

# Effets du GSM 1800MHz sur le Système Nerveux Central de Rats immatures

## Objectifs

Le but de ce projet est d'analyser les conséquences d'expositions à des signaux GSM (1800 MHz) au cours de la maturation du cerveau chez le raton : cinq jours (P5) quinze jours (P15) et trente cinq jours (P35) postnatal.

Les marqueurs que nous avons choisi d'étudier sont (1) l'expression des protéines de choc thermique (heat shock proteins ou HSP) produites physiologiquement (**Hsc70** et **Hsp60**, **Hsp90**) ou **inductibles (Hsp70)**. Ces protéines exercent un rôle de chaperon moléculaire et leur expression peut être fortement augmentée ou induite lors de situations qui peuvent compromettre la survie cellulaire (hyperthermie, processus inflammatoires). (2) les modifications des **astrocytes** ou de la **microglie** qui compte tenu de l'importance de l'expansion de la glie au cours des phases tardives du développement cérébral vont pouvoir influencer sur l'activité, les adaptations fonctionnelles ou l'intégrité des réseaux neuronaux. Outre des marqueurs structuraux d'activation astrocytaire ou microgliale, nous étudions aussi l'expression de **transporteurs du glutamate (GLAST, GLT1)** et de la **serine racémase**, enzyme assurant la biosynthèse gliale de la D-serine. (3) des marqueurs fonctionnels du métabolisme oxydatif: la **cytochrome oxydase (Cyt Ox)** et la **phosphatase alcaline (PA)** dont la distribution régionale et laminaire reflète la maturation corticale. De plus la présence de la phosphatase alcaline dans les cellules endothéliales reflète l'angiogenèse qui est déterminante dans les relations neurone-glie-vaisseaux et la synaptogenèse.

## Matériel et Méthodes

**Exposition:** Le système calibré et modélisé par P. Lévêque (XLIM) permet d'exposer uniquement la tête des animaux au stade P15 et P35; la tête et une partie du corps sont exposés à P5. Exposition GSM 1800MHz, 2h, BASAR de 1.5W/kg.

**Dissection et extraction des protéines:**

24h post-exposition. Les cortex frontaux, pariétaux, occipitaux et temporaux sont isolés par la technique des punches sur coupes (250µm) à P35. A P5 et P15, les cortex sont disséqués en 8 zones selon les axes antéro-postérieur et median latéral (schéma).

Les protéines cytosoliques sont récupérées dans le surnageant de tissu homogénéisé avec un potter puis centrifugé (14000g, 5min). Les protéines totales sont obtenues par sonication. Les extraits sont ensuite dilués avec du tampon Laemlli.

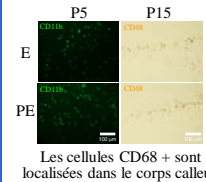
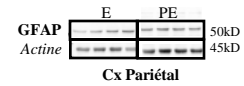
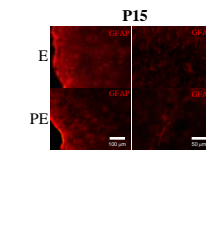
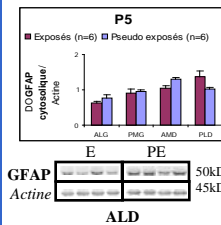
**Western blot :** 25µg de protéines séparés par SDS-PAGE puis transférés sur une membrane de nitrocellulose. Les anticorps secondaires sont couplés à la HRP et révélés par un substrat ECL.

**Immunohistochimie :** L'immunohistochimie est réalisée sur des coupes sagittales flottantes (30µm). Anticorps primaires anti GFAP, anti CD11B ou antiCD68 révélés avec des anticorps secondaires couplés à un fluorochrome ou à la HRP.

**Histochimie :** Les coupes de 30µm sont incubées: 10 min avec une solution de NBT/BCIP (révélation PA), ou 5h à 37°C avec une solution contenant du cytochrome c (révélation Cyt Ox).

## Pas de variation d'expression de la GFAP à P5, P15 et P35

L'expression de la GFAP (Glial Fibrillary Acid Protein) mesurée par WB ne diffère pas significativement entre animaux exposés (E) et pseudo-exposés (PE) aux stades P5, P15 et P35. Immunohistochimie (anti-GFAP): pas de gliose astrocytaire chez les animaux exposés.

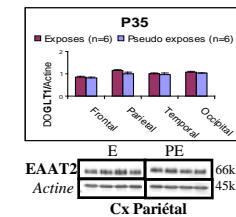
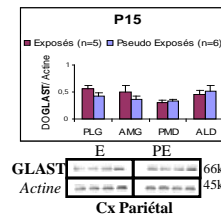
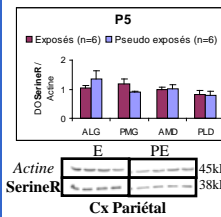


## Pas d'activation microgliale à P5, P15 et P35

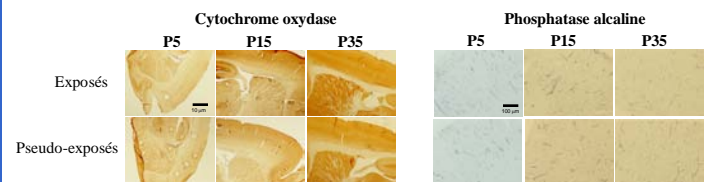
Les études immunohistochimiques des marqueurs de macrophages CD11b et CD68 dans le cortex cérébral, ne révèlent pas d'activation de la microglie induite par l'exposition GSM 1800 à P5, P15 ou P35.

## Pas d'effets sur des modulateurs de la neurotransmission

Analyse de protéines impliquées dans la transmission glutamatergique :  
- Pas de variation d'expression de la serine racémase, enzyme assurant la biosynthèse de la D-serine, co-agoniste des récepteurs du glutamate.  
- Pas de différence significative dans l'expression de deux transporteurs du glutamate: GLT-1 et GLAST.



## Pas de modification apparente des activités Cytochrome Oxydase et Phosphatase Alcaline

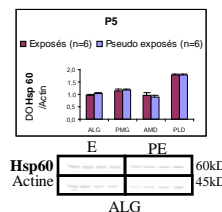


## Résultats

### Pas d'effets des ondes RF sur les HSP

Aucune différence significative n'est observée dans l'expression de Hsp60 (exemple ci-contre), Hsp90, Hsc70 entre rats pseudo-exposés et exposés aux trois stades testés (P5, P15, P35).

De plus, aucune expression de la protéine de choc thermique inductible Hsp70 n'est détectée dans nos conditions expérimentales.



## Conclusions

L'analyse de cerveaux de jeunes rats exposés 2h au GSM 1800MHz (BASAR de 1.5W/kg) ne montre pas de modifications précoces (24h après exposition) de l'expression des HSPs, ou d'effecteurs impliqués dans la transmission glutamatergique et ne révèle pas d'activation de la microglie ou de l'astroglie. Deux marqueurs du métabolisme oxydatif et de l'angiogenèse restent inchangés. Une étude d'effets à plus long terme (3 et 10 jours après exposition) est en cours.

Contact du projet : Thérèse M. Jay. Poster présenté par Aurélie Watilliaux le 20 et 21 octobre

Coordonnées complètes du contact : CPN, INSERM U894/Univ. Paris Descartes, 2 ter rue d'Alésia, 75014 Paris

Tel: 0140788631 – Fax: 0145807293 – Email: therese.jay@inserm.fr

Partenaires du projet : Michel Mallat, CRICM, INSERM U975/UPMC, Paris

Partenaires du projet : Jean-Marc Edeline, UMR CNRS 8620/P11, Orsay