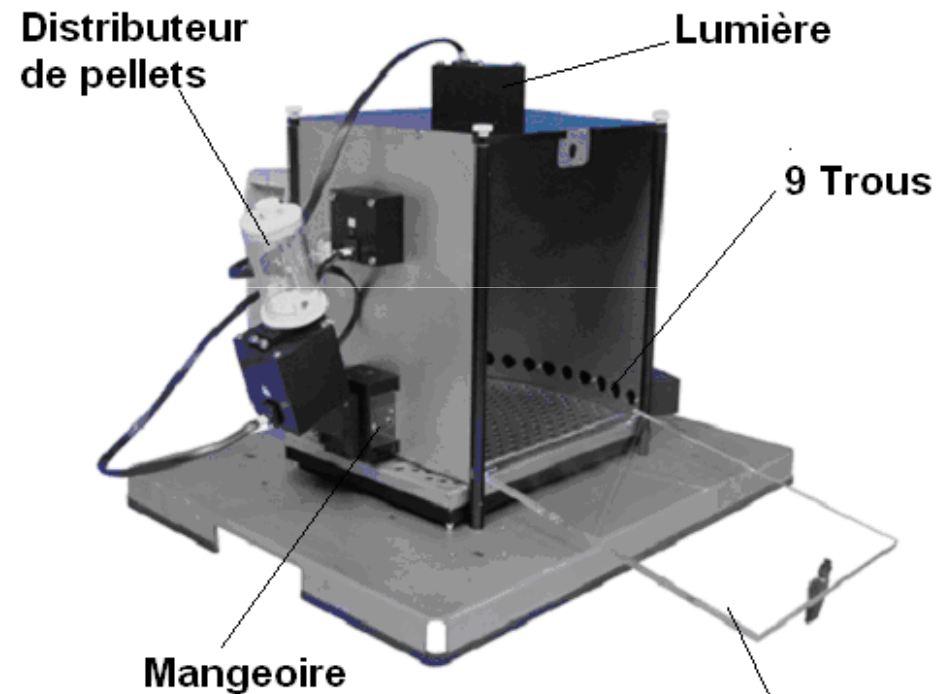
Exposition de 6 mois à un signal GSM 900MHz



Groupes (n=6)

- 45 min 1,5 W/kg
- 15 min 6 W/kg
- shams (0 W/Kg)
- contrôle cage

Test à 5-9 trous (attention)



- Lumière : 10 s
- Récompense : pellet
- Erreur : extinction 4s
- Fin : 100 essais ou 15 min

Test d'attention des rats après une exposition chronique (6 mois) à un signal GSM 900 MHz

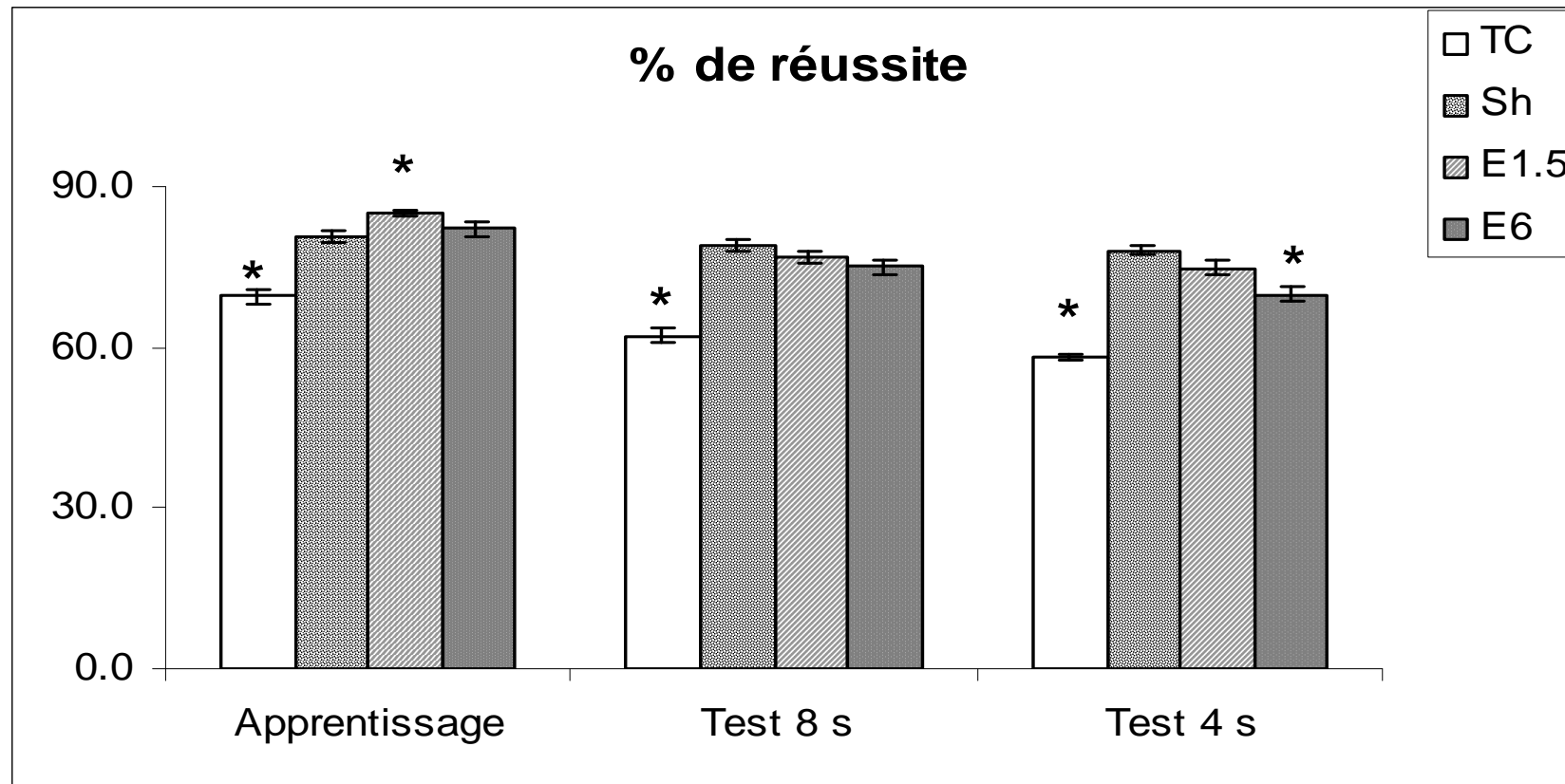


Figure 4 : % de réussite du test d'attention à 5 choix. TC : témoin cage ; Sh : sham ; E1.5 : rats exposés à un DAS de 1,5 W/Kg ; E6 : rats exposés à un DAS de 6 W/Kg. * $p < 0,05$.



Discussion

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



- Cette étude ne met pas en évidence d'effet délétère des expositions en condition d'exposition "tête seule" aux radiofréquences de type GSM 900 MHz ; $DAS = 1,5 \text{ W/kg}$ et 6 W/kg sur les performances mnésiques des rats dans un test de mémoire spatiale.
- Lai et al. (1994) ont montré, une perturbation de la mémoire spatiale chez le rat, après une exposition à un signal de 2450 MHz (500 pps , $DAS = 0,6 \text{ W/kg}$ et $P_p = 600 \text{ W/Kg}$) en utilisant un test de labyrinthe radiaire

Paramètres : fréquence (2450 MHz pulsé à 500 Hz, 1/1000 au lieu de 900 MHz pulsé à 217 Hz, 1/8),
« DAS » ou débit d'absorption spécifique : 0,6 W/kg mais **corps entier**
Labyrinthe à 12 bras au lieu de 8 classiquement utilisé



Discussion

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



- Ces résultats **confirment** les résultats obtenus par des études précédentes réalisées avec le même système **d'exposition "tête seule"**

et un signal GSM 900 MHz avec des DAS de 1 et 3,5 W/kg

sur des périodes d'exposition courtes : 10 à 15 jours

(Dubreuil et al. 2003 ; Dubreuil et al., 2002).

- Il existe une légère diminution du % de réponses correctes par rapport au groupe sham chez les animaux exposés à 6 W/kg dans le **test de réaction à 5 choix** . Cet effet est moindre que celui chez les contrôles-cages, peut-être plus anxieux, car non habitués à être manipulés régulièrement.



Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Effets Biologiques des radiofréquences



protéine GFAP

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



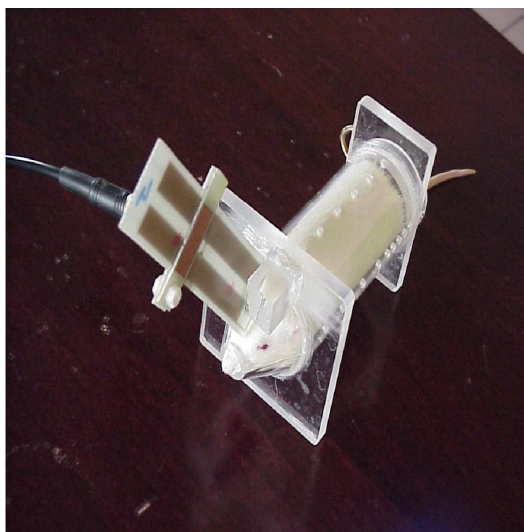
Mausset et al. (2004) ont montré une augmentation de la protéine GFAP au niveau du cortex, du striatum et de l'hippocampe, 3 jours après une exposition unique de 15 minutes à un DAS de 6 W/kg. Cette étude a été confirmée par Brillaud et al. (2007).

But : connaître les conséquences d'une exposition répétée, dans l'hypothèse d'un effet cumulatif, deux expositions, sub-chronique et chronique, ont été effectuées
DAS de (45 min à 1,5 W/kg et 15 min à 6 W/kg)

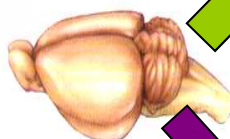




Exposition à un signal GSM 900MHz

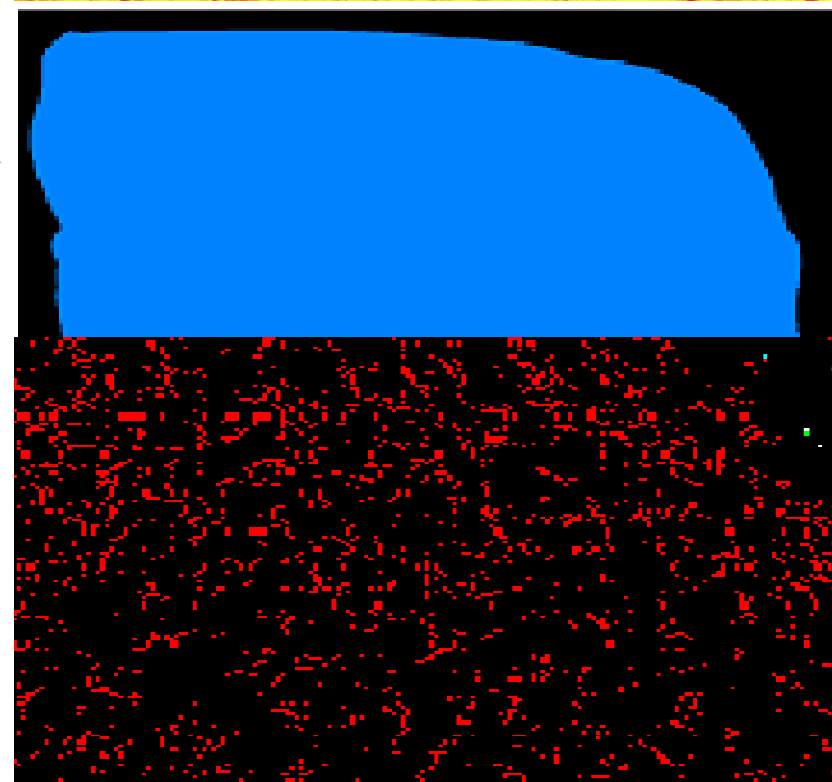
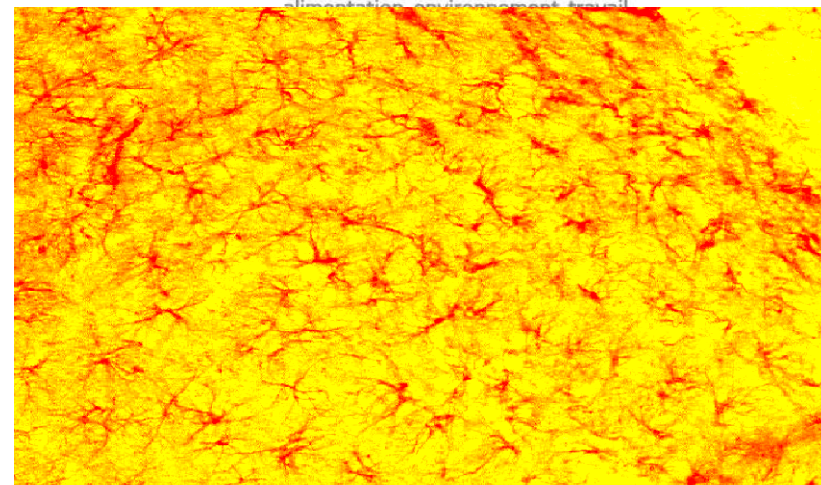


Perfusion
3 et 10 jours
après exposition



Groupes : (n = 6)

- 45 min 1,5 W/kg
- 15 min 6 W/kg
- sham (n=6)
- contrôle cage



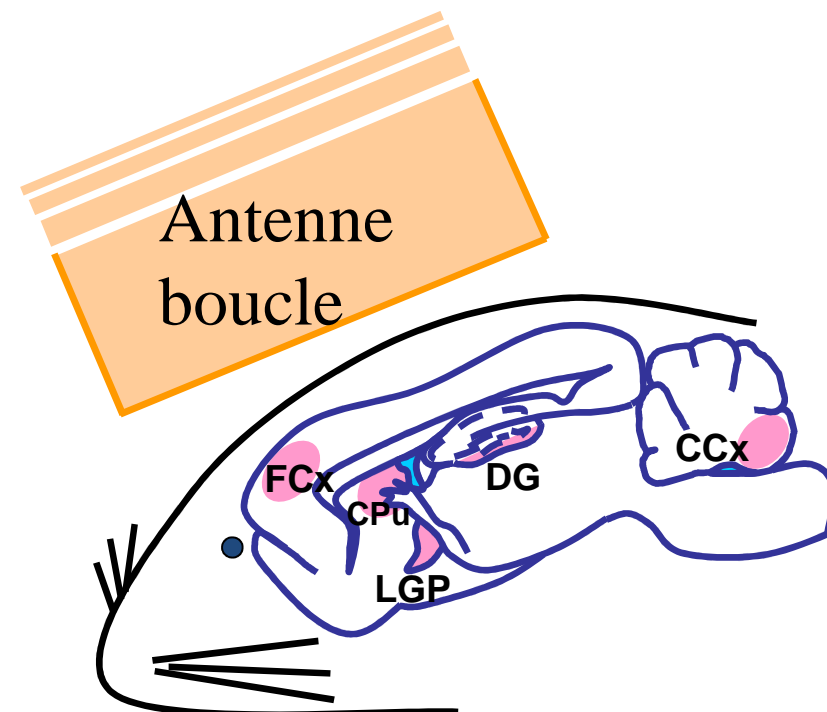
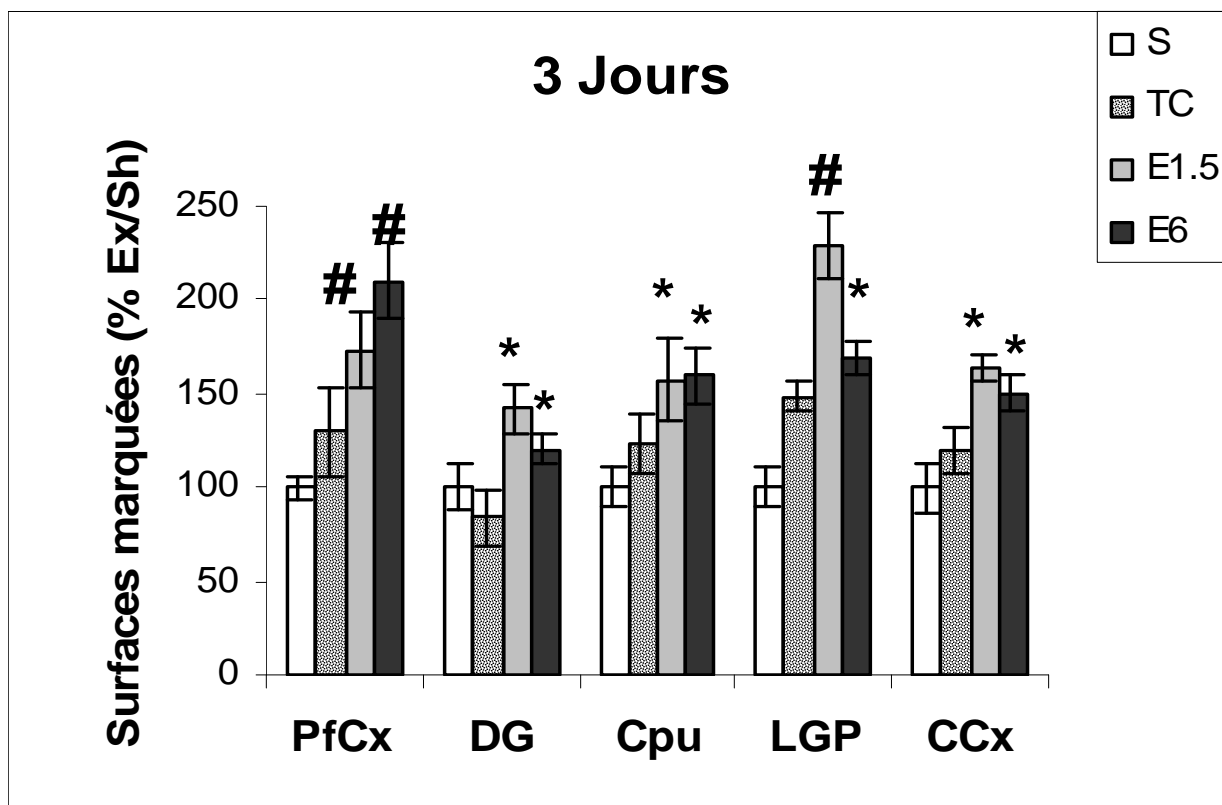


Figure 1: Histogramme représentant la moyenne (\pm SEM) par groupe du pourcentage de surface marquée pour la protéine GFAP dans chacune des zones étudiées par rapport aux témoins sham-exposés

$p < 0,001$, * $p < 0,05$

PfCx = cortex frontal
 CPU = caudé putamen du striatum
 LGP = globus pallidus latéral
 DG = gyrus denté de l'hippocampe
 CCx = cortex du cervelet

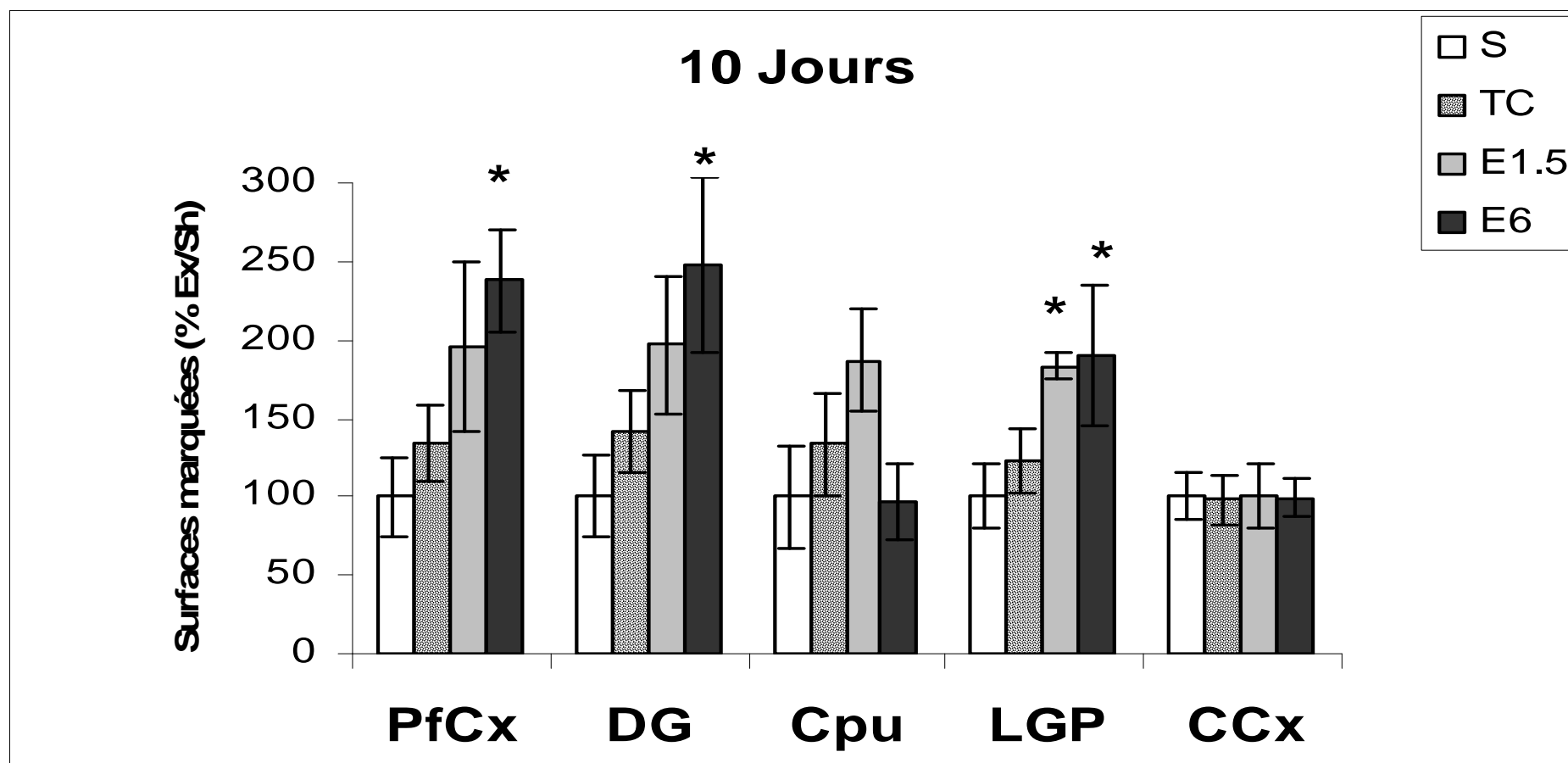


Figure 3: Histogramme représentant la moyenne (\pm SEM) par groupe du pourcentage de surface marquée pour la protéine GFAP dans chacune des zones étudiées par rapport aux témoins sham-exposés. * $p < 0,05$

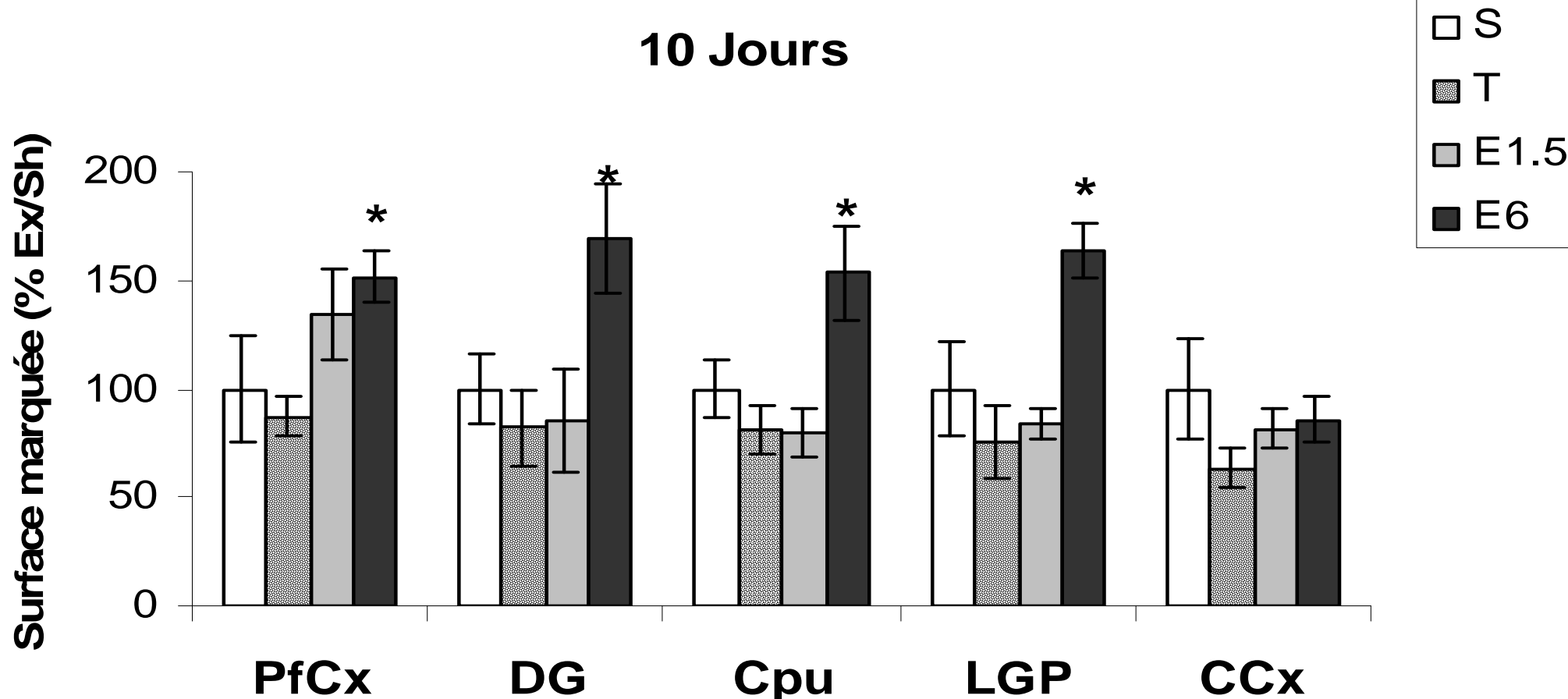


Figure 5 : Histogramme représentant la moyenne (\pm SEM) par groupe du pourcentage de surface marquée pour la protéine GFAP dans chacune des zones étudiées par rapport aux témoins sham-exposés. * $p < 0,05$



Conclusions

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



- Persistance de l'expression de GFAP 3 et 10 jours après une exposition subchronique (2 mois) DAS de 1,5 et 6 W/Kg
- Absence d'effet après exposition chronique (6 mois) à un DAS = 1,5 W/Kg
- Persistance de l'↗ de GFAP 10 jours après exposition chronique (DAS = 6W/Kg)
- Effet différent selon le niveau de DAS
- Propagation de l'effet au niveau des structures

Persistance de GFAP : **Signe d'une potentielle gliose**



Perspectives

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



- Quantification des effets sur la GFAP avec une méthode ELISA ou Western Blot.
- L'activation des astrocytes peut être le résultat d'une augmentation de sécrétion **de cytokines pro-inflammatoires** telles que les interleukines IL-1 et IL-6 (John et al., 2004 ; Okada et al., 2004 ; Woiciechowsky et al., 2004).
- Induction d'un **stress oxydant**
- Systèmes de **neurotransmission**
- Reproductibilité des résultats avec le test d'attention après une exposition chronique (6 mois) à un signal GSM 900 MHz



Valorisation

Restitution du programme de recherche santé-radiofréquences



Cette partie de projet a permis l'élaboration de :

présentation de 2 posters dans deux congrès internationaux

- Congrès 30th Annual BEMS Meeting San Diego 2008
- Congrès 12th International Congress of IRPA (IRPA 12), Buenos-Aires, Argentine 2008

3 publications internationales dans des journaux à comité de lecture :

- Ammari M, Jacquet A, Lecomte A, Sakly M, Abdelmelek H, de Seze R. Effect of Head-only sub-chronic and chronic exposure to GSM 900-MHz electromagnetic fields on spatial memory in rats. *Brain Injury*. 2008 Dec;22(13-14):1021-9.
- Ammari M., Brillaud E., Gamez C., Lecomte A., Sakly M., Abdelmelek H., de Seze R. Effect of an chronic GSM 900 MHz exposure on glia in the rat brain. *Biomed & Pharmacotherapy*. (2008) vol 62/4, pp. 273-281
- Ammari M., Gamez C., Lecomte A., Sakly M., Abdelmelek H., de Seze R. GFAP expression in the rat brain following sub-chronic exposure to a 900 MHz electromagnetic field signal. *Int J of Rad Biol*, 2010, vol. 86, n°5, pp. 367-375.

Brillaud E.
Ammari M.
Gamez C.
Lecomte A.
Robidel F.



MERCI DE VOTRE ATTENTION