



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

Projet RFMemAT – Fondation Santé et RF 2006-5

Pr189 – 07 DRC02 – RF ChroTox

E. Brillaud, M. Ammari, R. de Seze,

A. Lecomte, O. Dupont, F. Robidel, C. Gamez

Journées scientifiques de la Fondation les 20-21 oct 09

INERIS



Structure du projet

A. Dosimétrie du système d'exposition

- A1 : Fabrication d'un fantôme de rat en polyacrylamide
- A2 : Mesures de température à l'aide d'un thermomètre à fibre optique Luxtron

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

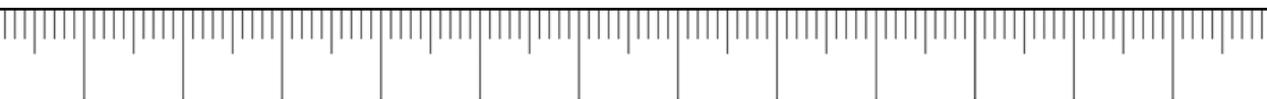
- B1 : Etude comportementale (labyrinthe radiaire)
- B2 : Analyse macroscopique et fonctionnelle (GFAP)

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. Analyse générale et déduction des conséquences sanitaires éventuelles.

- Rapport et publications



Objectifs du Projet

Objectif général

Évaluation d'un potentiel risque sanitaire

- études antérieures (Mausset, Brillaud): ↗ GFAP expo aiguë J3, pas J10
- 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 chronique ?
Temporaire/ permanent ?
- Pathologique ?
- conséquence sur les capacités cognitives d'attention et de rappel ?



DOSIMETRIE DU SYSTEME

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

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

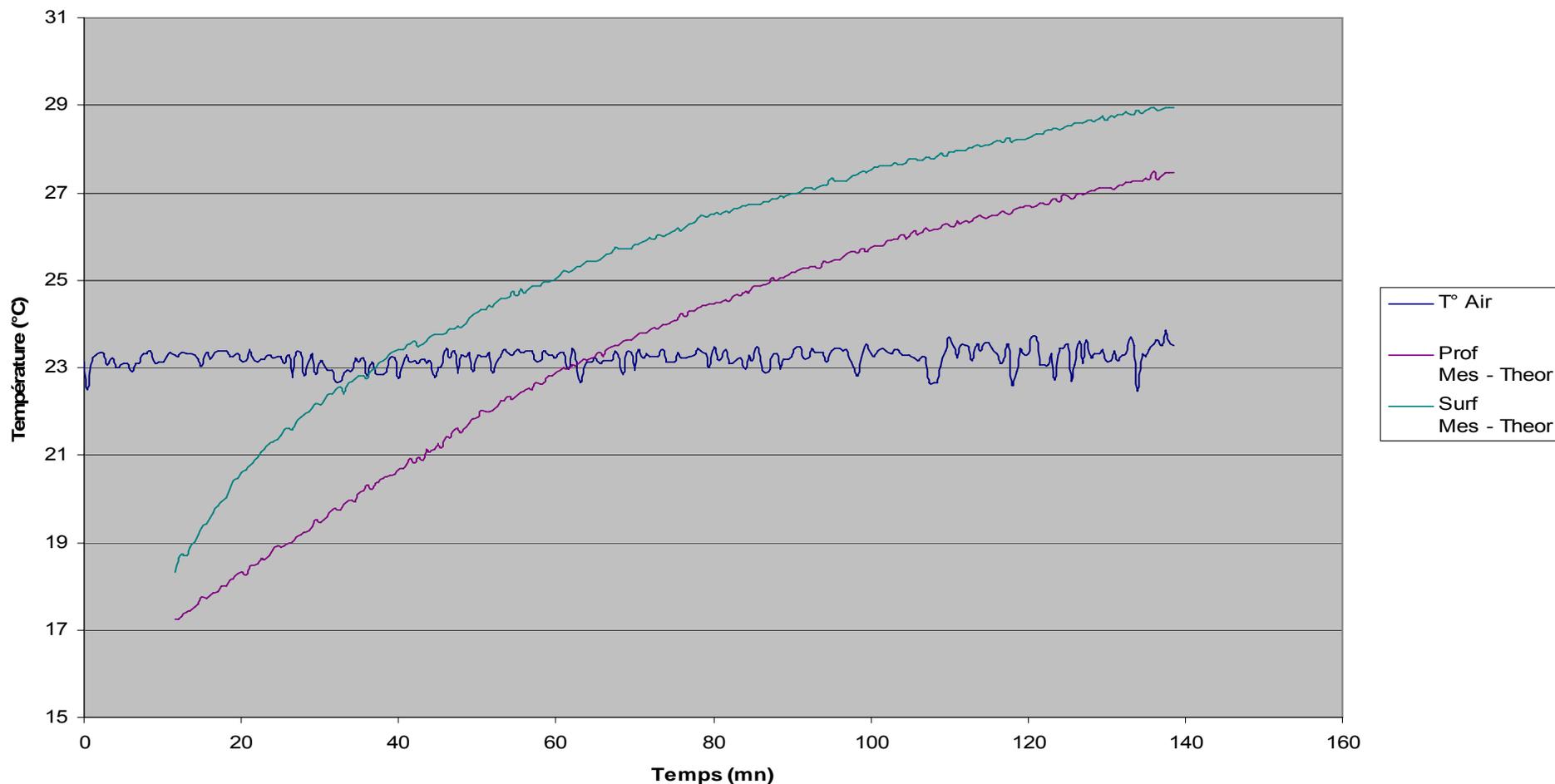
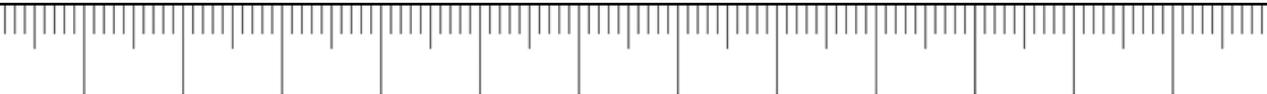


Figure1: Evolution de la température du gel sous exposition à 6 W/kg



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 | 17,24 | 14,26 | 0,005 | 4,9 |
| superf | 30,8 | 19 | 11,8 | 0,0075 | 6 |



Radiofréquences & Comportement



Introduction

Etudes négatives :

- Une 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 :

Nibbty 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 et 60 mW/Kg)

Objectifs

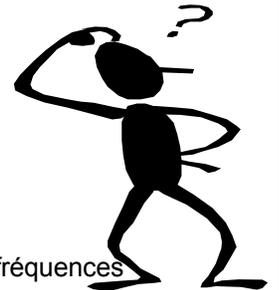
1) Etude de l'effet d'une exposition **sub-chronique (2 mois)** et **chronique (6 mois)** à un signal GSM 900 MHz

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

Avec le labyrinthe radiaire à 8 bras

2) Etude de l'effet d'une exposition **chronique (6 mois)** à un signal GSM 900 MHz sur **un processus d'attention** chez le rat

Avec le test à 5 trous



Matériel et Méthodes

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)

Rats Sprague-Dawley



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



Matériel et Méthodes

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

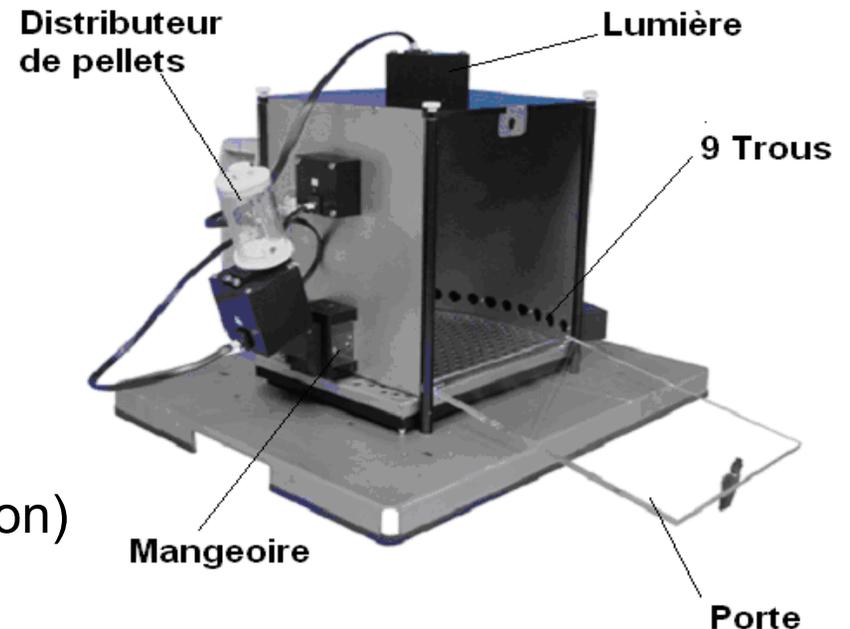
Matériel et Méthodes

Phase d'apprentissage (20-30 jours)

- Lumière centrale allumée, nourriture dans la mangeoire
- quand mangée, une lumière est allumée 10 s dans un trou
- museau dans le trou quand allumé
ou < 2 s après extinction : récompense
- réponse incorrecte : ouverture non allumée
- épreuve manquée : pas de réponse
- dans ces deux cas : pas de récompense
et lumière centrale éteinte pendant 4 s (punition)
- intervalle inter-épreuve (ITI) de 5 s
- réponse prématurée : avant éclairage d'une ouverture
- apprentissage réussi quand $\geq 75\%$ de réponses correctes

Rats Long Evans

Test à 5 trous





Matériel et Méthodes

Phase de test (8-10 jours)

- ITI 5 s ; stimulus lumineux dans un trou 8 s puis 4 s
- Arrêt après 100 essais ou 15 min

Paramètres mesurés

- Apprentissage : % de réussite
- Test :
% réponses correctes, % réponses incorrectes, % omissions
et nombre de réponses prématurées

Résultats

Exposition sub-chronique (2 mois)

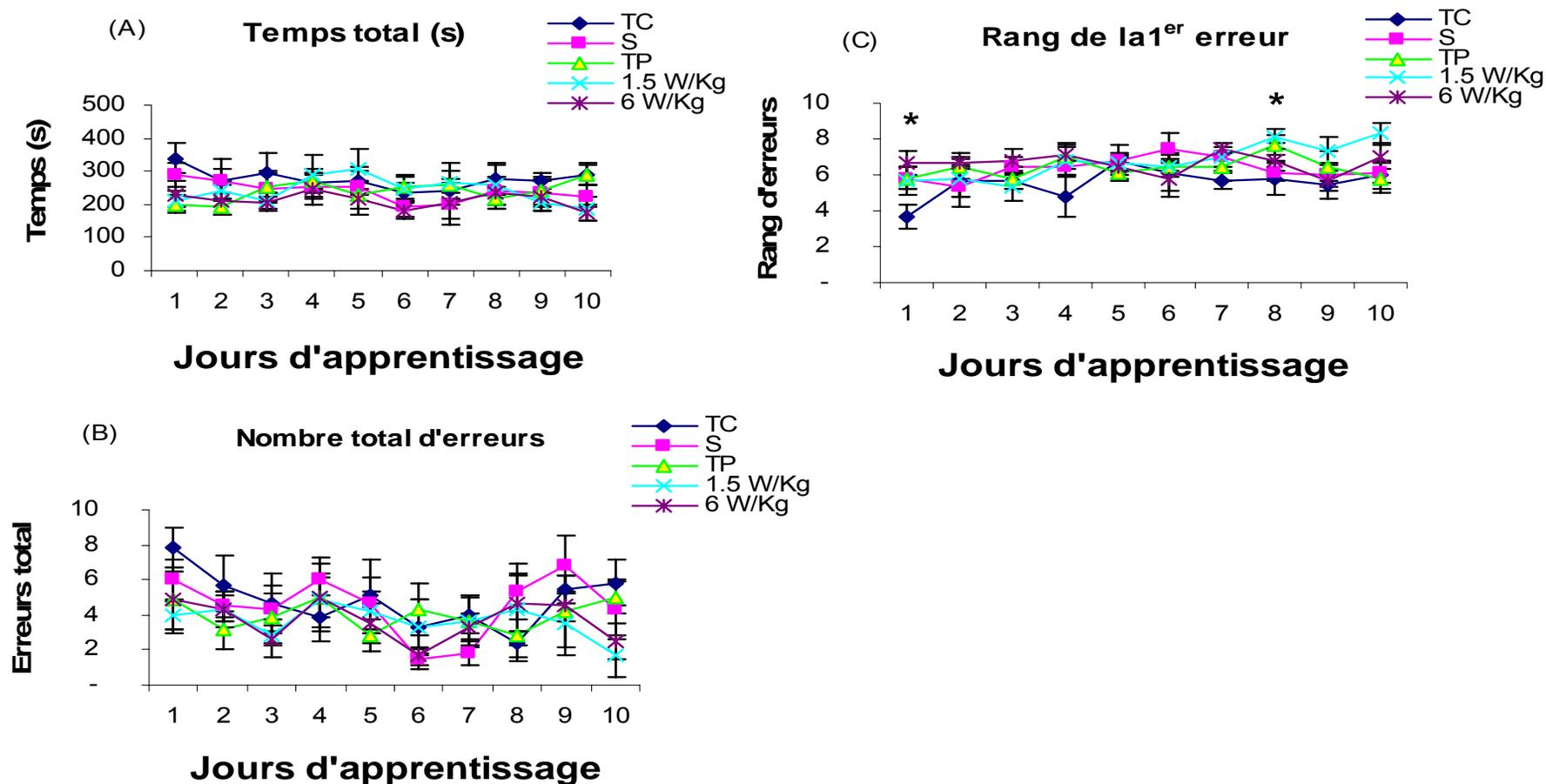


Figure 1 : Apprentissage - 10 jours. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6),
TC : témoin cage. S : Sham, TP : témoin positif, 1,5 et 6 W/Kg : exposés
* $p < 0,05$ pour le groupe témoin cage

Résultats

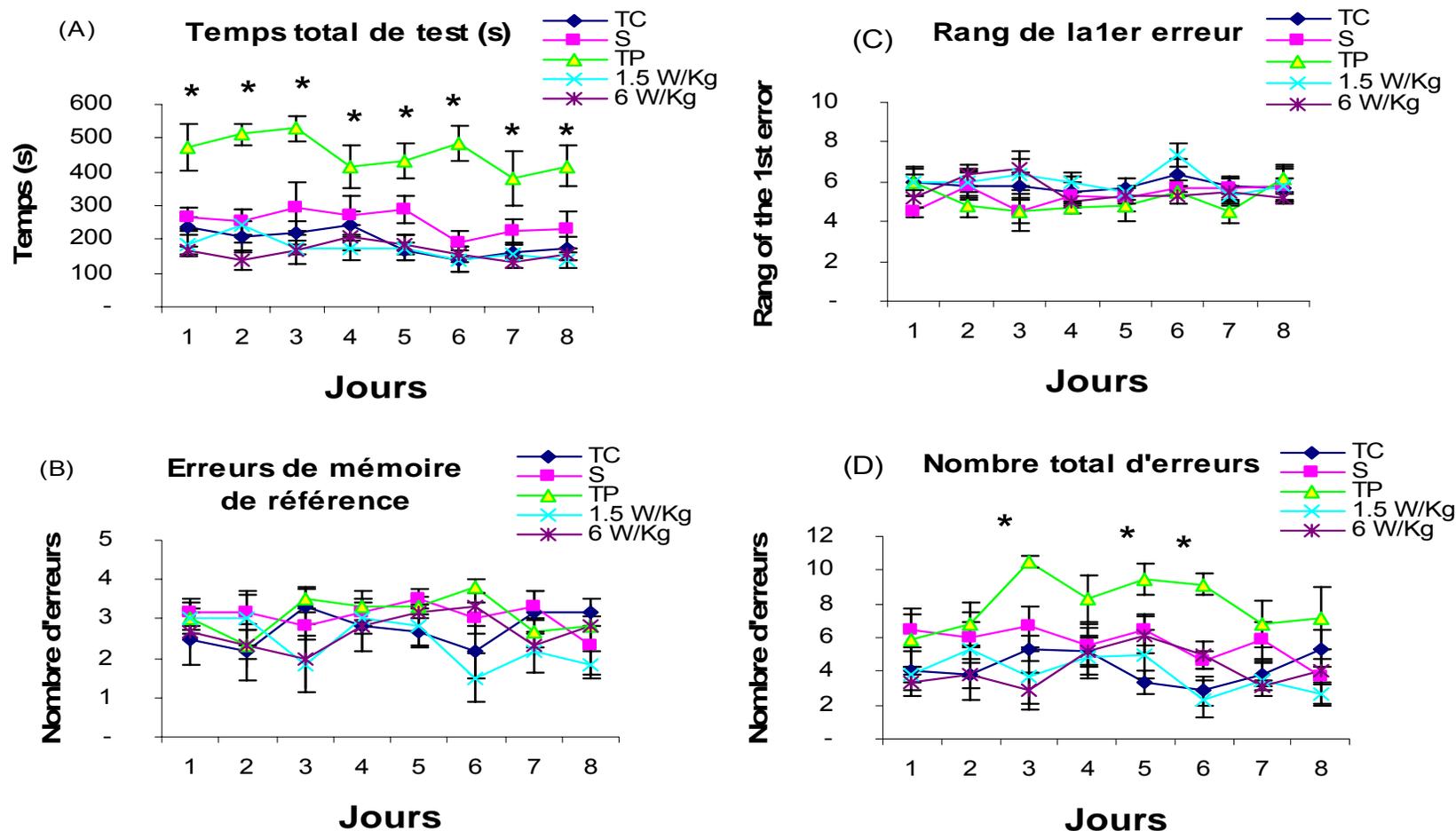


Figure 2 : Test durant 8 jours avec un délai de 45 min. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6)

TC : témoin cage. S : Sham. TP : témoin positif. 1,5 et 6 W/Kg : exposés

* $p < 0,05$ pour le groupe témoin cage

Résultats

Exposition chronique (6 mois)

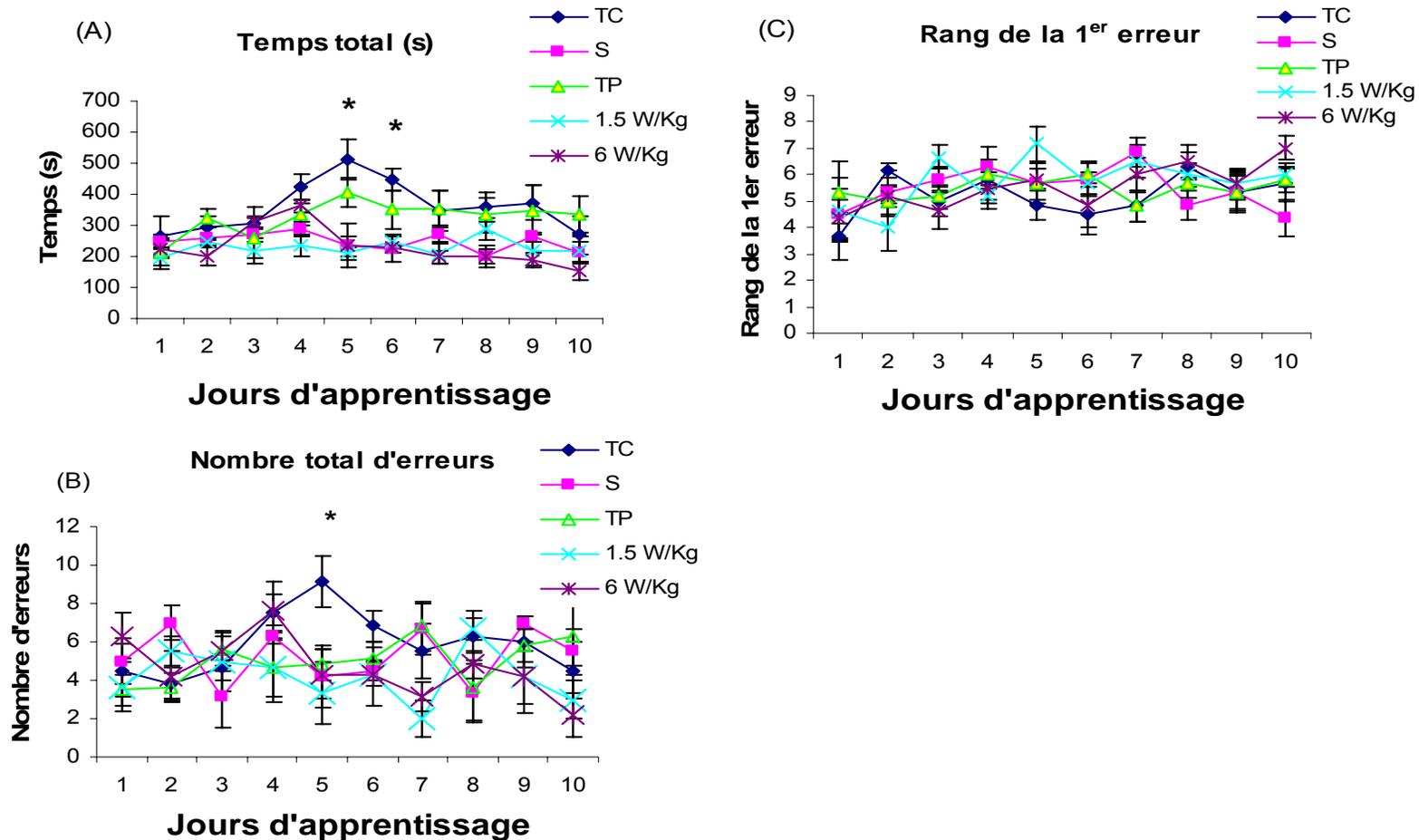


Figure 3 : Apprentissage - 10 jours. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6)

TC : témoin cage. S : Sham. TP : témoin positif. 1,5 et 6 W/Kg : exposés

* $p < 0,05$ pour le groupe témoin cage

Résultats

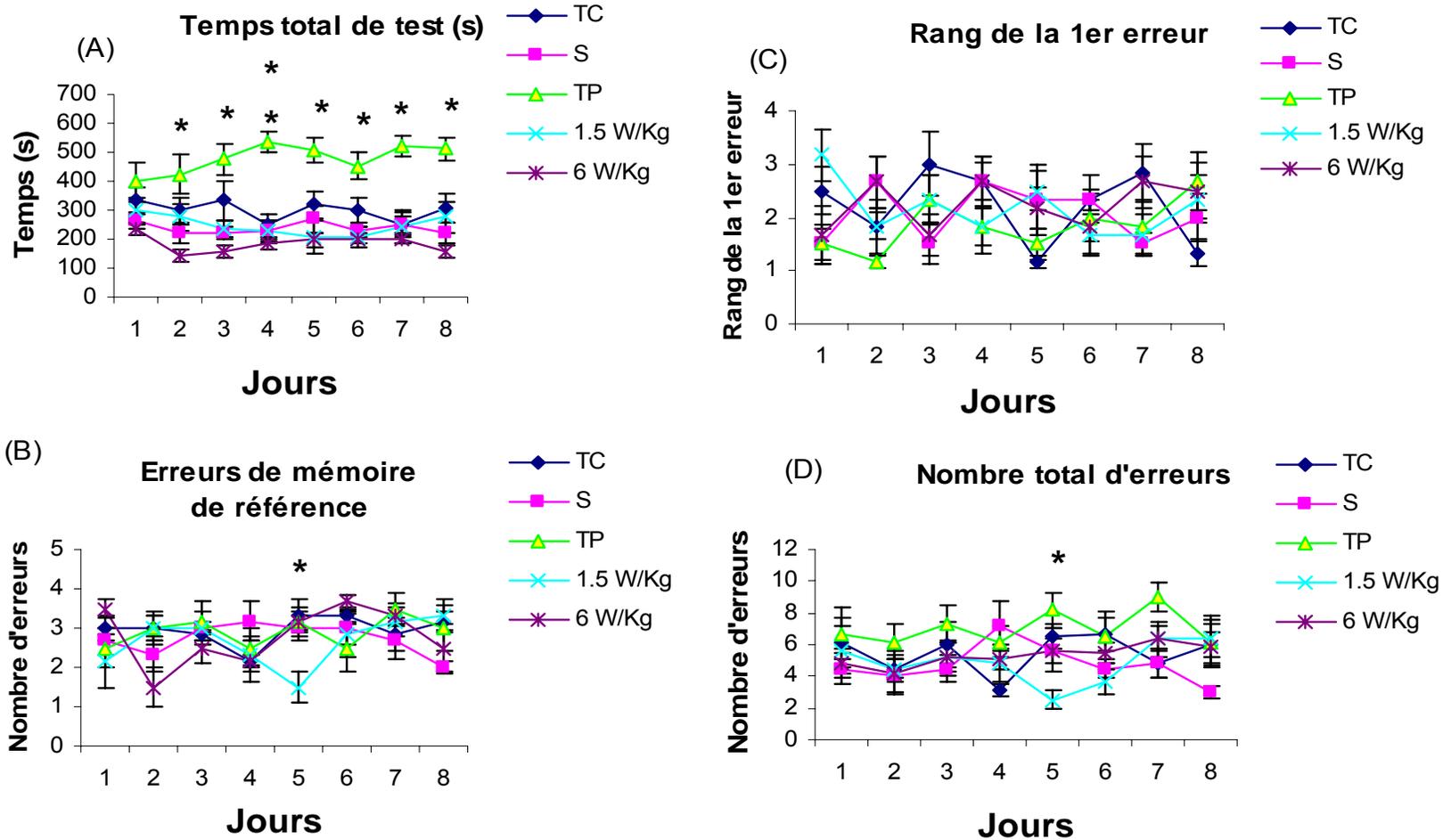
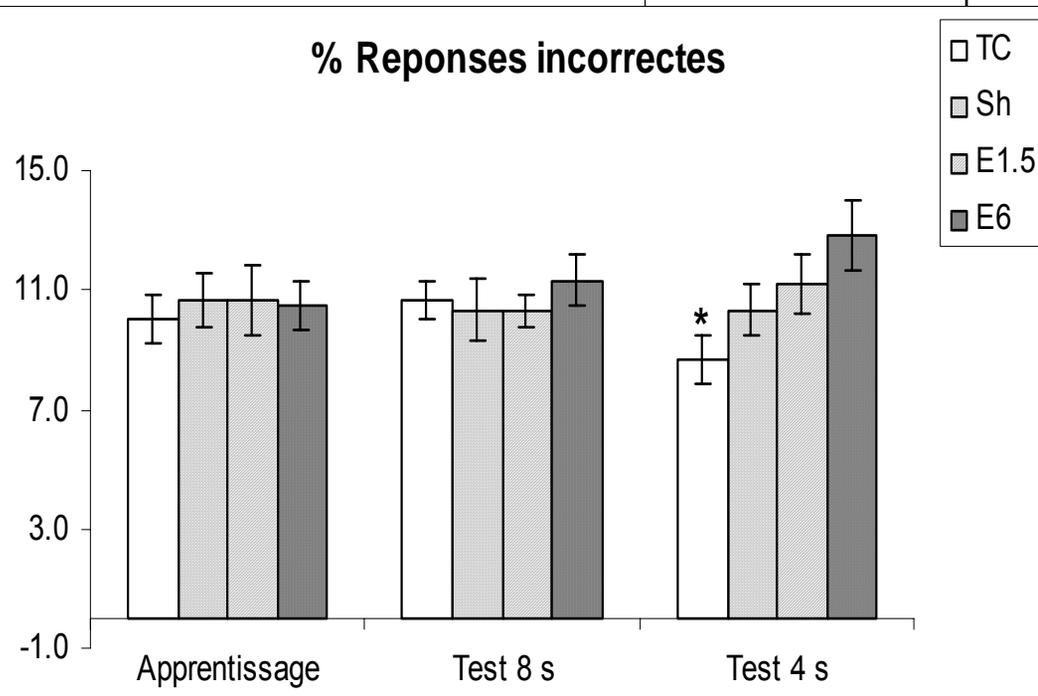
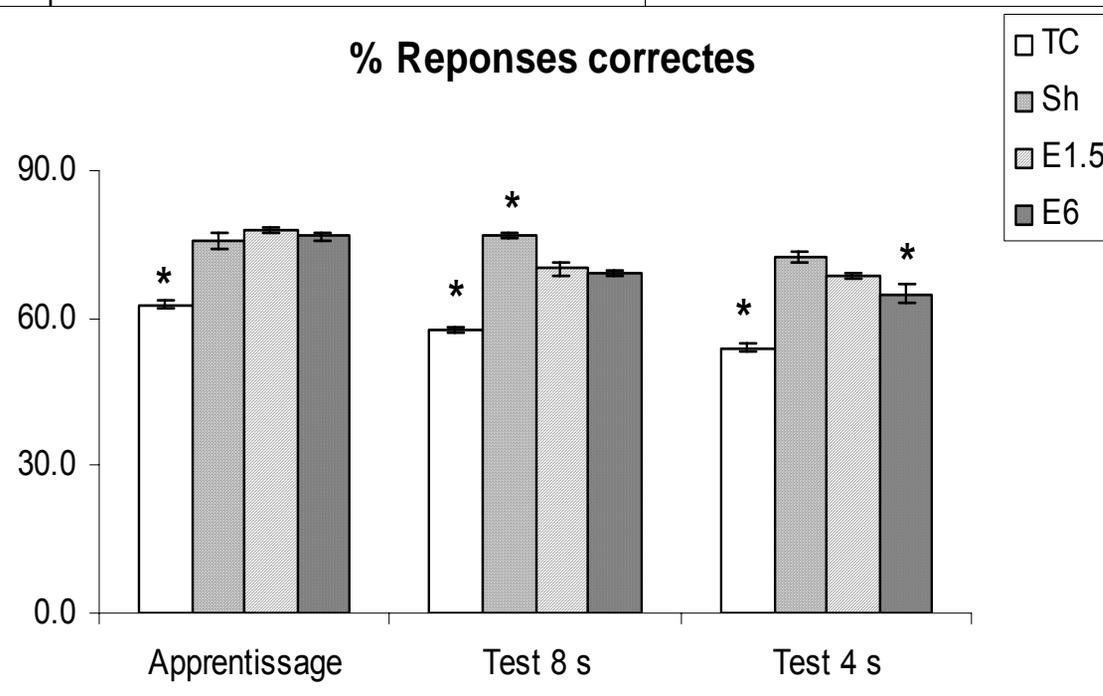
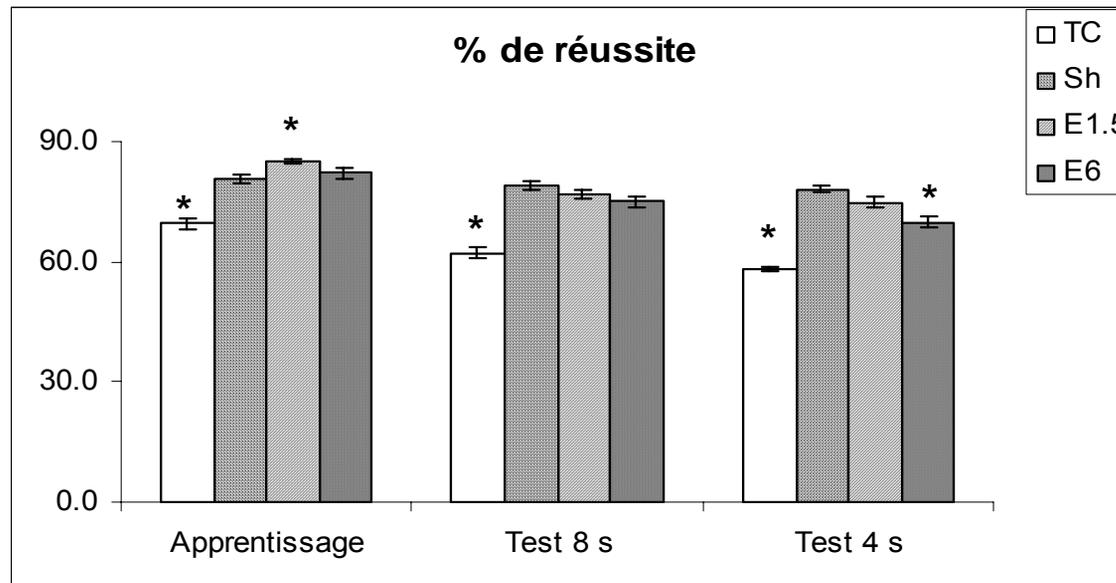


Figure 4 : Test durant 8 jours avec un délai de 45 min. (Moyenne \pm S.E.M, n = 6)
 TC : témoin cage. S : Sham. TP : témoin positif. 1,5 et 6 W/Kg : exposés
 * p < 0,05 pour le groupe témoin cage

Exposition chronique (6 mois) et attention



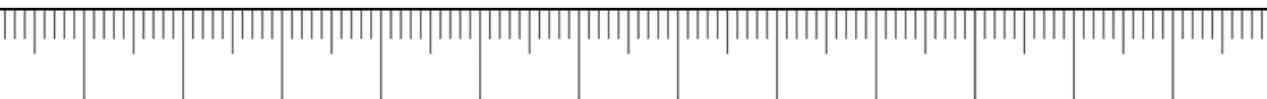


Conclusions

- 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 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 W/kg et Pp = 600 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



Conclusions

- 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).

sur le comportement d'attention en utilisant le **test de réaction à 5 choix**

- □ % réussites pendant l'apprentissage pour 1,5 W/kg
- diminution du % de réponses correctes avec le test de 8 s et à 6 W/kg avec le test de 4 s



Effets Biologiques des radiofréquences

Exposition GSM et protéine GFAP

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)

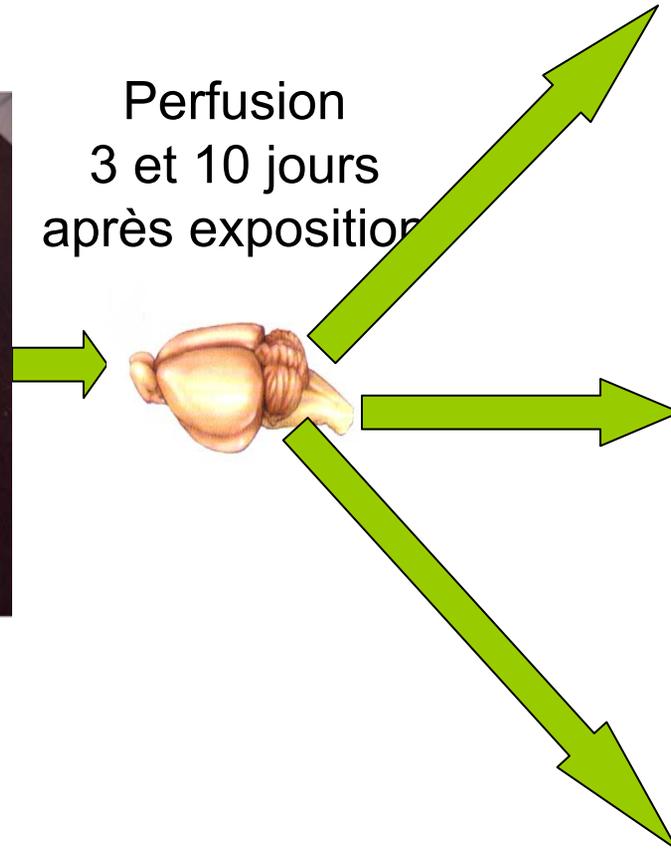


Exposition et protéine GFAP

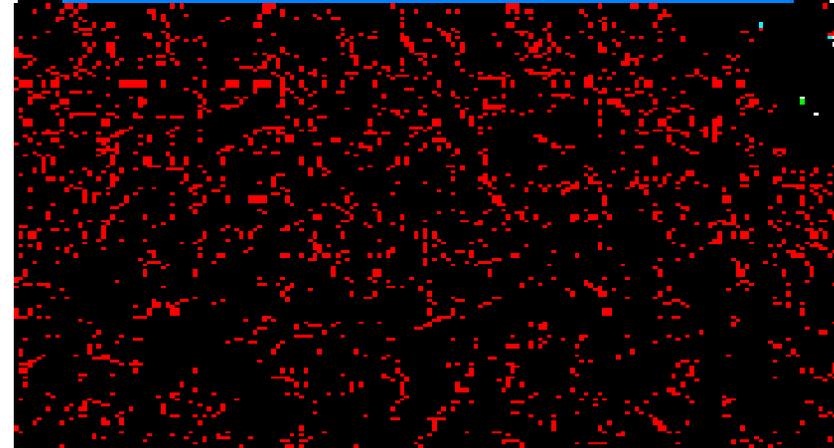
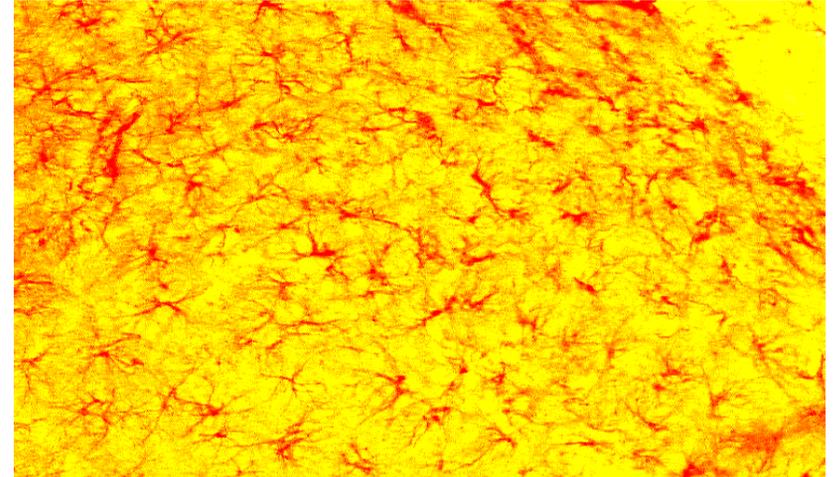
Exposition à un signal GSM 900MHz



Perfusion
3 et 10 jours
après exposition



Analyse d'image



Groupes : (n = 6)

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

Exposition subchronique (2 mois) et GFAP (+3 jours)

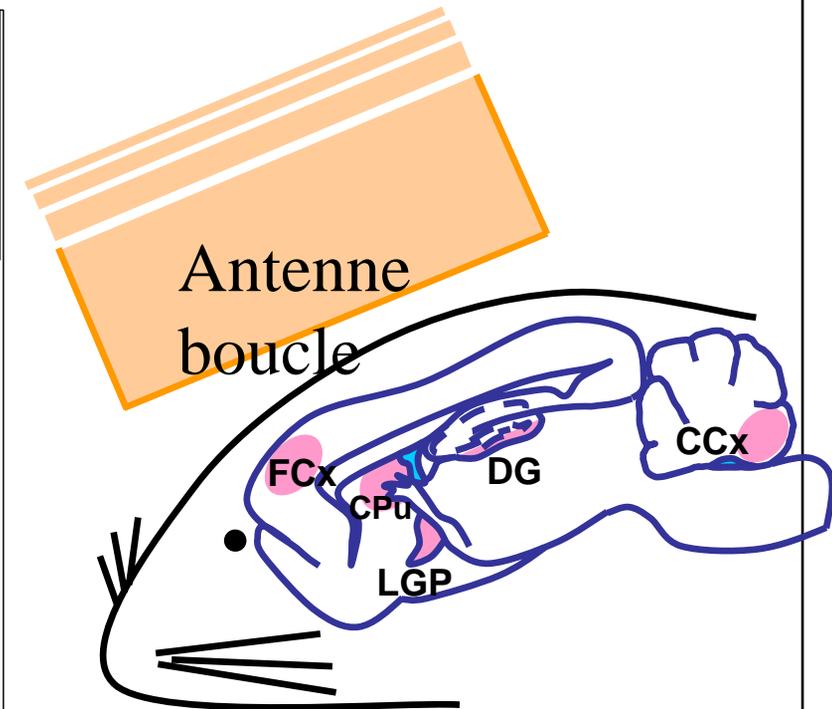
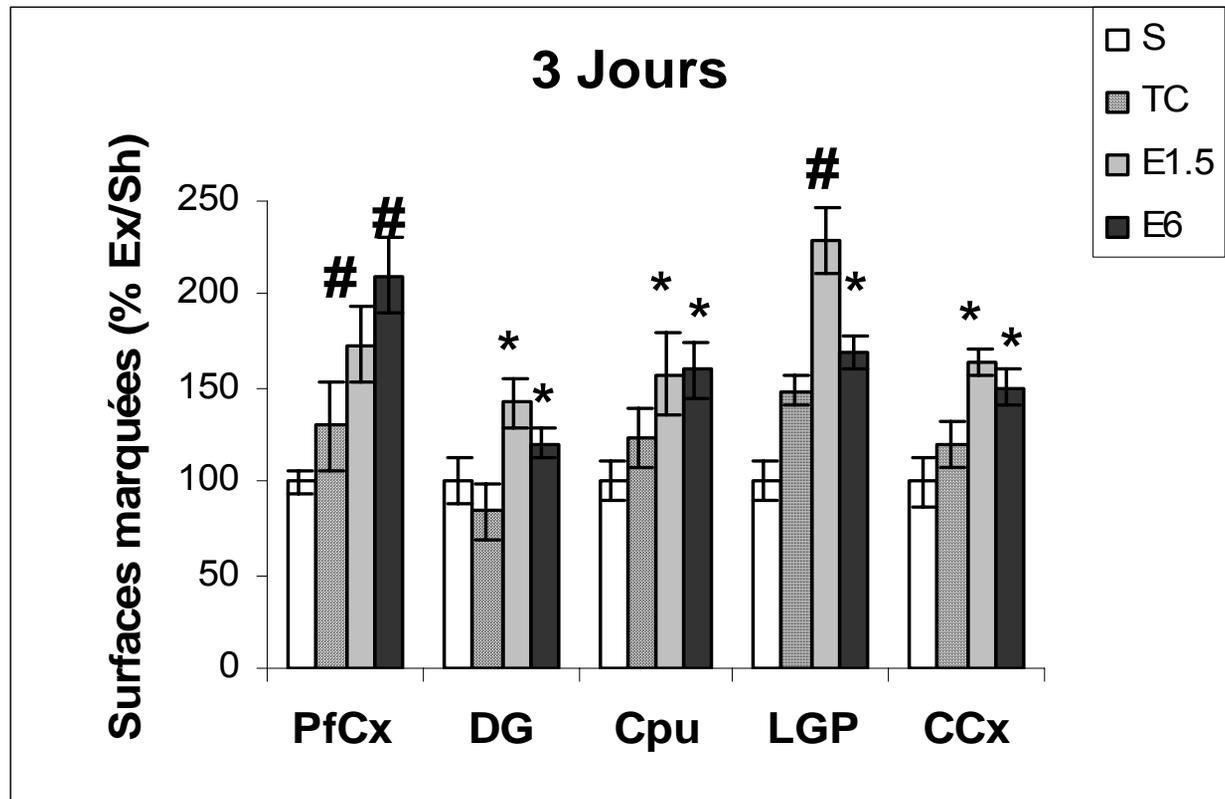


Figure 1: Histogramme représentant la moyenne (\pm SEM) par groupe du pourcentage de surface marquée pour la protéine GFAP dans chacune des zones étudiées par rapport aux témoins sham-exposés

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

PfCx = cortex frontal

CPu = caudé putamen du striatum

LGP = globus pallidus latéral

DG = gyrus denté de l'hippocampe

CCx = cortex du cervelet

Exposition subchronique (2 mois) et GFAP (+10 jours)

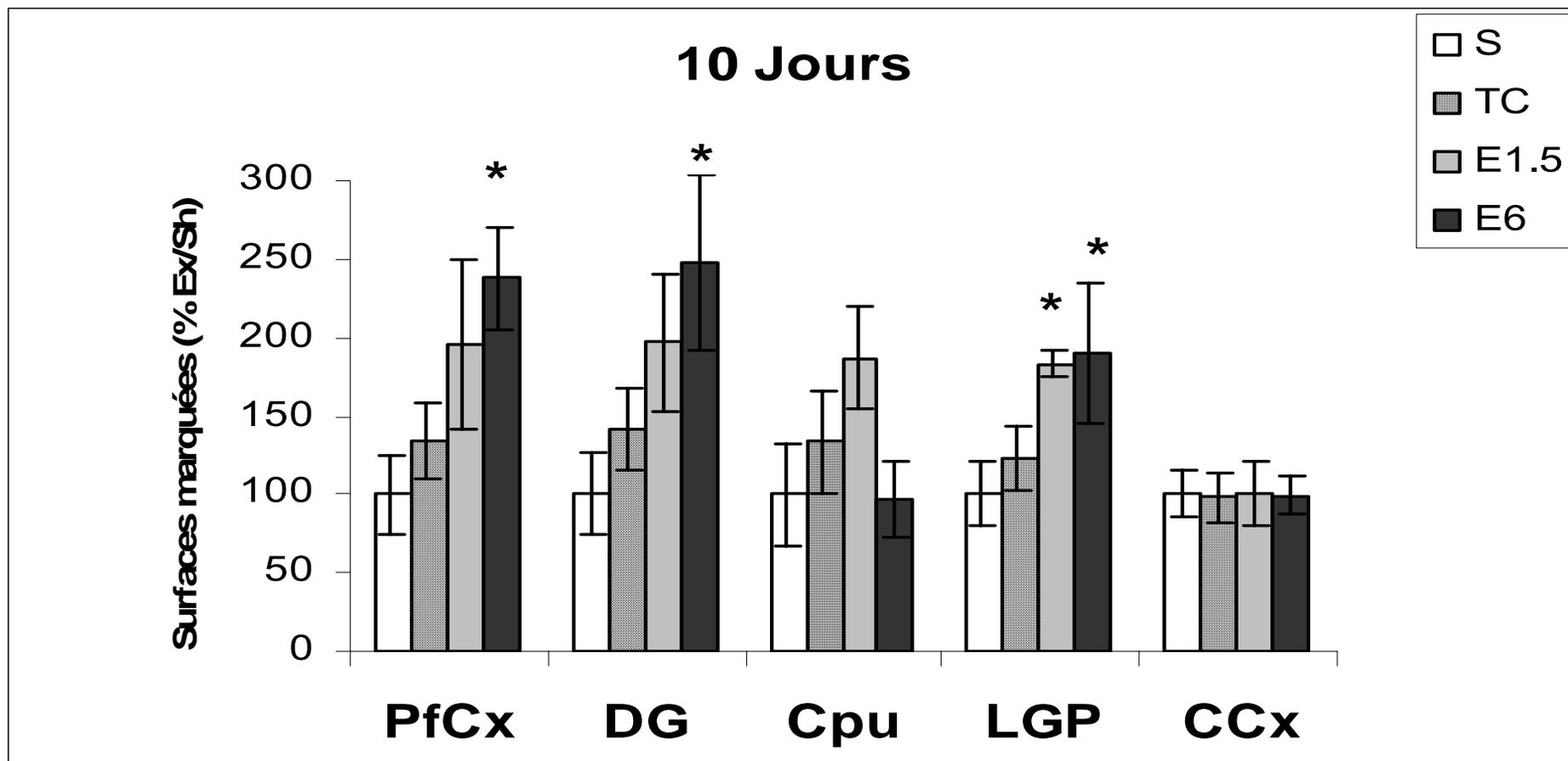


Figure 3: Histogramme représentant la moyenne (\pm SEM) par groupe du pourcentage de surface marquée pour la protéine GFAP dans chacune des zones étudiées par rapport aux témoins sham-exposés

* $p < 0,05$

Exposition chronique (6 mois) et GFAP (+10 jours)

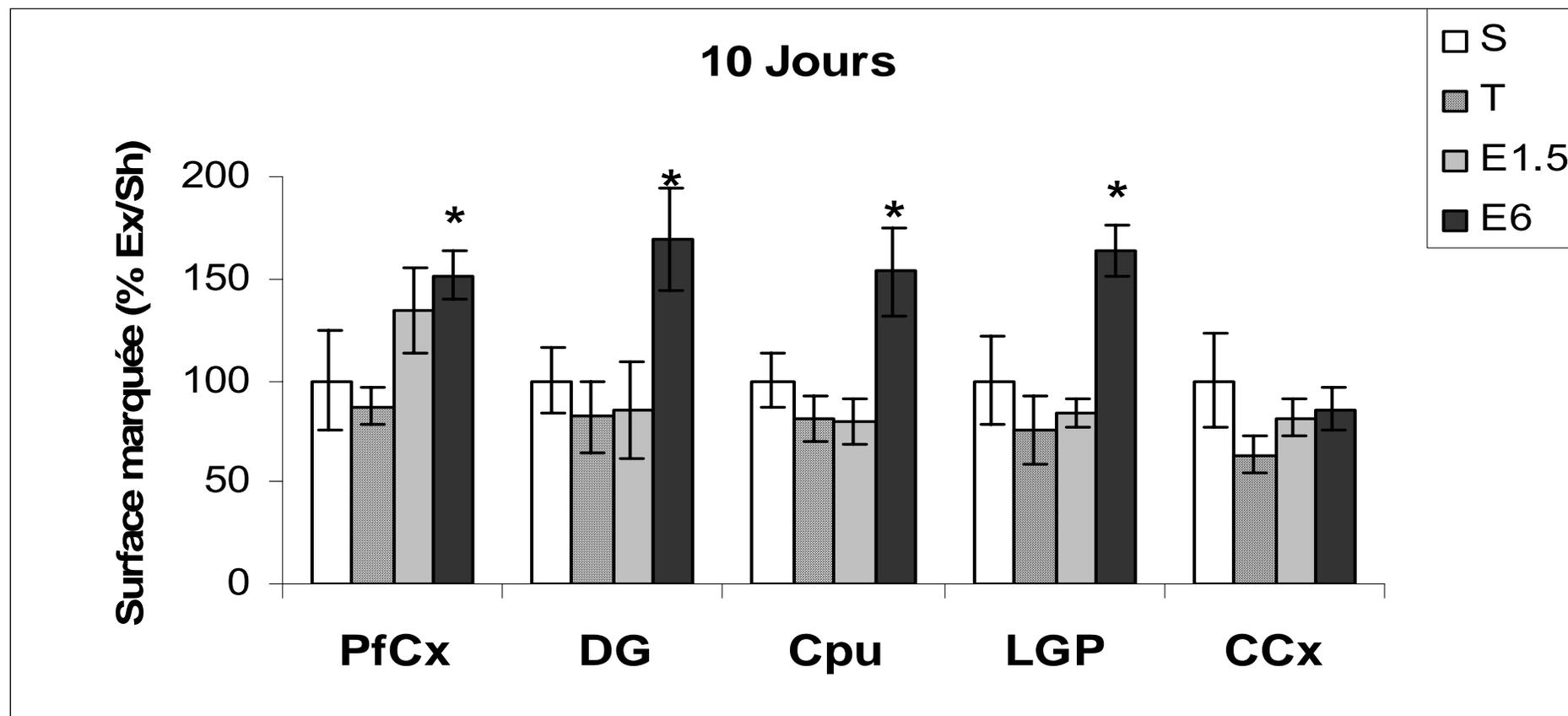
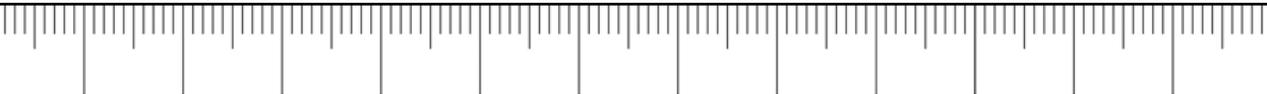


Figure 5 : Histogramme représentant la moyenne (\pm SEM) par groupe du pourcentage de surface marquée pour la protéine GFAP dans chacune des zones étudiées par rapport aux témoins sham-exposés

* $p < 0,05$



Conclusions

- 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**



Conclusions

L'activation des astrocytes peut aussi être le résultat d'une augmentation de sécrétion des 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

Effet des radiofréquences sur :

- les systèmes de neurotransmission :

* modification des propriétés des récepteurs GABA_A et NMDA et des transporteurs de la dopamine (Mausset-Bonnefont et al., 2004)

* modification du système cholinergique (Lai et al., 1994)



Perspectives

- Finalisation du projet : Analyses macroscopiques et fonctionnelles (immunohistochimie pour la protéine GFAP) : novembre – décembre 2009
- Etudes complémentaires sur le stress oxydant et le métabolisme oxydatif
- Etudes physiologiques sur le sommeil, la thermorégulation et le métabolisme alimentaire



Valorisation

Cette partie de projet a permis l'élaboration de :

présentation de 2 posters dans des congrès internationaux

- Congrès 30th Annual Meeting BioEM de la Bioelectromagnetics Society San Diego 2008
- Congrès 12th International Congress of IRPA (IRPA 12), Buenos-Aires, Argentine 2008

2 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.
Biomedecine & Phamacotherapy. (2008) vol 62/4, pp. 273-281
- 1 publication soumise sur les expositions sub-chroniques et GFAP
- Thèse de Mohamed Ammari soutenue le 25 novembre 2008 à Paris 7



MERCI DE VOTRE ATTENTION