

Dégâts aux cellules nerveuses de cerveaux de mammifères après exposition à des micro-ondes de téléphones mobiles GSM

Salford L. G., Brun A. E., Eberhardt J.L., Malmgren L., Persson B.R.

Références publication : *Environ Health Perspect.* 2003 Jun;111(7):881-3

Adresse de correspondance:

Leif G. Salford, Department of Neurosurgery - Lund University Hospital

S- 221 85 Lund, Suède - Tél : 46 46 171270 - Fax : 46 46 189287 - E-mail : leif.salford@neurokir.lu.se

Résumé

Les risques possibles pour le corps humain, des champs électromagnétiques de la plage des fréquences radio sont de plus en plus préoccupants pour la société. Nous avons montré antérieurement que les micro-ondes pulsées sont la cause d'une fuite significative d'albumine à travers la barrière sang-cerveau (barrière hémato-encéphalique). Nous avons maintenant investigué pour savoir si une fuite pathologique à travers la barrière sang-cerveau pouvait causer des dégâts aux cellules nerveuses. Trois groupes comprenant chacun 8 rats ont été exposés pendant 2 heures aux champs électromagnétiques d'un téléphone mobile GSM à différentes puissances. Nous avons trouvé et nous le présentons ici pour la première fois, des preuves hautement significatives ($p < 0,002$) de l'atteinte des cellules nerveuses du cerveau, à la fois du cortex, de l'hippocampe et des ganglions basaux chez les rats exposés.

Introduction

La plus vaste expérimentation biologique jamais réalisée. C'est ainsi, qu'a été évoquée l'exposition du cerveau aux micro-ondes des téléphones cellulaires par le quart de la population mondiale (Salford et al. 2001).

Dans un futur proche, les micro-ondes seront aussi émises par une foule d'appareils sans fils dans les bureaux et les habitations. Les risques possibles liés aux champs électromagnétiques des fréquences radio pour le corps humain constituent un sujet de plus en plus préoccupant pour la société. Une revue des publications a été réalisée par G. Hyland (Hyland, 2000). La plupart des chercheurs dans ce domaine, se sont attachés à la question de savoir si les fréquences radio sont susceptibles d'induire ou de promouvoir la croissance d'un cancer. Quelques uns parmi eux ont mentionné une augmentation des risques (Hardell et al., 2002; Repacholi et al., 1997), tandis que la plupart des études, la notre comprise n'ont montré aucun effet dans ce sens (Salford et al., 1997a) ou même un risque moindre (Adey et al., 1999).

Les risques possibles pour le corps humain, liés aux micro-ondes ont attiré l'attention depuis les années 60, c'est-à-dire avant l'apparition des téléphones mobiles, lorsque les radars et les fours à micro-ondes ont posé des problèmes possibles pour la santé. Oscar et Hawkins ont très tôt réalisé des études sur les effets des fréquences radio sur la barrière sang-cerveau (Oscar et Hawkins, 1977). Ils ont démontré qu'à de très faibles niveaux d'énergie ($< 10 \text{ W/m}^2$), les champs, dans une fenêtre restreinte d'exposition, provoquaient une fuite significative de mannitol, d'insuline et de dextrane marqués au ^{14}C (poids moléculaires du même ordre de grandeur que ceux de l'albumine) à partir des capillaires vers les tissus cérébraux environnants. Ces expériences n'ont cependant pas pu être reproduites dans une étude utilisant du sucrose marqué au ^{14}C (Gruenau, 1982). Dans une étude *in vitro* récente, on a montré que des champs électromagnétiques à 1,8 GHz augmentent la perméabilité de la barrière sang-cerveau au sucrose (Schirmacher et al., 2000). D'autres chercheurs (Shivers et al., 1987; Prato et al., 1990) ont examiné les effets de l'Imagerie à Résonance Magnétique (RMI) sur le cerveau du rat. Ils ont montré que l'exposition combinée aux fréquences

radio, aux champs magnétiques pulsés et statiques donne lieu à un passage d'albumine des capillaires vers le cerveau.

Inspirés par ce travail, notre groupe a, depuis 1988 étudié les effets de différentes intensités et modulations de fréquences radio à 915 MHz sur un modèle de rat, où l'exposition à lieu dans une cellule à ligne transverse de transmission électromagnétique (TEM-cell) pendant différentes périodes de temps. Grâce à une série de plus de 1600 animaux, nous avons prouvé que les énergies non thermiques à la fois de fréquences radio, modulées en impulsions et continues, y inclus celles de téléphones mobiles réels (GSM), ont le pouvoir d'ouvrir significativement la barrière sang-cerveau à la propre albumine des animaux (mais non au fibrinogène), pour la faire pénétrer dans le cerveau et permettre à celle-ci de s'accumuler dans les neurones et dans les cellules gliales entourant les capillaires (Malmgren, 1998; Persson et al., 1997, Persson and Salford, 1996; Salford et al., 1992, 1993, 1994, 1997b, 2001) (Fig. 1). Ces résultats ont été reproduits récemment dans un autre laboratoire (Töre et al. 2001). Des résultats semblables ont également été trouvés par d'autres (Fritze et al., 1997). Nous, ainsi que d'autres (Oscar et Hawkins, 1977, Persson et al., 1977) avons mis en évidence que lorsque des molécules d'une taille relativement semblable à celle de l'albumine franchissent la barrière sang-cerveau, d'autres molécules plus petites, y compris des molécules toxiques peuvent passer dans le cerveau suite à l'exposition aux fréquences radio. Nous n'avons jusqu'ici pas conclu que de telles fuites soient toxiques pour le cerveau. Il a cependant été démontré par Hassel que l'albumine originale de l'animal lui-même, injectée dans les tissus cérébraux du rat conduisent à des dégâts aux neurones dans le site d'injection, lorsque la concentration en albumine de la solution injectée est d'au moins 25 % de celle du sang (Hassel et al., 1994). Dans l'étude présente, nous avons examiné quant au fait que la fuite de la barrière sang-cerveau puisse causer des dégâts aux neurones.

Matériel et méthodes

Une cellule à ligne transverse de transmission électromagnétique (TEM-Cell) a été utilisée pour l'exposition des rats aux fréquences radio à micro-ondes. Celle-ci a été dessinée selon des échelles de dimensions de cellules construites antérieurement au Bureau National des Standards (Crawford 1974). Les TEM-Cells sont connues pour engendrer des champs électromagnétiques uniformes en vue de mesures standardisées. Un téléphone GSM d'origine avec une sortie à puissance programmable a été connecté par câble coaxial à la TEM-Cell; aucune modulation vocale n'a été appliquée.

La cellule est enfermée dans une boîte en bois (15 x 15 x 15 cm) qui comprend le conducteur extérieur et la plaque centrale. Le conducteur extérieur est fait d'un filet en laiton et est attaché aux parois internes de la boîte. La plaque centrale ou septum est construite en aluminium.

Les TEM-Cells sont placées dans une pièce à température contrôlée et la température dans les TEM-Cells est maintenue constante en faisant circuler l'air de la pièce à travers les trous de la boîte en bois.

La distribution du taux d'absorption spécifique (SAR ou TAS) a été simulée par la méthode FDTD (Martens et al., 1993) et fluctuait de moins de < 6 dB dans le cerveau des rats. Les rats sont placés dans des corbeilles en plastique (12 x 12 x 7 cm) afin d'éviter le contact avec la plaque centrale et le conducteur extérieur. Le fond de la corbeille est couverte de papier absorbant pour collecter l'urine et les matières fécales.

Trente deux rats mâles et femelles Fischer 344 âgés de 12 à 26 semaines et pesant $282 \text{ g} \pm 91 \text{ g}$ sont répartis en 4 groupes de 8 rats chacun. La puissance de sortie en pic du téléphone mobile irradiait simultanément deux TEM-Cells respectivement à 10 mW, 100 mW et 1000 mW par cellule pendant 2 heures. Ceci exposait les rats à des densités de puissance en pics respectivement de $0,24 \text{ W/m}^2$, $2,4 \text{ W/m}^2$ et 24 W/m^2 . Cette exposition revient respectivement à des taux d'absorption spécifique (SAR) moyens pour tout le corps à 2 mW/kg , 20 mW/kg et 200 mW/kg . Pour d'autres détails concernant les conditions d'exposition et les calculs de taux d'absorption spécifique (SAR), consulter (Martens et al. 1993, Malmgren, 1998). Le quatrième groupe de rats a été maintenu simultanément pendant 2 heures dans des TEM-cells non activées (groupe témoin). Les animaux étaient à l'état d'éveil pendant l'exposition et pouvaient se mouvoir et se retourner dans la chambre d'exposition.

Pour chaque groupe exposé, on a permis aux animaux de survivre environ 50 jours après l'exposition. Au cours de cette période, ils étaient soigneusement observés pendant la journée, quant à des anomalies neurologiques ou comportementales. Après cette période d'observation ils ont été anesthésiés et sacrifiés par perfusion fixation au formaldéhyde à 4 %.

Les cerveaux ont été prélevés de la boîte crânienne par une technique non traumatique (résection des structures osseuses à la base du crâne, suivie d'une incision médiane du foramen magnum au nez), après un temps de fixation étendu à 30 minutes post mortem in situ. Chaque cerveau a subi des coupes coronales en tranches de 1-2 mm d'épaisseur, lesquelles ont été incluses dans de la paraffine et coupées à 5 micromètres, puis colorées avec du violet de crésyle pour l'ADN/ARN afin de mettre en évidence les neurones foncés. En appliquant des anticorps de l'albumine (Dakopatts), l'albumine se révèle par des taches brunâtres ou par des décolorations plus diffuses (Salford et al. 1994).

L'apparition de "neurones foncés" a été évaluée semi-quantitativement par le neuropathologiste: 0 (pas de neurones foncés ou occasionnellement), 1 (apparition modérée de neurones foncés), 2 (apparition abondante).

L'analyse microscopique a été réalisée en aveugle par rapport aux tests. L'analyse à une voie Kruskal-Wallis de la variance par rangs a été utilisée pour un test statistique simultané du résultat des distributions pour les 4 conditions d'exposition. Lorsque l'hypothèse nulle pouvait être rejetée, les comparaisons entre témoins et chacune des conditions d'exposition ont été faites au moyen du test non paramétrique Mann-Whitney pour des échantillons indépendants.

Résultats et discussion

Les rats témoins et les animaux soumis aux tests ont montré pareillement par immuno-coloration une diffusion positive de l'albumine dans l'hypothalamus. Il s'agit là d'une sorte de contrôle de la méthode créée par les circonstances.

Les animaux témoins ont montré soit aucune, soit une certaine positivité donnant souvent lieu à des interrogations, quant à l'albumine en dehors de l'hypothalamus (Figure 1 a). Chez un animal, un nombre modéré de neurones sombres ont été observés alors que chez tous les autres animaux, de telles modifications n'étaient pas présentes. Les animaux exposés ont habituellement montré beaucoup

de foyers positifs à l'albumine dans les substances blanche et grise autour des vaisseaux sanguins les plus ténus (Figure 1 b).

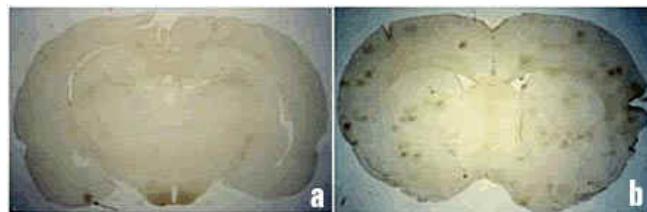


Fig. 1

a) Coupe agrandie des parties centrales du cerveau d'un rat non exposé (témoin), colorée pour l'albumine qui apparaît en brunâtre dans les parties centrales inférieures du cerveau, l'hypothalamus : ceci est normal. Dans le coin inférieur gauche (flèche) une tache brune représente une fuite occasionnelle.

b) Parties centrales du cerveau d'un rat exposé aux fréquences radio, coloré pour l'albumine. Les multiples foyers brunâtres représentent les fuites de plusieurs vaisseaux sanguins.

Ici, l'albumine s'est répandue dans les tissus, entre les corps cellulaires et les neurones environnants qui eux, étaient libres d'albumine ou dans quelques foyers contenant de l'albumine. Des neurones disséminés non associés avec les fuites d'albumine entre les neurones étaient également positifs.

Les neurones sombres dispersés et groupés révélés par la coloration du violet de crésyle, qui étaient souvent rétrécis et colorés en foncé, se fondaient dans un aspect homogène avec perte des structures internes des cellules. Quelques uns de ces neurones sombres étaient aussi positifs à l'albumine ou montraient des microvacuoles indiquant un processus pathologique actif. Il n'y avait pas d'hémorragies, ni de réactions gliales, astrocytiques ou microgliales discernables, adjacentes aux neurones modifiés. Des neurones modifiés ont été observés à tous les endroits, mais spécialement dans le cortex, dans l'hippocampe et dans les ganglions basaux. Ils sont mélangés parmi des neurones normaux (fig. 2). Le pourcentage de neurones anormaux a été grossièrement évalué au taux d'environ 2 %, mais il est plus apparent dans quelques zones restreintes de la figure.

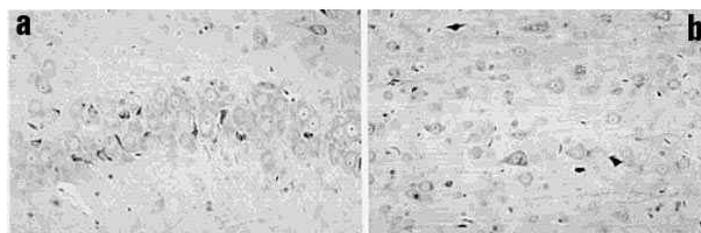


Fig.2 a : Rangée de cellules nerveuses dans une coupe de la bande des cellules pyramidales de l'hippocampe dans le cerveau d'un rat exposé aux micro-ondes de téléphonie mobile. Parmi les cellules nerveuses grandes et bleu-pâle, il y a des cellules nerveuses noires et contractées intercalées, appelées "neurones sombres". La photo prise au microscope résulte d'une coloration de la coupe au violet de crésyle et est à fort grossissement.

Fig.2 a : Le cortex d'un cerveau de rat exposé aux micro-ondes d'un téléphone mobile montre les cellules nerveuses normales bleu-pâle, mélangées à des "neurones sombres", anormaux, noirs et contractés, à toutes les profondeurs dans le cortex, mais moins nombreux dans les couches supérieures (en superficie). La photo prise au microscope résulte d'une coloration au violet de crésyle et est à fort grossissement.

L'apparition de neurones sombres sous différentes intensités d'exposition est présentée sur la figure 3. Celle-ci montre

une relation positive significative entre l'intensité des champs électromagnétiques (SAR = Taux d'absorption spécifique) et le nombre de neurones sombres.

Un test non paramétrique combiné pour les quatre niveaux d'exposition a révélé simultanément que la distribution des résultats différait significativement entre les groupes ($p < 0,002$).

Nous présentons ici pour la première fois la preuve de l'apparition de dégâts aux cellules nerveuses causés par l'exposition à des micro-ondes, à des intensités non thermiques. Le cortex du cerveau, tout comme l'hippocampe et les ganglions basaux des rats exposés présentent des neurones endommagés. Nous admettons que notre étude se limite à un petit nombre d'animaux, mais les résultats combinés sont hautement significatifs et montrent une relation nette dose-réponse.

Les neurones sombres observés ne peuvent être des artefacts pour les raisons suivantes: les cerveaux ont été fixés par perfusion in situ et retirés sans traumatisme, les neurones sombres étaient entremêlés avec des neurones apparemment normaux (fig. 2a, 2b),

la présence de vacuoles dans plusieurs neurones sombres est le signe net que des dégâts sont apparus dans le cerveau des animaux vivants.

Nous ne pouvons pas exclure que la modification décrite des neurones puisse être la manifestation de la mort des cellules (apoptose).

peut déclencher une ouverture secondaire de la barrière sang-cerveau, mettant ainsi en route un cercle infernal, parce que nous avons démontré l'existence de fuites d'albumine même 8 semaines après l'exposition.

La raison de notre choix de l'âge des rats compris entre 12 et 26 semaines est que cet âge est comparable à celui des adolescents accros du téléphone mobile.

Le cerveau en développement peut amener certaines questions particulières au sein de la société, étant donné que les processus de développement biologique et de maturation sont particulièrement vulnérables pendant la croissance. L'utilisation intensive de téléphones mobiles par les jeunes est un sérieux problème. Des dégâts aux neurones chez les enfants, tels ceux décrits ici, peuvent ne pas avoir de conséquences immédiatement démontrables, même s'ils se répètent. Il se peut cependant, que sur un long cours, des réserves réduites de capacités du cerveau pourraient être révélées par d'autres maladies cérébrales ultérieures ou même grever le coût des soins lors de l'avancée en âge.

Nous ne pouvons exclure qu'après quelques dizaines d'années d'usage journalier (fréquent), toute une génération d'utilisateurs de téléphones mobiles puisse souffrir des effets négatifs et ce peut-être dès un âge moyen.

Remerciements

Nous remercions Suzanne Strömblad et Catarina Blennow du Laboratoire Rausing pour l'excellente assistance technique. Le travail a été encouragé par un financement du Conseil Suédois de la Recherche concernant la Vie au Travail.

Références bibliographiques

Adey W., Byus C., Cain C., Higgins R., Jones R. Kean C. et al.: "Spontaneous and Nitroso-urea induced primary tumors of the central nervous system in Fisher 344 rats exposed to 836 MHz modulated microwaves", *Radiat. res.* 152, pp.293-302, (1999).

Crawford M.: "Generation of standard EM field using TEM transmission cells" ; *IEEE Trans Electromagn. Compat. EMC-16*, pp. 189-195 (1974).

Fritze K., Sommer C., Schmitz B., Mies G. Hossman K., Kiessling M et al.: "Effect of global system for mobile communication (GSM) microwave exposure on blood-brain barrier permeability in rats" ; *Acta Neuropathol. (Berlin)* 94; pp. 465-470, (1997).

Gruenau S.P., Oscar K.J., Folker M.T., Rapoport S.I., "Absence of microwave effects on blood-brain barrier permeability to ¹⁴C-labeled sucrose in the conscious rat" ; *Experimental Neurology*, 75, pp. 299-307 (1982).

Hardell L., Hallquist A., Hansson Mild K., Carlberg M, Pahlson A., Lilja A.: "Cellular and cordless telephones and the risk for brain tumors" *European Journal of Cancer Prevention* : 11, pp. 377-386, (2002).

Hassel B., Iversen E., Fonnum F.: "Neurotoxicity of albumin in vivo" *Neuroscience Letters*, 167, pp. 29-32, (1994).- Hyland G. "Physics and Biology of Mobile Telephony", *The Lancet*, 356, pp. 1833-1836, (2001).

Malmgren L.: "Radiofrequency systems for NMR-imaging-Coil development and studies of non-thermal biological effects" ; *Series of Licentiate and Doctoral Theses*, n°6, Department of Applied Electronics, Lund University, Lund, Sweden, (1998).

Martens L., Van Hese J., De Sutter D., De Wagter C., Malmgren L., Persson B.R.R., Salford L.G. : "Electromagnetic field calculations used for exposure experiments on small

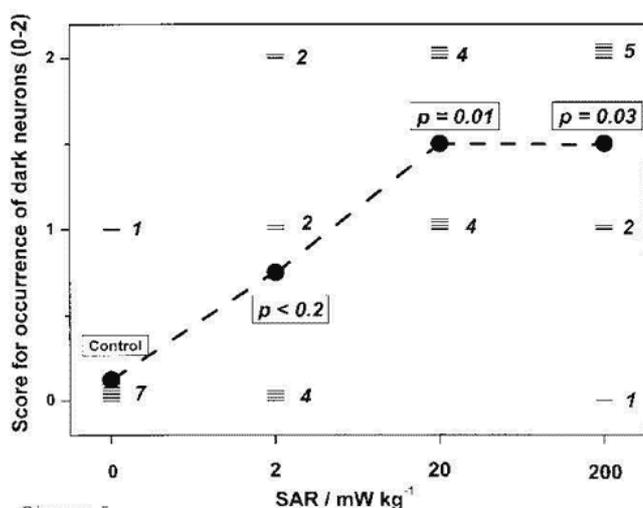


Figure 3

Fig.3:

Distribution des évaluations des "neurones sombres" apparus, en fonction des intensités d'exposition. Les lignes en pointillés relient les valeurs moyennes pour chaque intensité. Une comparaison simultanée non paramétrique des 4 intensités a révélé des différences significatives ($p < 0,002$). Les valeurs p sur la figure décrivent les comparaisons entre chaque intensité d'exposition et les témoins non exposés.

La pénétration de l'albumine dans les neurones et les autres modifications décrites sembleraient indiquer des dégâts sérieux aux neurones. Des lésions aux organelles avec libération non seulement d'enzymes lysosomiques hydrolytiques, mais aussi par exemple de matériaux séquestrés comme des métaux lourds stockés dans les organelles cytoplasmiques, peuvent jouer un rôle médiateur.

La période écoulée entre la dernière exposition et le sacrifice est d'une grande importance pour la détection des foyers de fuites étant donné que l'albumine échappée des vaisseaux diffuse rapidement en profondeur et au delà des concentrations qu'il est possible de démontrer par immunohistologie. Cependant, la fuite initiale d'albumine dans les tissus intérieurs du cerveau (endéans quelques heures pour 40 % des animaux exposés dans nos études précédentes)

- animals in TEM-Cells"; Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 30, pp. 73-81, (1993).
- Oscar K., Hawkins T.: "Microwave alteration of the blood-brain barrier system of rats"; Brain Res. 126, pp.281-293, (1977).
- Persson B., Salford L.: "Permeability of the blood-brain barrier in rats induced by continuous wave and pulse-modulated 915 MHz electromagnetic radiation exposure in TEM-Cells"; (Chiabrera A., Juutilainen J. eds), Brussel: EU DG XIII, pp. 66-72, (1996).
- Persson B., Salford L., Brun A.: "Blood-brain barrier permeability in rats exposed to electromagnetic fields used in wireless communication"; Wireless Networks 3, pp. 455-461 (1997).
- Prato F., Frappier J. Shivers R., Kavaliers M., Zabel P., Drost D. et al.: "Magnetic resonance imaging increases the blood-brain barrier permeability to 153-Gadolinium-diethylene-triamine-pantacetuc acid in rats"; Brain Res. 523, pp. 301-304, (1990).
- Repacholi M., Basten A., Gebski V., Noonan D., Finnie J., Harris A.: "Lymphomas in E μ -Pim1 Transgenic mice exposed to pulsed 900 MHz Electromagnetic fields"; Radiat. Res., 147, pp. 631-640, (1997).
- Salford L.G., Brun A., Eberhardt J., Malmgren L., Persson B.: "Electromagnetic field-induced permeability of the blood-brain barrier shown by immunohistochemical methods" In: Interaction Mechanisms of Low-level electromagnetic fields in Living Systems (Nordén B., Ramel C. eds) Oxford; Oxford University Press, pp. 251-258 (1992).
- Salford L.G., Brun A., Eberhardt J., Persson B.: "Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz electromagnetic radiation, continuous wave and modulated at 8, 16, 50, 200 Hz" ; Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 30, pp. 293-301, (1993)
- Salford L.G., Brun A., Stuesson K, Eberhardt J., Persson B.: "Permeability of the blood-brain barrier induced by 915 MHz Electromagnetic radiation, continuous wave and modulated at 8, 16, 50, and 200 Hz"; Microscopy Research and Technique, 27, pp. 535-542, (1994).
- Salford L.G., Brun A., Persson B.: "Brain tumour development in rats exposed to electromagnetic fields used in wireless communication"; Wireless Networks, 3, pp. 463-469, (1997a).
- Salford L.G., Persson B., Brun A.; "Neurological aspects on wireless communication" in: Non-Thermal effects of RF electromagnetic fields (Bernhardt J.H., Matthes R., Repacholi M.H. eds), Munich, German International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection, pp. 131-143, (1977b).
- Salford L.G., Persson B., Malmgren L., Brun A.: "Téléphonie mobile et barrière sang-cerveau"; In: Téléphonie mobile, effets potentiels sur la santé des ondes électromagnétiques de haute fréquence, Ed. Pietteur Liège (Belgium), pp. 141-152, (2001).
- Schirmacher A., Winters S., Fischer S., Goeke J., Galla H.J., Hullnick U. et al.; "Electromagnetic fields (1,8 GHz) increase the permeability to sucrose of the blood-brain barrier in vitro" ; Bioelectromagnetics, 21, pp. 338-345, (2000).
- Shivers R., Kavaliers M., Teskey G., Prato F., Pelletier R.; "Magnetic resonance imaging temporarily alters blood-brain barrier in the rat"; Neuroscience Letters, 76, pp. 25-31, (1987).
- Töre F., Dulou P.E., Haro E., Veyret B., Aubineau P.: "Two hours exposure to 2W/kg, 900 MHz GSM microwaves induces plasma protein extravasation in rat brain"; In: Proceedings from the 5th. International Congress of the European Bioelectromagnetics Association, 6 sept. 2001 (Hietanen M. Jokela K., Juutilainen J. eds), Finnish Institute of Occupational Health, Helsinki, pp.43-45, (2001).